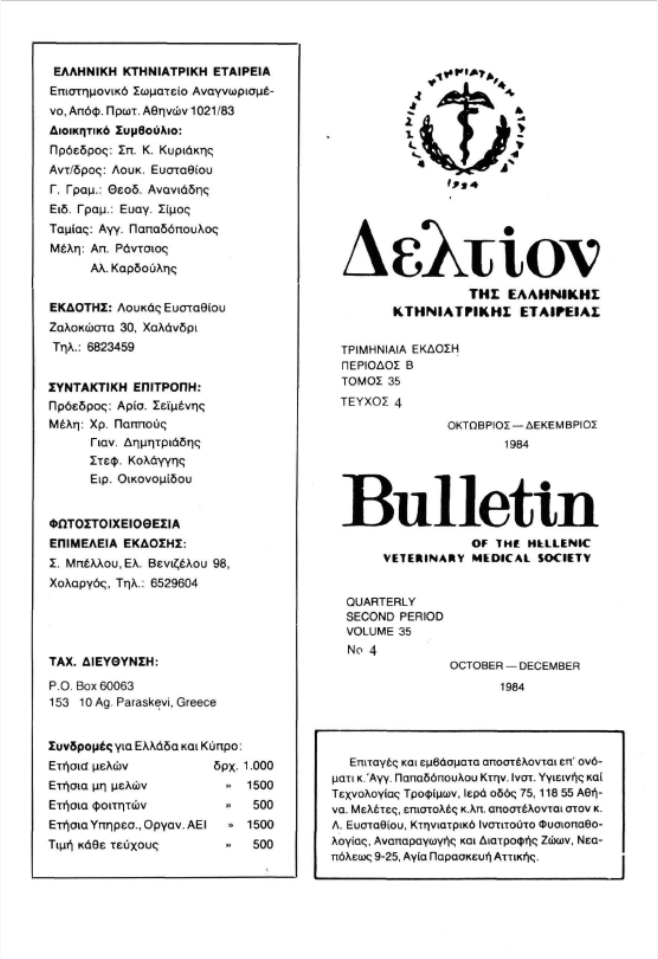
ePublishing

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 35, No 4 (1984)



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Επιστημονικό Σωματείο Αναγνωρισμένο, Απόφ. Πρωτ. Αθηνών 1021/83
Διοικητικό Συμβούλιο:
Πρόεδρος: Σπ. Κ. Κυριάκης
Αντ/δρος: Λουκ. Ευσταθίου
Γ. Γραμ.: Θεοδ. Ανανιάδης
Ειδ. Γραμ.: Ευαγ. Σίμος
Ταμίας: Αγγ. Παπαδόπουλος
Μέλη: Απ. Ράντσιος
Αλ. Καρδούλης

ΕΚΔΟΤΗΣ: Λουκάς Ευσταθίου
Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι
Τηλ.: 6823459

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
Πρόεδρος: Αρίσ. Σεϊμένης
Μέλη: Χρ. Παππούς
Γιαν. Δημητριάδης
Στεφ. Κολάγγης
Ειρ. Οικονομίδου

ΦΩΤΟΣΤΟΙΧΕΙΟΘΕΣΙΑ ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ:
Σ. Μπέλλου, Ελ. Βενιζέλου 98, Χολαργός, Τηλ.: 6529604

ΤΑΧ. ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:
P.O. Box 60063
153 10 Ag. Paraskevi, Greece

Συνδρομές για Ελλάδα και Κύπρο:

Ετήσια μελών	δρχ.	1.000
Ετήσια μη μελών	»	1500
Ετήσια φοιτητών	»	500
Ετήσια Υπηρεσ., Οργαν. ΑΕΙ	»	1500
Τιμή κάθε τεύχους	»	500

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 35
ΤΕΥΧΟΣ 4
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ — ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ
1984

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 35
No 4
OCTOBER — DECEMBER
1984

Επιταγές και εμβάσματα αποστέλονται επ' ονόματι κ. Άγγ. Παπαδόπουλου Κτην. Ινστ. Υγιεινής καί Τεχνολογίας Τροφίμων, Ιερά οδός 75, 118 55 Αθήνα. Μελέτες, επιστολές κ.λπ. αποστέλονται στον κ. Λ. Ευσταθίου, Κτηνιατρικό Ινστιτούτο Φυσιοπαθολογίας, Αναπαραγωγής και Διατροφής Ζώων, Νεαπόλεως 9-25, Αγία Παρασκευή Αττικής.

Fertility control in cattle by milk progesterone assay

Α. Κ. Καραγιαννίδης

doi: 10.12681/jhvms.21661

Copyright © 2019, Α. Κ. Καραγιαννίδης

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

To cite this article:

Καραγιαννίδης Α. Κ. (2019). Fertility control in cattle by milk progesterone assay. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *35*(4), 240–254. https://doi.org/10.12681/jhvms.21661

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 26/03/2026 03:37:33

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛΗΝ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ, 1984, Τ35, τ.4

ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΓΕΛΑΔΩΝ ΜΕ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Α. Κ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΙΔΗΣ*

FERTILITY CONTROL IN CATTLE BY MILK PROGESTERONE ASSAY

A. K. KARAGIANNIDIS*

SUMMARY

Radioimmunoassay (RIA) of milk progesterone has been used in diary cows for the following purposes: (a) early diagnosis of pregnancy, (b) following up the ovarian function during the p p period, (c) diagnosis of subfertility and (d) assessment of efficacy of remedial treatments.

