

UTVRĐIVANJE GRAVIDNOSTI U OVACA**Vesna Pavić, I. Vnučec, B. Mioč****Sažetak**

Maksimalno iskorištanje reproduktivnog potencijala i intenziviranje ovčarske proizvodnje nije moguće bez primjene metoda za utvrđivanje gravidnosti ovaca. U ovom radu opisano ih je nekoliko koje su provjerene u praksi, ali se na terenu koriste samo neke od njih. Najjednostavnija i najjeftinija metoda je korištenje ovna probača s markerom na prsima. Međutim, ovaj način otkrivanja gravidnih ovaca ima dosta nedostataka pa nije dovoljno pouzdan. U praksi je najraširenija metoda ranog utvrđivanja gravidnosti pomoću ultrazvuka čiji je jedini nedostatak visoka cijena opreme. Međutim, prednosti ove metode: jednostavna uporaba, visok postotak točnih dijagnoza (85% između 32. i 34. dana nakon pripusta) i neškodljivost po zdravlje životinja, osiguravaju joj čelnu poziciju u praktičnoj uporabi. Za rano utvrđivanje negravidnih ovaca podjednako su pouzdane metode određivanja koncentracije progesterona u krvi i u mlijeku (gotovo 100% točne). Od ostalih metoda, koje su u praksi manje zastupljene, koriste se radiografija, estrogenski testovi, detekcija ovčjeg placentalnog laktogena, ručne pretrage, vaginalna biopsija, imunološki testovi i utvrđivanje prisutnosti proteina specifičnih za gravidnost (Pregnancy-Specific Proteins; PSP) uz primjenu radioimunološke metode (RIA).

Ključne riječi: ovaca, gravidnost, metode i tehnike utvrđivanja gravidnosti

Uvod

U iskorištanju ovaca reprodukcija, odnosno njezina uspješnost temelj je proizvodnje mesa, mlijeka i vune. U svrhu postizanja boljih rezultata u reprodukciji potrebno je što prije utvrditi da li je životinja gravidna ili nije. Tako se na vrijeme može reagirati i otkriti sterilne ovce koje se zatim liječe ili izlučuju iz daljnog uzgoja. Dugo se nastoje pronaći praktična i ekonomična

Prof. dr. sc. Vesna Pavić, prof. dr. sc. Boro Mioč, Ivan Vnučec, dipl. ing., Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb.

metoda utvrđivanja gravidnosti u ovaca; to je pitanje od praktične važnosti u uzgoju kao i znanstveni interes u istraživanju reprodukcije i plodnosti ove vrste. Postoji nekoliko praktičnih prednosti u ranom otkrivanju gravidnosti ovaca:

1. manji troškovi hranidbe i ljudskog rada;
2. ranije izdvajanje i prodaja jalovih ovaca;
3. usmjeravanje pozornosti samo na gravidne ovce.

Potrebno je napomenuti da je pri dijagnostici gravidnosti moguće utvrditi i broj fetusa (plodova), što farmeru omogućava organizaciju pravovremene, pravilne i dostatne hranidbe visokogravidnih ovaca. Imajući u vidu važnost reprodukcije u svakoj ovčarskoj proizvodnji, cilj ovog rada je opisati one metode utvrđivanja gravidnosti koje su dovoljno pouzdane i izvedive da bi se mogle provoditi u komercijalnom uzgoju ovaca. To znači da tehnike dijagnostike gravidnosti moraju biti jednostavne, jeftine i precizne.

Uporaba markera

Uobičajena metoda utvrđivanja rane gravidnosti u ovaca u jesenskoj sezoni parenja jest provjera da li se ovca nakon pripusta ponovo tjeri. Najlakši način za to je stavljanje markera s bojom na prsa ovna koji boravi zajedno s već pripuštenim ovcama. Kod mijenjanja boje u markeru, bolje je to učiniti u intervalima od 14 dana nego dužim; je se neke ovce mogu tjerati nakon samo dva tjedna pa postoji mogućnost da se estrus ne zamijeti ako se boja mijenja nakon 16. dana. U kontroliranom pripustu, osobito u stadima u kojima jedan ovan mora opasati velik broj ovaca u relativno kratkom roku, bolje je koristiti hematitnu pastu (prašak i životinjsko ulje) umjesto markera. Ova metoda može biti nepouzdana u razdoblju anestrije pa je potrebno upotrijebiti alternativnu metodu. Za farmere kojima se ovce janje tijekom cijele godine, što podrazumijeva izvansezonska parenja u ranom anestrusu, pitanje odvajanja negravidnih ovaca u prvim tjednima nakon parenja i priprema za njihovo ponovno parenje je od velike važnosti. Takoder je potrebno identificirati gravidne ovce kojima se približava razdoblje zahtjevnije hranidbe u kasnoj gravidnosti.