Pregnancy status predicted from the milk samples taken 21 to 24 days after breeding is 98% accurate for cows not pregnant and 80% accurate for those which are pregnant.

In a scrrening program for a p. p. herd fertility, mainly four groups of patterns can be observed: (a) «normal» pattern with onset of some cyclic function wihtin 21 days p p, (b) normal cyclicity but silent heat, (c) follicular cysts and (d) other acyclic conditions.

Under practical conditions sampling frequency for detecting the individual p p problems has to be minimized. Four alternative applications are offered to farmers, veterinarians and A.I. stations:

a) «One-sample test» taken ant day O (day of insemination) to discriminate between reliable or non reliable oestrus observation.

b) «Two-sample test» (day 0 + day 6) to discriminate additionally between ovulatory oestrus an clinical cases like cysts or acyclic conditions.

c) Under optimized management conditions (reliable oestrus observations) the «day 6 only test» may fulfill the same purpose.

d) The «three-sample test» (day 0,6 and 20-22) includes the approximate «return or non return» answer.

A close relationship exists between milk progesterone concentrations and the palpability of the corpus luteum. Only in cases of cystic follicles being palpated no relationship is seen between progesterone concentrations and clinical findings. Suboestrus cannot be related to any characteristic of the progesterone profile. However, dysfunctioning of the ovaries is always related to abnormal profiles.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ραδιοανοανάλυση (RIA) για τον προσδιορισμό της προγεστερόνης στο γάλα αμελγόμενων αγελάδων έχει χρησιμοποιηθεί για τους εξής σκοπούς:

α) Διάγνωση της πρώϊμης κυοφορίας

β) Παρακολούθηση της ωοθηκικής λειτουργίας κατά την μετά τον τοκετό περίοδο.

γ) Τη διάγνωση της υπογονιμότητας και

δ) Την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής αντιμετώπισης της υπογονιμότητας.

Η πρόβλεψη για την κατάσταση κυοφορίας των αγελάδων από δείγματα γάλακτος που συλλέγονται 21-24 ημέρες μετά την σπερματέγχυση είναι κατά 98% ακριβής για τις «μη έγκυες» αγελάδες και κατά 80% για τις «έγκυες» αγελάδες.

---

* Κέντρο Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Διαβατών - Θεσσαλονίκης.

* Artificial Insemination and Reproductive Diseases Center of Diavata - Thessaloniki.

Σ' ένα πρόγραμμα ελέγχου της γονιμότητας των αγελάδων μιας εκτροφής, που βρίσκονται μετά τον τοκετό, μπορούν να παρατηρηθούν τέσσερις βασικές ομάδες ζώων:

α) Αγελάδες με «κανονική» εικόνα γονιμότητας, οι οποίες εμφανίζουν κάποια κυκλική λειτουργία των ωοθηκών μέσα στις 21 πρώτες ημέρες μετά τον τοκετό.

β) Αγελάδες με κανονική κυκλικότητα, αλλά σιωπηλό οίστρο.

γ) Αγελάδες με κύστεις ωοθηκών και

δ) Αγελάδες με άλλες μορφές ακυκλικότητας.

Στην πράξη η συχνότητα δειγματοληψιών για τη διαπίστωση των διάφορων μετά τον τοκετό προβλημάτων γονιμότητας πρέπει να είναι η ελάχιστη δυνατή. Για το σκοπό αυτό προσφέρονται στους αγελαδοτρόφους, τους κτηνίατρους και τα Κέντρα Τ.Σ. τέσσερις εναλλακτικοί τρόποι δειγματοληψίας:

α) Η «δοκιμασία του 1 - δείγματος», που συλλέγεται την 0 ημέρα (ημέρα της ΤΣ), για να γίνει διάκριση ανάμεσα στην αξιόπιστη ή μη αξιόπιστη ανίχνευση του οίστρου.

β) Η «δοκιμασία των 2 - δειγμάτων» (ημέρα 0 και ημέρα 6), για να γίνει παραπέρα διάκριση ανάμεσα τον οίστρο με ωοθυλακιορρηξία και σε κλινικές περιπτώσεις, όπως οι κύστεις ωοθηκών ή άλλες μορφές ακυκλικότητας.

γ) Η «δοκιμασία της 6ης ημέρας μόνο», η οποία κάτω από συνθήκες άριστης παρακολούθησης των αγελάδων μπορούν να εκπληρώσουν τους ίδιους στόχους με τη «δοκιμασία των 2 - δειγμάτων».

δ) Η «δοκιμασία των 3 - δειγμάτων» (ημέρα 0,6 και 20-22), η οποία μπορεί να δώσει απάντηση, εκτός από τα παραπάνω ερωτήματα και στο ερώτημα της αναμενόμενης «επιστροφής ή μη επιστροφής».

Υπάρχει στενή σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων της προγεστερόνης στο γάλα και της διαμέσου του απευθυσμένου ψηλάφησης του ωχρού σωματίου. Μόνο στις περιπτώσεις που ψηλαφώνται κύστεις ωοθυλακίου δεν υπάρχει σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της προγεστερόνης και των κλινικών ευρημάτων. Ο υπόοιστρος (σιωπηλός οίστρος) δε μπορεί να συσχετισθεί μ' οποιαδήποτε χαρακτηριστική εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα. Παρόλ' αυτά η δυσλειτουργία τω ωοθηκών πάντοτε συνοδεύεται από μια ανώμαλη εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα.

Ι. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

Η αναπαραγωγή παίζει ένα βασικό ρόλο στην όλη οικονομία μιας αγελαδοτροφικής μονάδας (17,40), γι' αυτό σε κάθε μονάδα που παρουσιάζει προβλήματα υπογονιμότητας πρέπει να βρεθεί η αιτία που προκάλεσε την αναπαραγωγική αποτυχία, όσο το δυνατό συντομότερα. Για να γίνει όμως αυτό, χρειάζεται λεπτομερής ανάλυση και ερμηνεία των αναπαραγωγικών δεδομένων της μονάδας, κάτι που μπορεί να εξασφαλισθεί μόνο όταν υπάρχει σαφής κατανόηση πολλών παραγόντων που επηρεάζουν τη γονιμότητα των αγελάδων. Τότε μόνο μπορεί να διατυπωθεί σαφής γνώμη για τη γονιμότητα και να παρθούν τα κατάλληλα μέτρα για την αντιμετώπιση οποιασδήποτε αναπαραγωγικής αποτυχίας, που πιθανόν να υπάρχει σε μια μονάδα.

Για την ορθή αντιμετώπιση των προβλημάτων υπογονιμότητας πρέπει, πριν απ' όλα, να εξειδικευτεί η έννοια της γονιμότητας Η γονιμότητα μιας αγελαδοτροφικής μονάδας μπορεί να προσδιοριστεί κατά ένα άριστο τρόπο με τρία βασικά κριτήρια: (α) το ποσοστό κυοφορίας με την πρώτη σπερματέγχυση, (β) τον αριθμό σπερματεγχύσεων ανά σύλληψη και (γ) το μέσο χρονικό διάστημα που παρεμβάλλεται ανάμεσα στον τελευταίο τοκετό και την επόμενη σύλληψη. Με την εξακρίβωση αυτών των τριών κριτηρίων είναι δυνατό να εκφραστεί αριθμητικά η γονιμότητα μιας οποιαδήποτε αγελαδοτροφικής μονάδας με τον τύπο (11,14).

Για να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση στη ζωϊκή παραγωγή και ιδιαίτερα στις εκτροφές γαλακτοπαραγωγικών αγελάδων, μια και η μέγιστη

$$\text{Γονιμότητα} = \frac{\text{Ποσοστό συλλήψεων με Ι ΤΣ}}{\text{Αριθμός ΤΣ/σύλληψη}} \quad \text{— Διάστημα τοκετός/σύλληψη —}$$

125 — Αριθμός αγελάδων με άγνωστα δεδομένα κυοφορίας.

παραγωγή γάλακτος επιτυγχάνεται μέσα στις 60 πρώτες ημέρες μετά τον τοκετό, πρέπει να εξασφαλιστεί ένας παραδεκτός αναπαραγωγικός ρυθμός. Κάτω από ιδανικές συνθήκες, πρέπει να υπάρχει μεταξύ δύο διαδοχικών τοκετών χρονικό διάστημα 12-12,5 μηνών (40). Αυτό όμως μπορεί να επιτευχθεί μόνο αν το ποσοστό συλλήψεων με πρώτη σπερματέγχυση είναι μεγάλο (>60%) και το μεταξύ του τελευταίου τοκετού και της πρώτης ΤΣ διάστημα είναι μικρότερο από 60 περίπου ημέρες (17,45). Στην πραγματικότητα όμως το μεταξύ δύο διαδοχικών τοκετών διάστημα είναι συνήθως μεγαλύτερο από 13 μήνες (44), η εμφάνιση του πρώτου οίστρου μετά τον τοκετό παρατηρείται σε διάστημα μεγαλύτερο των 90 ημερών, το δε ποσοστό κυοφορίας με πρώτη σπερματέγχυση είναι μικρότερο από 50% ή και μικρότερο, ιδιαίτερα σε μονάδες με υψηλή γαλακτοπαραγωγή.

Η οικονομική σημασία της χαμηλής γονιμότητας είναι τεράστια, γιατί παράγονται ετήσια λιγότερο γάλα και μοσχάρια Στις ΗΠΑ υπολογίστηκε ότι σε μια μονάδα με 100 αγελάδες υψηλής γαλακτοπαραγωγής η καθυστέρηση στη γονιμοποίηση των αγελάδων κατά 30 ημέρες, πέρα από τον άριστο χρόνο, μειώνει το εισόδημα του αγελαδοτρόφου κατά 6000 δολλάρια (20). Κατά τους Attonaty et al. (3) κάθε μέρα που περνά από τον τοκετό μέχρι τη σύλληψη στοιχίζει 5 γαλλικά φράγκα για κάθε αγελάδα. Συνεπώς το κέρδος που πέτυχαν οι Thibier et al. (57), μειώνοντας με LH - RF και /ή PGF_{2a} το παραπάνω χρονικό διάστημα κατά 10 ημέρες, ήταν 3450 γαλλικά φράγκα για τις 69 αγελάδες της μονάδας, ένα ποσό που αντιπροσώπευε την τιμή αγοράς μιας αγελάδας. Τέλος, κατά τον Booth (4) κάθε χαμένος οιστρικός κύκλος ζημίωσε τους άγγλους αγελαδοτρόφους το 1980 κατά 17 λίρες Αγγλίας (28 δολλάρια).