Utvrđivanje broja fetusa

Učestalost pojave perinatalnog mortaliteta u ovaca je povezana s veličinom i porodnom masom janjeta; što je povezano s veličinom legla i režimom hranidbe u posljednjoj trećini gravidnosti. Osiguravanje dovoljnih količina dodatne hrane ovcama s više fetusa može jamčiti da će oni dostići maksimalnu

veličinu pred janjenje i preživjeti. S druge strane, smanjenje količine hrane ovcama koje nose samce može pomoći pri kontroli porodne mase i smanjiti gubitke janjadi do kojih dolazi pri janjenju i neposredno nakon njega. Uzgajivačima koji sami ostavljaju podmladak za remont stada, ako se ovce prije janjenja mogu grupirati na one sa samcima i dvojci, puno je lakše provoditi selekciju na prirodnu sposobnost bližnjenja u stadima gdje nema pojedinačnih podataka o svakoj ovci. U velikim stadima rano utvrđivanje gravidnosti omogućava grupiranje ovaca po stadiju gravidnosti, što je olakšano u pripustu u kojem se koristi metoda otkrivanja estrusa.

Radiografske metode

Radiografija se jedno vrijeme uspješno koristila u istraživačkim programima na farmama; u istraživanjima o sustavima janjenja tijekom cijele godine. Npr. na Rowett Institutu u Škotskoj ova je tehnika rutinski korištena za točno utvrđivanje gravidnosti i utvrđivanje broja fetusa (Wenham i Robinson, 1972). Ranija istraživanja govore o točnoj dijagnozi pomoću rentgena u ovaca 55. dana nakon oplodnje.

U Australiji su istraživači utvrdili da bi postojeći izvori hrane bili učinkovitije iskorišteni da je dijagnoza pomoću rentgena bila dostupna u komercijalnim stadima ovaca. Rizzoli i sur. (1976) su dokazali da bi pomoću posebno dizajnirane opreme za rukovanje tehnički bilo izvedivo koristiti radiografiju na ovčarskoj farmi i utvrđivati broj fetusa s visokim stupnjem točnosti za vrijeme četvrtog mjeseca gravidnosti (točnost od 90% između 100. i 120. dana u dijagnosticiranju dvojaka). Uporabom ovakvog aparata moglo bi se pregledati 400-600 ovaca na dan. Grace i sur. (1989) su izvjestili o višestrukom dijagnosticiranju gravidnosti u 4.700 ovaca iz 21 stada koristeći ultrazvučni skener ili rentgen (video-fluoroskopija), te provjerili točnost obiju metoda za vrijeme janjenja. Postotak točno dijagnosticiranog broja janjadi pomoću ultrazvuka (19 stada) kretao se od 96,1 do 100%, a pomoću rentgena (13 stada) od 94,3 do 99,6%. Maksimalan broj ovaca koji se mogao testirati pomoću ovih metoda iznosio je 200 pomoću skenera i 250 na sat pomoću rentgena. Međutim, metoda utvrđivanja gravidnosti pomoću rentgena 12 puta je skuplja od ultrazvuka, iako obje metode daju iste rezultate.

Ultrazvučne metode

Ekstenzivna uporaba ultrazvuka u rješavanju različitih problema u gravidnosti i kontroliranoj reprodukciji preuzeta je iz humane medicine. U

početku se koristio široki raspon ultrazvučne opreme, od jednostavnih puls-eho naprava do onih koje su mogle odmah dati sliku sadržaja maternice. U domaćih životinja, uključujući i ovce, dosta rano su se počele koristiti Doppler metoda (detekcija fetalnog pulsa) i A-mod (dubina amplituda) metoda (detekcija plodne vode u maternici).

Detekcija fetalnog pulsa

Doppler metoda koristi sličnu frekvenciju ultrazvuka kao i A-mod. U ovom slučaju ultrazvuku koji se emitira u ovcu i vraća pomoću sonde, nakon što nađe na brzo gibajuće čestice (npr. krv u srcu fetusa i pupčanoj vrpcu) malo se promjeni frekvencija. Takav zvuk pomoću aparata pretvoriti se u čujni signal, dok zvuk koji se odbija od mirujućih čestica ima istu frekvenciju kao i emitirani, te je nečujan.