ΙΙ. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΜΕ ΡΑΔΙΟΑΝΟΣΟΑΝΑΛΥΣΗ

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος προσδιορισμοθ της προγεστερόνης στο γάλα είναι η ραδιοανοσοανάλυση (RIA, Radioimmunoassay), (2,26,35,47,54).

1. Δειγματοληψία του γάλακτος

Η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο γάλα είναι η ίδια και στα τέσσερα τεταρτημόρια του μαστού (50). Ωστόσο, είναι βασικό να γίνεται η δειγματοληψία απ' όλες τις αγελάδες με τον ίδιο πάντα τρόπο, είτε στην αρχή της άμελξης, είτε απ' ολόκληρη την ποσότητα του γάλακτος, είτε τέλος από τις τελευταίες ποσότητες του γάλακτος, μετά την απομάκρυνση της αμελκτικής μηχανής (19,25,28). Η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο γάλα εξαρτάται από τη συγκέντρωση του λίπους σ' αυτό (49) και το επίπεδό της μπορεί να ποικίλλει ακόμη και σ' αυτό το ίδιο το άμελγμα (50), γι' αυτό οι Hoffman και Hamburger (28) πρότειναν να χρησιμοποιούνται οι πλούσιες σε λίπος «τελευταίες αμελξιές», οι οποίες όχι μόνον αποτελούν πιο καθαρά δείγματα γάλακτος και η λήψη τους είναι ευκολότερη, αλλά είναι δυνατό να ξαναπαρθούν αμφίβολα ή χαμένα δείγματα, αν φυσικά ανακαλυφτούν έγκαιρα.

2. Αποστολή και συντήρηση των δειγμάτων γάλακτος

Η προγεστερόνη του γάλακτος είναι αρκετά σταθερή, το δείγμα του γάλακτος όμως πρέπει να διατηρείται αναλλοίωτο. Σαν συντηρητικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί το διχρωμικό κάλιο, χωρίς να παρεμβάλλεται στον προσδιορισμό της προγεστερόνης και να αλλοιώνει τα αποτελέσματα (19). Τα δείγματα μπορούν να διατηρηθούν σε 5° C για αρκετές εβδομάδες ή να καταψυχτούν σε –20° C και να διατηρηθούν για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους. Έχει αποδειχτεί ότι δείγματα γάλακτος, που διατηρήθηκαν σε κατάψυξη για περισσότερο από ένα χρόνο, δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές στη μετρούμενη σ' αυτά συγκέντρωση της προγεστερόνης (19). Η αποστολή των δειγμάτων γάλακτος στο Ορμονολογικό Εργαστήριο μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους, εκείνο όμως που πρέπει να τονισθεί ιδιαίτερα είναι ότι η ταχύτητα στην ανακοίνωση των αποτελεσμάτων στον αγελαδοτρόφο και το χαμηλό κόστος για την εξέταση ενός δείγματος γάλακτος είναι δύο βασικές προϋποθέσεις για την παροχή στον αγελαδοτρόφο γρήγορης και με φτηνό κόστος υπηρεσίας.

3. Επεξεργασία των δειγμάτων γάλακτος

Πριν από τη ραδιοανοσοανάλυση, τα δείγ-

ματα γάλακτος πρέπει να υποβληθούν σε ορισμένη επεξεργασία. Η εκχύλιση της προγεστερόνης επιτυγχάνεται με πετρελαϊκό αιθέρα (50°-70°). Μετά το διαχωρισμό του αιθερούχου κλάσματος και την εξάτμιση του αιθέρα, ακολουθεί η απομάκρυνση των λιπών με μεθανόλη και φυγοκέντρηση, οπότε οι λιπαρές ουσίες καθιζάνουν και τα στεροειδή παραμένουν στην υπερκείμενη μεθανόλη.

4. Αρχή στην οποία στηρίζεται η RIA

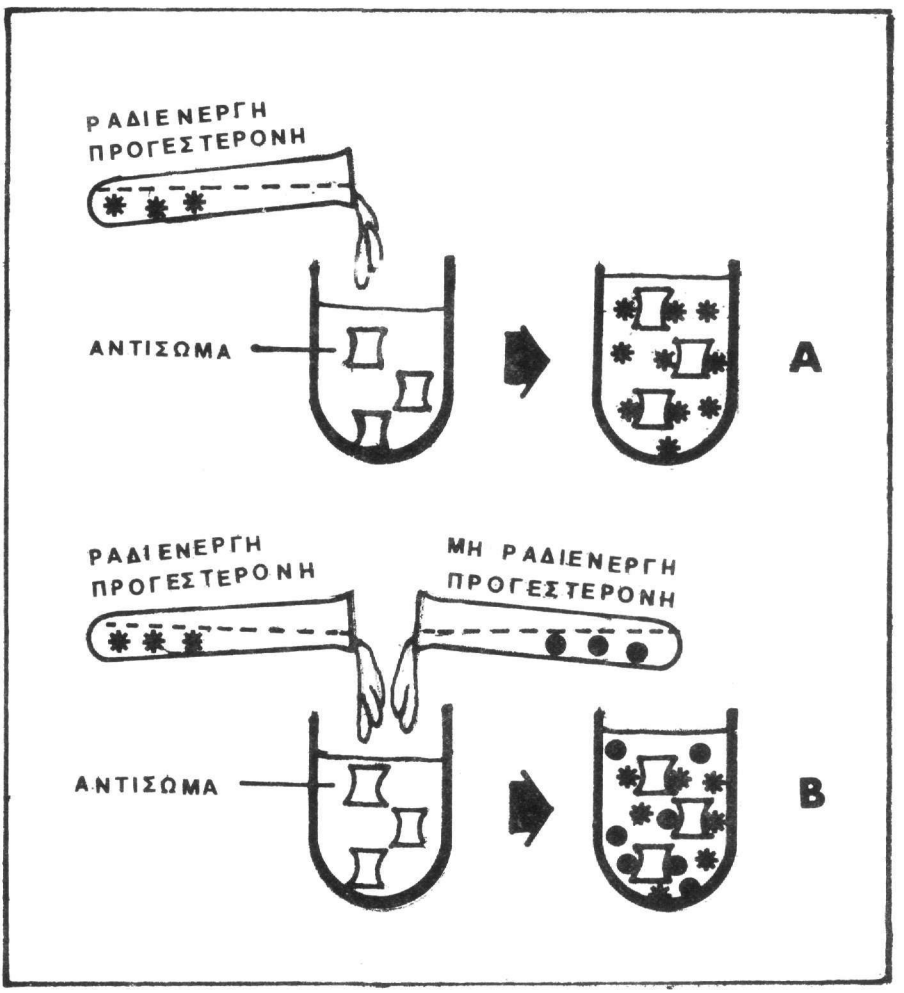
Η αρχή της ραδιοανοσοανάλυσης (RIA), που φαίνεται στην εικόνα Ι, βασίζεται στην ικανότητα της προγεστερόνης που υπάρχει στο υπό μέτρηση δείγμα γάλακτος να ανταγωνίζεται τη ραδιενεργή προγεστερόνη (προγεστερόνη μαρκαρισμένη με ^{3}H ή ^{125}I) στην κατάληψη των δεσμευτικών θέσεων των ειδικών αντισωμάτων (αντι - προγεστερόνης) και να εμποδίζει έτσι τη δέσμευσή της. Όταν οι ποσότητες των αντισωμάτων και της ραδιενεργής προγεστερόνης διατηρούνται σταθερές, η αναστολή της δεύσμευσης της ραδιενεργής προγεστερόνης εξαρτάται από την ποσότητα της μη ραδιενεργής προγεστερόνης που υπάρχει στο υπό μέτρηση δείγμα γάλακτος ή στο πρότυπο διάλυμα προγεστερόνης. Για νά εξασφαλιστεί ο κορεσμός όλων των δεσμευτικών θέσεων που διαθέτουν τα αντισώματα, προστίθεται ραδιενεργή προγεστερόνη σε περίσσεια. Η παρουσία μη ραδιενεργής προγεστερόνης στο δείγμα γάλακτος ή στο πρότυπο διάλυμα προγεστερόνης που δεσμεύεται από τα αντισώματα. Για το διαχωρισμό της ελεύθερης ραδιενεργής προγεστερόνης από εκείνη που έχει δεσμευτεί από τα αντισώματα χρησιμοποιήθηκαν πολλοί τρόποι. Οι πιο συνηθισμένοι είναι (α) η μέθοδος του άνθρακα, κατά την οποία η αδέσμευτη ραδιενεργή προγεστερόνη προσροφάται πάνω σε αδιάλυτα σωματίδια ενεργοποιημένου άνθρακα που έχουν καλυφτεί με δεξτράνη, (β) η μέθοδος της πολυαιθυλικής αλκοόλης, με την οποία κατακρημνίζονται τα σύμπλοκα προγεστερόνης - αντισώματος και (γ) η μέθοδος του διπλού αντισώματος, κατά την οποία επιτυγχάνεται η καθίζηση των ευδιαλίτων σύμπλοκων προγεστερόνης - αντισώματος με την προσθήκη ενός δεύτεου αντισώματος, το οποίο παρασκευάστηκε έναντι του κλάσματος της γ-σφαιρίνης του είδους του ζώου στο οποίο παρασκευάστηκε το πρώτο ειδικό για την προγεστερόνη αντίσωμα.