U ovčarstvu su Doppler metodu koristili mnogi: u Irskoj (Keane, 1969), Velikoj Britaniji (Richardson, 1972), SAD-u (Hulet, 1969), Francuskoj (Bosc, 1971) i Novom Zelandu (Allison, 1971). Ovce su pregledavali u sjedećem ili stojećem položaju. Površina ultrazvučne sonde premazuje se uljem (radi boljeg kontakta) i prislanja na golu površinu kože blizu vimena. Tako vanjskom primjenom Doppler metode postiže se visoka točnost dijagnoze u ovaca u drugoj polovici gravidnosti. Fukui i sur. (1986) su nakon provedenog istraživanja uspoređujući preciznost Doppler metode između 80.-95. dana gravidnosti s ultrazvučnim skeniranjem zaključili da se Doppler metoda pokazala boljom u dijagnosticiranju višestruke gravidnosti.

Doppler za rektalnu probu

Primjena intra-rektalne Doppler metode pokazala se preciznjom i bržom u utvrđivanju gravidnosti nego uporaba vanjske sonde. Prema istraživanju koje je proveo Lindahl (1972) na više od 2.000 ovaca, gravidnost se mogla utvrditi sredinom gravidnosti s točnošću iznad 90%. Deas (1977) je u Velikoj Britaniji na 1.396 ovaca sa intra-rektalnom tehnikom, testirajući ih između 31.-40., 41.-60., 61.-80., 81.-100. i 100.-120. dana nakon pripusta, precizno utvrdio gravidnost u 58, 80, 88, 96 i 97% slučajeva.

Detekcija plodne vode

Ranija istraživanja A-moda na ovcama pokazala su da je ova metoda brza, pogodna i jednostavna (Lindahl, 1966; Meredith i Madani, 1980). Ovce

se uglavnom pregledavaju u stojećem položaju; sonda se premaže uljem i položi na golu kožu trbuha s desne strane oko 50 mm ispred vimena. Kad uska zraka ultrazvuka dođe do tkiva koje ima drukčiju akustičnu vrijednost (npr. gravidna maternica puna tekućine), odbije se na granici objekta; povratne valove hvata sonda i pretvara ih u signale koji se pojačavaju i prikazuju na katodnom ekranu ili u nekom drugom vizualnom obliku. Sveopće iskustvo je pokazalo da ovca treba biti u drugoj polovici gravidnosti ako se želi postaviti dijagnozu s velikom preciznošću. BonDurant (1980) navodi 91% točnosti u dijagnostici gravidnosti ovaca 65. dana gravidnosti i 35% u onih pregledanih prije tog vremena. Brzina testiranja je mnogo veća nego pri uporabi Doppler aparata. U odgovarajućim uvjetima tri čovjeka mogla su pregledati oko 160 ovaca/sat (Wroth i McCallum, 1979).

Real time ultrazvuk i otkrivanje više plodova

Stouffer i sur. (1969) prvi ističu mogućnost primjene komercijalnog životinjskog skenera koji se koristi za utvrđivanje debljine slanine u svinja i površine MLD-a u goveda i u ovčarstvu za utvrđivanje gravidnosti u ovaca. Lindhal (1976) je koristio opremu koja je mogla dati dvodimenzionalnu sliku uterinog sadržaja. Abdominalno skeniranje, što je moguće bliže vimenu, rezultiralo je 100%-tним otkrivanjem gravidnih ovaca nakon 70. dana gravidnosti uz preciznost od 84% u razlikovanju samaca od dvojaka. Međutim, navedeno nije bilo dostatno za opravdanje uloženih troškova i truda. Plant (1980), kao nedostatak takvih ultrazvučnih skenera, navodi početni trošak takve opreme i skupo održavanje, te potrebu za punjenjem baterija pri korištenju u izoliranim područjima gdje nema električne energije. Pravi ultrazvučni sustavi su se koristili za skeniranje trbuha ovaca i pokazali su se vrlo pouzdanima u utvrđivanju gravidnosti i broja fetusa od 50. dana nakon pripusta (Fowler i Wilkins, 1984). U Španjolskoj su Blasco i sur. (1989) dijagnosticirali gravidnost u 646 ovaca pasmine aragon i ustavili da je najveća točnost postignuta u ovaca između 30. i 60. dana gravidnosti. Položaj fetusa i položaj ovce za vrijeme pregleda imali su značajan utjecaj na preciznost dijagnoze u ovaca pregledavanih između 28. i 51. dana gravidnosti.

Fetalni mortalitet

Brojna istraživanja potvrđuju da rana dijagnoza gravidnosti pomoću skenera ne mora uvijek biti točna zbog smrti fetusa. Wilkins i sur. (1982) zabilježili su nisku stopu fetalnog mortaliteta od sredine do kasne gravidnosti

(60.-90. dana). Istraživanja Kellya i sur. (1989) na višeplodnim merino ovcama dovela su do zaključka da bi fetalne smrti kod ovaca koje nose dvojke trebalo uzeti u obzir kod utvrđivanja broja fetusa ultrazvukom; oni su zabilježili oko 10% ovaca s dvojcima koje su izgubile jedan ili oba fetusa između 30. i 95. dana gravidnosti kad im je hrana bila uskraćena. Isti autori su također naglasili da je kod ultazvučnog skeniranja potrebno utvrditi da li su svi fetusi živi. U Danskoj je Woottton (1993) zabilježio da se upotrebom ultrazvučnog skenera između 80. i 90. dana nakon pripusta postiže 100%-tua preciznost u dijagnosticiranju gravidnosti i 98%-tua preciznost u utvrđivanju veličine legla.

Skeniranje u ranom stadiju gravidnosti

Preciznost ultrazvučne metode u ranoj gravidnosti ispitalo je nekoliko znanstvenika. Naravno, mogućnost utvrđivanja gravidnosti u ovaca do 20. dana uz visoki stupanj preciznosti pružila bi izvrsnu prigodu za proučavanje embrionalne i/ili fetalne smrti. U SAD-u su Garcia i sur. (1993) dokazali da se gravidnost može dijagnosticirati na temelju detekcije embrija i njegovog srčanog pulsa između 21. i 34. dana gravidnosti s tim da je točnost procjene bila dosta niska (52% između 17. i 19. dana i 85% između 32. i 34. dana gravidnosti). Mogućnost otkrivanja negravidnih ovaca bila je 80% između 21. i 23. dana i 98% između 32. i 34. dana nakon osjemenjivanja. Autori su zabilježili da se prije 24. dana gravidnosti pozitivna dijagnoza u mnogo slučajeva temeljila na izgledu lumena maternice i položaja maternice u odnosu na mjeđur, prije nego na utvrđivanju začeća.

Progesteronska i druge hormonske probe

Rano utvrđivanje gravidnosti u ovaca, temeljeno na plazma progesteronu u određeno vrijeme nakon pripusta, zabilježeno je u kasnim 60-ima i ranim 70-ima u nekoliko zemalja, uključujući i Irsku (McDonnell, 1974). Test se temelji na činjenici da je koncentracija plazma progesterona prilično niža u ovaca u estrusu nego u gravidnih. U Francuskoj je rana progesteronska proba u ovaca korištena kao dodatna metoda u kontroliranom parenju, pogotovo kad je do njega došlo u razdoblju anestrije. U jednom takvom istraživanju, Thimonier i sur. (1977) mjerili su razinu progesterona 18. dan nakon pripusta; gotovo sve ovce dijagnosticirane kao negravidne nisu se ojanjile, dok se 84% dijagnosticiranih kao gravidne, ojanjilo. U Turskoj su Alacam i sur. (1988) zabilježili dijagozu gravidnosti temeljenu na vrijednostima progeste-

rona određenima pomoću radioimmunoške probe (RIA - RadioImmunoAssay); 15. do 17. dana nakon parenja točna dijagnoza je postavljena u 85% gravidnih, odnosno 86% negravidnih ovaca. U Pakistanu su Rao i sur. (1990), koristeći enzimsku imunoprobu, utvrdili da razina progesterona od $3,10 \text{ ng ml}^{-1}$ ili više 16. dan nakon pripusta upućuje na gravidnost u ovce.

Progesteron u mlijeku

Nastojanja Shemesha i sur. (1979) u Izraelu da odrede progesteron u mlijeku umjesto u krvnoj plazmi pokazala su se uspješnima u awassi ovaca u prirodnoj sezoni parenja (92-100%-tina preciznost u otkrivanju negravidnih ovaca). Međutim, za vrijeme sezonske anestrije preciznost u dijagnosticiranju gravidnosti pokazala se neuobičajeno niskom pa se mislilo da je tome razlog veća razina specifičnog proteina u mlijeku koji je utjecao na probu. Crnojević i Pavić (1986) odredili su vrijednosti progesterona u mlijeku ovaca bosanske pramenke pomoću RIA metode i došli do zaključka da je koncentracija progesterona u uzorcima mlijeka bila oko 3 puta veća negoli u uzorcima krvne plazme. Iz navedenog može se zaključiti da je utvrđivanje gravidnosti temeljeno na određivanju koncentracije progesterona u mlijeku jednakoupravljano kao i određivanje njegove koncentracije u krvnoj plazmi, s tim da je lakše uzeti uzorak mlijeka nego krvi.

Razina progesterona i veličina legla

Placentalna proizvodnja progesterona značajno se povećava između 70. i 100. dana gravidnosti u ovce, nakon što placenta dostigne svoju maksimalnu veličinu (Thorburn i sur., 1977). Kod ovce je, za razliku od koze, moguće donekle procijeniti broj fetusa pomoću kvantitativnog određivanja progesterona jer je koncentracija steroida povezana s veličinom legla. U Velikoj Britaniji Gadsby i sur. (1972) pokušali su odrediti veličinu legla u rasplodnih ovaca mjerenjem koncentracije progesterona između 91. i 105. dana gravidnosti; 65% točnih predviđanja je bio premali postotak da bi postupak dobio praktično značenje.