5. Αξιοπιστία της ερμηνείας των αποτελεσμάτων

Παρά τη μεγάλη ευαισθησία της ραδιοανοσοανάλυσης (RIA) για τον προσδιορισμό της προγεστερόνης στο γάλα (επιτρέπει τη μέτρηση 0,05-30ng/ml), η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή. Υπάρχουν μόνο δύο περιπτώσεις στις οποίες η ερμηνεία, που βασίζεται στα αποτελέσματα που παίρνονται, είναι 100% ορθή. Αυτές είναι: (α) προγεστερόνη >2,2ng/ml = όχι οίστρος και (β) προγεστερόνη <2,2ng/ml = όχι κυοφορία (23,29). Η θετική διάγνωση για κυοφορία (ημέρα 20) είναι ορθή μόνο στο 80% των περιπτώσεων, μπορεί δε να ποικίλλει από μονάδα σε μονάδα, ανάλογα με των αριθμό των αγελάδων που υπάρχουν σ' αυτές, σε μερικές δε περιπτώσεις μπορεί να φτάσει σε χαμηλά επίπεδα, που δεν είναι παραδεκτά από τον αγελαδοτρόφο. Πέρα απ' αυτό, τα δείγματα που χαρακτηρίζονται σαν «αμφίβολα» κυμαίνονται από 10% ως 16% (31). Στις αγελάδες που παρουσιάζουν τιμές προγεστερόνης <2,2ng/ml μπορούν να συγκαταλέγονται και εκείνες που πάσχουν από κύστεις ωοθυλακίου. Μια τέτοια αγελάδα εκδηλώνει οίστρο χωρίς ωοθυλακιορρηξία και η διάγνωση «επαρκής οίστρος για ΤΣ» δε θα είναι σωστή. Σε τέτοιες περιπτώσεις όμως η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα δείχνει να είναι πολύτιμο μέσο στα χέρια του κτηνιάτρου για να κάνει σωστή διάγνωση και να εφαρμόσει την κατάλληλη θεραπεία. Ωστόσο, για να διαπιστωθούν μικρές μεταβολές στην ωοθηκική λειτουργία, απαιτείται η χρησιμοποίηση μιας RIA με μεγάλη ευαισθησία.

6. Κριτήρια για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Με βάση τις τιμές που βρέθηκαν σε δείγματα γάλακτος, που συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου και το αρχικό (πρώϊμο) στάδιο της κυοφορίας, καθωρίστηκαν τα ακόλουθα κριτήρια για την εφαρμογή της ραδιοανοσοανάλυσης για προγεστερόνη στο πλήρες γάρα:



Εικόνα 1. Αρχή στην οποία στηρίζεται η ραδιοανοσοανάλυση (RIA)

α) Έλεγχος για την παρουσία ή μη οίστρου

Προγεστερόνη <2,2ng/ml γάλακτος = ενδεικτικό οίστρου

» 2,2-3,5ng/ml γάλακτος = αμφίβολο

» >3,5ng/ml γάλακτος = όχι οίστρος

Η συλλογή των δειγμάτων γάλακτος πρέπει να γίνεται κατά την ημέρα της ΤΣ (ημέρα 0) ή κατά την ημέρα του αναμενόμενου ή έντονα εμφανιζόμενου οίστρου.

β) Έλεγχος για διάγνωση πρώϊμης κυοφορίας

Προγεστερόνη >11ng/ml γάλακτος = ενδεικτικό κυοφορίας

» 2,2-11ng/ml γάλακτος = αμφίβολο

» <2,2ng/ml γάλακτος = μη κυοφορία

Η συλλογή των δειγμάτων γάλακτος πρέπει να γίνεται 20-22 ημέρες μετά την ΤΣ.

γ) Έλεγχος της ωοθηκικής λειτουργίας

Με συλλογή δειγμάτων γάλακτος 2 φορές την εβδομάδα είναι δυνατό να μελετηθούν οι διάφορες υπογονιμότητας που οφείλονται σε δυσλειτουργία των ωοθηκών, το παραμένον ωχρό σωμάτιο, η άνοιστρη ωοθυλακιορρηξία (σιωπηλός οίστρος), η κυστική εκφύλιση των ωοθηκών και οι κύστεις ωοθυλακίου. Η εικόνα (pattern) των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα σε κάθε μια από τις παραπάνω μορφές δυσλειτουργίας των ωοθηκών θα περιγραφεί παρακάτω.

Όταν ο προσδιορισμός της προγεστερόνης γίνεται στο λίπος του γάλακτος (9,30), ισχύουν διαφορετικά κριτήρια:

α) Έλεγχος για οίστρο

Προγεστερόνη <30ng/ml λίπους γάλακτος = ενδεικτικό οίστρου

» >30ng/ml λίπους γάλακτος = όχι οίστρος

β) Έλεγχος για διάγνωση πρώϊμης κυοφορίας

Προγεστερόνη 100ng/ml λίπους γάλακτος = ενδεικτικό κυοφορίας

» 100ng/ml λίπους γάλακτος = μη κυοφορία

γ) Έλεγχος της ωοθηκικής λειτουργίας

Μπορεί να γίνει συλλογή ενός αριθμού δειγμάτων γάλακτος ανά 2ήμερα διαστήματα και να προσδιοριστεί η προγεστερόνη στο λίπος του γάλακτος. Επειδή το λίπος του γάλακτος περιέχει το μεγαλύτερο μέρος της προγεστερόνης, τα δείγματα μπορούν να προέρχονται απ' οποιοδήποτε κλάσμα του γάλακτος, τα αποτελέσματα είναι περισσότερο επαναλήψιμα και η μέθοδος αυτή ελαχιστοποιεί το «εύρος αμφιβολίας» για τις διάφορες μετρήσεις.

III. ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Ήδη από το 1968 οι Shemesh et al (51) πρότειναν τη μέτρηση της προγεστερόνης στο πλάσμα του περιφερικού αίματος των αγελάδων σαν ένα δέκτη της κυοφορίας στο αρχικό της στάδιο. Αργότερα, ο Hoffmann (27) χρησιμοποίησε τη μέθοδο αυτή για να μελετήσει το πρόβλημα της χαμηλής γονιμότητας, που οφειλόταν σε πρώϊμους εμβρυϊκούς θανάτους, μετά από σπερματέγχυση που γινόταν κατά τη διάρκεια ψεύτικου οίστρου.

Μετά τη διαπίστωση ότι τα επίπεδα της προγεστερόνης στο γάλα παρουσιάζουν την ίδια εικόνα τιμών, όπως και στο πλάσμα του αίματος (41), αναπτύχθηκε μια ολόκληρη σειρά αξιόπιστων μεθόδων για τον προσδιορισμό της προγεστερόνης στο γάλα (25,28). Η χρησιμοποίηση των μεθόδων αυτών φάνηκε να είναι εφαρμόσιμη στην πράξη σε μεγάλη κλίμακα, μια και δεν υπήρχαν προβλήματα στη συλλογή και στη συντήρηση των δειγμάτων γάλακτος (1).

Ενώ στις περισσότερες χώρες και ιδιαίτερα στην Αγγλία δίνεται μεγαλύτερη έμφαση στην διάγνωση της πρώϊμης κυοφορίας, στη Γερμανία υπάρχει η τάση να χρησιμοποιείται η μέθοδος αυτής γενικά για τον έλεγχο της γονιμότητας σε προβληματικές αγελάδες ή μονάδες.

1. Διάγνωση πρώιμης κυοφορίας.

Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας (19,21,25,26,28,35,47,54) δείχνει ότι η ακρίβεια της μεθόδου αυτής για τη πρώϊμη διάγνωση

της «μη κυοφορίας», 20-24 ημέρες μετά τη σπερματέγχυση, είναι περίπου 95% και της «κυοφορίας» 80-85%, ενώ οι Foote et al. (20) ανεβάζουν τα ποσοστά αυτά σε 98% και 80%, αντίστοιχα. Η μικρότερη ακρίβεια για τη διάγνωση της «κυοφορίας» φαίνεται να οφείλεται εν μέρει στην απώλεια (μέχρι και 10%) των εμβρύων, που συμβαίνει από τη στιγμή που μετριέται η προγεστερόνη στο γάλα μέχρι τη στιγμή που γίνεται ο έλεγχος της κυοφορίας με ψηλάφηση διαμέσου του απευθυσμένου, 6 εβδομάδες ή και περισσότερο μετά την ΤΣ.

Βασικά, ο προσδιορισμός της προγεστερόνης στο γάλα δεν αποτελεί ένα ακριβές μέσο διάγνωσης της κυοφορίας, αλλά μάλλον μια εκτίμηση για την παρουσία ή απουσία ωχρού σωματίου, που βρίσκεται σε λειτουργία. Επιπλέον, ένας σημαντικός αριθμός «αμφίβολων» δειγμάτων γάλακτος δεν επιτρέπει την οριστική δήλωση σχετικά με την κυοφορία. Το υψηλό ποσοστό των 15-20% λανθασμένων θετικών αποτελεσμάτων (λόγω παρατεταμένων οιστρικών κύκλων, μη ορθού καθορισμού της ημέρας 0 του οιστρικού κύκλου, παρουσίας κύστεων ωχρού σωματίου ή εμβρυϊκών θανάτων που συμβαίνουν μέσα στις 3 πρώτες εβδομάδες μετά την ΤΣ), που παρατηρείται όταν η διάγνωση της κυοφορίας βασίζεται στη μέτρηση της προγεστερόνης σένα μόνο δείγμα γάλακτος, συνήθως 21-24 ημέρες μετά την ΤΣ, δεν επιτρέπει στην μέθοδο αυτή διάγνωσης της κυοφορίας να ανταγωνισθεί την ψηλάφηση διαμέσου του απευθυσμένου. Τέλος, σάρκετές χώρες, όπως στη Γερμανία, η «διάγνωση κυοφορίας» από παράδοση είναι μια από τις αρμοδιότητες του κτηνιάτρου. Η χρησιμοποίηση του προσδιορισμού της προγεστερόνης στο γάλα για διάγνωση της κυοφορίας, παρόλο που δεν εκπληρώνει τις άριστες προσδοκίες, ως προς την αξιοπιστία της, οδήγησε σέναν ανταγωνισμό ανάμεσα στο Εργαστήριο και τον Κτηνίατρο που ασκεί το επάγγελμά του στην ύπαιθρο. Το γεγονός όμως αυτό επιβράδυνε την εφαρμογή της μεθόδου αυτής σε μεγάλη κλίμακα, κάτω από στενή και αρμονική συνεργασία του Εργαστηρίου και του Κτηνιάτρου, εκεί όπου αυτή χρειάζεται επειγόντως, δηλαδή στον έλεγχο της γονιμότητας στις προβληματικές κυρίως μονάδες. Τέτοιες εφαρμογές θα αναφερθούν παρακάτω.

2. Έλεγχος της γονιμότητας των αγελάδων.

α. Έλεγχος του ωοθηκικού κύκλου των αγελάδων μετά τον τοκετό.