Uporaba progesteron testa na farmama

Testiranje ovaca na farmama u SAD-u proveli su Lewis i Young (1992) nakon uzimanja uzorka krvi od ovaca 0., 10. i 15. dana estrusnog ciklusa i

analizirali ih pomoću RIA metode ili komercijalnog progesteron testa (target testa). Rezultati su pokazali da je farmski progesteron test 100% točan u otkrivanju ovaca s funkcionalnim žutim tijelom, te da se može provesti brzo i jednostavno.

Estrogenski testovi

Estrogeni se sintetiziraju u placenti, a prisutni su u krvi fetusa i u krvi majke. Ukupni estrogeni u majčinom perifernom krvotoku rastu s trajanjem gravidnosti. U Francuskoj su Thimonier i sur. (1977) testirali ovce između 100. i 110. dana gravidosti i utvrdili gravidnost s 99%-tnom preciznošću. Na temelju ostalih istraživanja u toj zemlji, postalo je evidentno da postoji sveza između ukupne porodne mase janjadi i ukupnih estrogena u krvi ovace. Thimonier i sur. (1977) su, međutim, utvrdili da određivanje veličine legla s relativno visokim stupnjem točnosti zahtijeva prethodno poznavanje kretanja estrogena u majčinskom krvotoku svake pojedine pasmine ili križanca koji se ispituje. Iako isti autori nisu pronašli dokaze o sezonskom variranju ukupnih estrogena, smatrajući da hranidbeni status ovna i genotip fetusa sami mogu utjecati na koncentraciju majčinskog estrogena. Istraživanja Worsfolda i sur. (1986) u Velikoj Britaniji pokazala su da je estron sulfat glavni estrogen koji se može pronaći u perifernoj plazmi gravidne ovce i da se naročito povećava 70. dana nakon pripusta. Razine nesrodnih estrogena, kao što je estron, ostaju niske sve do posljednjih dana gravidnosti kada se naglo povećavaju. Isti autori su utvrdili da je, iako razina estron sulfata varira sukladno broju živih fetusa, značajno variranje između pojedinih ovaca čini neprikladnom za predviđanje.

Ovčji placentalni laktogen

Placentalna laktogenska aktivnost i ovčji placentalni laktogen (oPL) istraživani su prije dosta vremena (Chan i sur., 1978) i pokazalo se da hormon ima mamogenu i laktogenu ulogu te funkciju promotora rasta, pa je stoga poznat još kao ovčji horionski somatotropin (Kelly i sur., 1974). Thimonier i sur. (1977) u Francuskoj i Robertson i sur. (1980a) u Kanadi opisali su testove za utvrđivanje gravidnosti u ovaca temeljene na nalazu ovog agensa specifičnog za gravidnost u krvi nakon 80., odnosno 57. dana gravidnosti. Daljnja istraživanja Robertsona i sur. (1980b) potvrdila su da bi iznimno točna dijagnoza gravidnosti bila moguća kada bi se uzorci krvi uzimali 55. dana nakon oplodnje. Taylor i sur. (1980) su utvrdili da srednja koncentracija hormona iznosi $718 \pm 227 \text{ ng ml}^{-1}$ za samce, $1387 \pm 160 \text{ ng ml}^{-1}$ za dvojke i

$1510 \pm 459 \text{ ng ml}^{-1}$ za trojke. Ipak, maksimalne koncentracije oPL-a zabilježene su između 130. i 139. dana gravidnosti, što je prekasno za značajniju praktičnu primjenu.

Ostale metode za utvrđivanje gravidnosti

Ručne pretrage

Nekoliko se metoda koristilo u kasnoj gravidnosti u pokušajima da se gravidne životinje odvoje od negravidnih. Pratt i Hopkins (1975) postigli su točnost 80-95% kod ovaca pregledavanih abdominalnom palpacijom između 90. i 130. dana gravidnosti. Prema Westu (1986), ovoj pretrazi bi trebalo prethoditi uskraćivanje hrane i vode 12-24 sata prije pretrage. Prema Plantu (1980) fetus se može osjetiti kao plutajuće tijelo koje se potisne prstima, a zatim se vrati u istom smjeru. Iako je metoda jednostavna i relativno brza (do 200 ovaca na sat), broj fetusa ne može se točno odrediti.

Rektalno-abdominalna palpacija

Ovu metodu za utvrđivanje gravidnosti u ovaca prvi je opisao Hulet (1972). Metoda se temelji na povećanju gravidne maternice pomoću sonde koja se uvodi u rektum. U rukama iskusnog rukovatelja, ovaj postupak je pouzdan nakon sredine gravidnosti, a moguće je obraditi 120 i više ovaca na sat (Plant, 1980). Iako je rektalnu probu lako napraviti, jeftina je i ne zahtijeva održavanje, u rukama neiskusne osobe može ozbiljno naškoditi zdravlju životinje.

Vaginalna biopsija

Metodu vaginalne biopsije opisao je Richardson (1972). Ona se temelji na principu da se stanični slojevi u vaginalnom zidu gravidne ovce razlikuju od onih u negravidne. Negravidne ovce imaju više od deset slojeva poligonalnih i ljkuskavih stanica dok gravidne ovce imaju manje slojeva pretežno kockastih stanica. Slojevi vaginalne sluznice se uzimaju iz vaginalnog zida tik ispred otvora mokraćne cijevi. Slojeviti ljkuski epitel negravidne ovce postupno se zamjenjuje u ranom stadiju gravidnosti slojevima stanica koje naginju kockastom obliku i koje pokazuju promjene u jezgri i citoplazmi. Metoda je imala točnost od 90% kod ovaca gravidnih više od 60 dana. Iako je metoda brza i lako se provodi, njome se ne može predvidjeti broj plodova, a sama

činjenica da se uzorak za biopsiju mora uzeti u nekom udaljenom laboratoriju čini je nepogodnom za komercijalnu uporabu.

Imunološki testovi

Antigene povezane s gravidnošću u ovce opisali su australski istraživači 70-ih godina prošlog stoljeća čime je postignut veliki napredak u karakterizaciji tih antigena (Clarke i sur., 1980). Bilo je evidentno da se antigeni mogu pronaći u krvotoku gravidne ovce najranije 24 sata nakon oplodnje; činilo se da je faktor otpušten u majčin krvotok ubrzo nakon oplodnje i da djeluje na način da modificira aktivnost limfocita i tako štiti rani embrio od odbacivanja od strane majčinih tkiva. Međutim, rozeta inhibicijski test koji se koristio u otkrivanju 'faktora rane gravidnosti' bio je suviše kompliciran za rutinsku uporabu.

Proteini specifični za gravidnost (Pregnancy-Specific Proteins; PSP)

Ekonomска korist utvrđivanja gravidnosti u mlađih ovaca pomoću RIA metode za gravidno-specifični protein B (PSPB) u krvi proučena je u istraživanju koje su proveli Packham i sur. (1989) iz Idaho-a. Oni su od šilježica, čija je sezona parenja trajala 65 dana, uzimali uzorke krvi unutar razdoblja od 30 dana nakon završetka sezone parenja i analizirali ih na PSPB. Šilježice u kojih nije utvrđena gravidnost su prodane u roku od dva tjedna nakon uzimanja uzorka krvi po mnogo većoj cijeni (\$106-\$112) nego one koje nisu testirane i prodane kasnije kad je bilo očito da nisu gravidne (\$26). Istraživači su zaključili da ovakvo rano otkrivanje gravidnosti rezultira velikim ekonomskim dobitkom.

Zaključak

Metode za rano utvrđivanje gravidnosti s najvećom preciznošću su ultrazvuk i RIA metoda za gravidno-specifični protein B (PSPB) u krvi, a za rano otkrivanje negravidnih ovaca najbolja metoda je određivanje koncentracije progesterona u krvi i mlijeku. Pomoću ultrazvuka se gravidnost može utvrditi već između 17. i 19. dana sa sigurnošću od 52%, dok se između 32. i 34. dana taj postotak povećava na 85%. Nedostatak ove metode su visoki početni troškovi i skupo održavanje, ali su prednosti daleko veće. Negravidne ovce se mogu otkriti pomoću određivanja koncentracije progesterona u krvi već nakon 18. dana nakon pripusta s gotovo 100%-tom preciznošću, a na temelju

progesterona u mlijeku sa sigurnošću od 92-100%. U drugoj fazi graviditeta podjednako su precizne ostale opisane metode koje se u praksi ne koriste upravo zbog prekasnog dijagnosticiranja gravidnosti. Međutim, u praksi niti jedna od navedenih metoda nema značajniju primjenu.

Literatura

1. Alacam, E., Dinc, D.A., Guler, M., Eroz, S. and Sezer, A.N. (1988): Use of a radioimmunoassay method for early pregnancy diagnosis in ewes after oestrus synchronization with MAP, PMS and GnRH. *Veteriner Fakultesi Dergisi, Selcuk Universitesi* 4 (1), 91-98.
2. Allison, A.J. (1971): Ultrasonics for pregnancy detection. *New Zealand Journal of Agriculture* 123 25-30.
3. Blasco, I., Folch, J. and Echegoyen, E. (1989): Early pregnancy diagnosis and determination of the number of fetuses in sheep by means of ultrasonics. *ITEA, Informacion Tecnica, Economica Agraria* 20 (82), 22-31.
4. BonDurant, R.H. (1980): Pregnancy diagnosis in sheep and goats: field tests with an ultrasound unit. *California Veterinarian* 34, 26-28.
5. Bosc, M. J. (1971): A study of pregnancy diagnosis in the ewe based on ultrasonics and the doppler effect. *Annales de Zootechnie* 20, 107-110.
6. Chan, J. S. D., Robertson, H. A. and Friesen H. G. (1978): Maternal and fetal concentration of ovine placental lactogen measured by RIA. *Endocrinology* 102, 1606-1613.
7. Clarke, F. M., Morton, H., Rolfe, B. E. and Clunie, G. J. A. (1980): Partial characterization of early pregnancy factor in the sheep. *Journal of Reproductive Immunology* 2, 151-162.
8. Crnojević, Z. i Vesna Pavić (1986): Prilog poznavanju koncentracije progesterona u krvi i mlijeku ovaca krajem laktacije. *Poljoprivredna znanstvena smotra* 74, 365-369.
9. Deas, D. W. (1977): Pregnancy diagnosis in the ewe by an ultrasonic rectal probe. *Veterinary Record* 101 113-115.
10. Fowler, D. G. and Wilkins, J. P. (1984): Diagnosis of pregnancy and number of fetuses in sheep by real time ultrasound imagining. I. Effects of number of fetuses, stage of gestation, operator and breed of ewe on accuracy of diagnosis. *Livestock Production Science* 11, 437-450.
11. Fukui, Y., Kobayashi, M., Tsubaki, M., Tetsuka, M., Shimoda, K. and Ono, H. (1986): Comparison of two ultrasonic methods for multiple pregnancy diagnosis in sheep and indicators of multiple pregnant ewes in the blood. *Animal Reproduction Science* 11, 25-33.
12. Gadsby, J. E., Heap, R. B., Powell, D. G. and Walters, D. E. (1972): Diagnosis of pregnancy and of the number of fetuses in sheep from plasma progesterone concentrations. *Veterinary Record* 90, 339-342.
13. Garcia, A., Neary, M. K., Kelly, G. R. and Pierson, R. A. (1993): Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Theriogenology* 39, 847-861.
14. Grace, N. D., Beach, A. D., Quinlivan, T. D. and Ward, B. (1989): Multiple pregnancy diagnosis of using real time ultrasonic body scanner and video-fluoroscopy systems. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 49, 107-111.
15. Hulet, C. V. (1969): Pregnancy diagnosis in the ewe using an ultrasonic doppler instrument. *Journal of Animal Science* 28, 44-47.

16. Hulet, C. V. (1972): A rectal-abdominal palpation technique for diagnosing pregnancy in the ewe. *Journal of Animal Science* 35, 814-819.
17. Keane, M. G. (1969): Pregnancy diagnosis in the sheep by an ultrasonic method. *Irish Veterinary Journal* 23, 194-196.
18. Kelly, P. A., Robertson, H. A. and Friesen, H. G. (1974): Temporal pattern of placental lactogen and progesterone secretion in sheep. *Nature* 248, 435-437.
19. Kelly, R. W., Wilkins, J. F. and Newnham, J. P. (1989): Fetal mortality from day 30 of pregnancy in Merino ewes offered different levels of nutrition. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 29, 339-342.
20. Lewis, G. S. and Young, J. N. (1992): Use of on-farm tests to evaluate progesterone in sheep blood. *Sheep Research Journal* 8, 63-65.
21. Lindahl, I. L. (1966): Detection of pregnancy in sheep by means of ultrasound. *Nature* 212, 642-643.
22. Lindahl, I. L. (1972): Early pregnancy detection in ewes by intra-rectal reflection echo ultrasound. *Journal of Animal Science* 34, 772-775.
23. Lindahl, I. L. (1976): Pregnancy diagnosis in ewes by ultrasonic scanning. *Journal of Animal Science* 43, 1135-1140.
24. McDonnell, H. (1974): A pregnancy test using progesterone binding protein by a competitive binding technique: a preliminary report of its application to ewes. *Irish Veterinary Journal* 28, 1-10.
25. Meredith, M. J. and Madani, M. O. K. (1980): The detection of pregnancy in sheep by A-mode ultrasound. *British Veterinary Journal* 136, 325-330.
26. Packham, J. H., Mitchell, L. A., Smith, G. W., Withers, R. V. and Sasser, R. G. (1989): Economic importance of pregnancy detection in ewe lambs. *Proceedings of the Western Section of the American Society of Animal Science and Canadian Society of Animal Science* 40, 317-319.
27. Plant, J. W. (1980): Pregnancy diagnosis in the ewe. *World Animal Review* 36, 44-47.
28. Pratt, M. S. and Hopkins, P. S. (1975): The diagnosis of pregnancy in sheep by abdominal palpation. *Australian Veterinary Journal* 49, 378-380.
29. Rao, K. M., Jabbar, M. A. and Naz, N. A. (1990): Early pregnancy diagnosis in the ewes based on plasma progesterone level. *Pakistan Veterinary Journal* 10, 76-77.
30. Richardson, C. (1972): Pregnancy diagnosis in the ewe. A review. *Veterinary Record* 90, 264-275.
31. Rizzoli, D. J., Winfield C. G., Howard, T. J. and England, I.K.H. (1976) Diagnosis of multiple pregnancy in ewes on a field scale. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 87, 67-77.
32. Robertson, H. A., Chan, J. S. D., Hackett, A. J., Marcus, G. J. and Friesen, G. H. (1980a) Diagnosis of pregnancy in the ewe at mid-gestation. *Animal Reproduction Science* 3, 69-71.
33. Robertson, H. A., Chan, J. S. D. and Friesen, G. H. (1980b) The use of a pregnancy-specific antigen chorion somatomammotrophin, as an indicator of pregnancy in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 58, 279-281.
34. Shemesh, M., Ayalon, N. and Mazor, T. (1979) Early pregnancy diagnosis in the ewe based on milk progesterone levels. *Journal of Reproduction and Fertility* 56, 301-304.
35. Stouffer, J. R., White, W. R. G., Hogue, D. E. and Hunt, G. L. (1969) Ultrasonic scanner for detection of single or multiple pregnancy in sheep. *Journal of Animal Science* 29, 104.

36. Taylor, M. J., Jenkin, G., Robinson, J. S., Thorburn, G. D., Friesen, H. G. and Han, J.S.D. (1980): Concentrations of placental lactogen in chronically catheterized ewes and fetuses in late pregnancy. *Jornal of Endocrinology* 85, 27-34.
37. Thimonier, J., Bosc, M., Djiane, J., Martal, J. and Terqui, M. (1977): Hormonal diagnosis of pregnancy and number of fetuses in sheep and goats. In: Management of Reproduction in Sheep and Goats, Sheep Industry Development Program Symposium (Madison), pp. 79-88.
38. Thorburn, G. D., Challis, J. R. and Currie, W. B. (1977): Control of parturition in domestic animals. *Biology of Reproduction* 16, 18-27.
39. Wenham, G. and Robinson, J. J. (1972): Radiographic pregnancy diagnosis in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 78, 233-238.
40. Wilkins, J. F., Fowler, D. G., Piper, L. R. and Bindon, B. M. (1982): Observations on litter-size and reproductive wastage using ultrasonic scanning. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 14, p. 637.
41. West, D. M. (1986): Pregnancy diagnosis in the ewe. In: Morrow, D.A. (ed.). *Current Therapy in Theriogenology*. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 850-852.
42. Wootton, (1993): Scanning of pregnant ewes. *Tidsskrift for Dansk Fareavl* 58, 8-9.
43. Worsfold, A. I., Chamings, R. J. and Booth, J. M. (1986): Measurement of oestrone sulphate in sheep plasma as a possible indicator of pregnancy and the number of viable fetuses present. *British Veterinary Journal* 142, 195-197.
44. Wroth, R. H. and McCallum, M. J. (1979): Diagnosing pregnancy in sheep – the 'Scanopreg'. *Journal of Agriculture (Western Australia)* 20, 85.

PREGNANCY TESTING IN SHEEP

Summary

The maximum use of the reproductive potential and intensifying sheep production is not possible without using methods for determining pregnancy in sheep. This paper deals with some of the methods checked in practice, but only few of them field tested. The simplest and the cheapest method is using teasers with markers attached to the chest. However, this method of detecting pregnant sheep has many defects, so it is not reliable enough. In practice, the most widespread method for early pregnancy detecting is by ultrasound whose only drawback is a high price of the equipment. However, the advantages of this method like simple to use, high percentage of precise diagnoses (85% between 32nd and 34th day after tupping) and safety for animal health, ensure its leading position in practical use. For early detection of non-pregnant sheep, equally reliable are methods of determining progesterone concentration in blood and milk (almost 100% precise). Among other methods, which are less frequent in practice, radiography, estrogen tests, detection of sheep placental lactogen, palpation, vaginal biopsy, immunological tests and determining the presence of pregnancy-specific proteins; (PSP) applying radioimmunological method (RIA), are used.

Key words: sheep, gravidity, methods and techniques of determining pregnancy

Primljeno: 20. 8. 2004.