Η ραδιοανοσοανάλυση (RIA) για τον προσδιορισμό της προγεστερόνης στο γάλα, που συλλέγεται 2-3 φορές την εβδομάδα και για 90 ημέρες μετά τον τοκετό, μπορεί να αποτελέσει μια χρήσιμη μέθοδο για τον έλεγχο της ωοθηκικής δραστηριότητας σε μεμονωμένες αγελάδες ή σ όλες τις αγελάδες μιας μονάδας (10,22,34,37). Σε πολλές φυσιολογικές αγελάδες, χωρίς καμιά μολυσματική ασθένεια, δεν εκδηλώνεται οίστρος για εβδομάδες ή και για μήνες μετά τον τοκετό και είναι άγνωστο αν πρόκειται για αγελάδες «ακυκλικές» με αναφροδισία ή απλώς δεν ανιχνεύτηκε ο οίστρος, λόγω ανεπαρκούς παρακολούθησης ή τέλος, αν πρόκειται για αγελάδες με σιωπηλή ωοθυλακιορρηξία (σιωπηλός οίστρος). Σε τέτοιες περιπτώσεις η μέτρηση της προγεστερόνης σε δείγματα γάλακτος (7,10,19,42,58) μπορεί να πετύχει πολλούς στόχους, όπως είναι :

(ι) Ο καθορισμός του χρόνου κατά τον οποίο αρχίζει μια αγελάδα τους οιστρικούς της κύκλους μετά τον τοκετό.

(ιι) Η συσχέτιση των οιστρικών κύκλων με τη διατροφή.

(ιιι) Η συσχέτιση των ωοθηκικών κύκλων με τους οιστρικούς κύκλους.

(ι) Η διάγνωση των ενδοκρινικών ανωμαλιών της ωοθήκης, καθώς και η εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των ανωμαλιών.

Ένα δεύτερο πρόβλημα είναι η μη ορθή ανίχνευση των οίστρων ή η λανθασμένη ταυτοποίηση των αγελάδων. Η διενέργεια ΤΣ σε ακατάλληλο χρόνο σίγουρα οδηγεί σε χαμηλό ποσοστό κυοφοριών (5,11,55), κατά συνέπεια η μη ορθή ανίχνευση του οίστρου αποτελεί μια βασική αιτία για τα μεταξύ δύο διαδοχικών τοκετών μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα κάνει δυνατή την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, διαχωρίζοντάς το από τον πραγματικό άνοιστρο, Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των μέσων που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των οίστρων σε μια μονάδα, όπως είναι οι «δείκτες για επίβαση», το σημάδεμα με κιμωλία και οι ηλεκτρονικοί καθετήρες, που μετρούν τις μεταβολές της τραχηλικής βλέννης.

6. Διάγνωση της ωοθηκικής δυσλειτουργίας.

Σε πολλές αγελαδοτροφικές μονάδες το μεταξύ δύο διαδοχικών τοκετών διάστημα είναι μεγαλύτερο από 365 ημέρες. Η αύξηση του διαστήματος αυτού οφείλεται στην καθυστέρηση διενέργειας της πρώτης τεχνητής σπερματέγχυσης μετά τον τοκετό (13).

Σε φυσιολογικές αγελάδες η πρώτη μετά τον τοκετό ωοθυλακιορρηξία συμβαίνει 2 εβδομάδες μετά τον τοκετό (60). Ως εκ τούτου, η καθυστέρηση στη διενέργεια της πρώτης σπερματέγχυσης προκαλείται από την ανώμαλη λειτουργία, την ανώμαλη παλινδρόμηση της μήτρας ή τη μη ανίχνευση του οίστρου. Η αποτυχία στην ανίχνευση του οίστρου θεωρείται ως ο κυριότερος παράγοντας (13), μερικοί όμως ερευνητές δίνουν έμφαση στον ρόλο που παίζουν οι κύστεις των ωοθηκών (15), ο πραγματικός άνοιστρος ή αδράνεια των ωοθηκών (6,16) και το παραμένον ωχρό σωμάτιο (37). Και εδώ η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα όλων των αγελάδων μιας μονάδας 2 φορές την εβδομάδα για 90 ημέρες μετά τον τοκετό μπορεί να προσφέρει τη δυνατότητα μελέτης των διαφόρων μορφών υπογονιμότητας, που προκαλούνται από την ωοθηκική δυσλειτουργία.

Με βάση το χρόνο εμφάνισης του πρώτου οίστρου μετά τον τοκετό, τα ευρήματα από την ψηλάφηση διαμέσου του απευθυσμένου (αδράνεια ωοθηκών, κυστική εκφύλιση ωοθηκών, κύστη ωοθυλακίου, περιοδικό ή παραμένον ωχρό σωμάτιο, κύστη ωχρού σωματίου, παλινδρόμηση της μήτρας, ενδομητρίτιδα, πυομήτρα κλπ) και την εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα (pattern), οι αγελάδες μιας μονάδας μπορούν να ταξινομηθούν στις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες :

Αγελάδες με κανονικό οιστρικό και ωοθηκικό κύκλο. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι αγελάδες εκείνες, που παρουσιάζουν μετά τον τοκετό κανονικό οιστρικό κύκλο κάθε 17-25 ημέρες. Ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης του πρώτου οίστρου μπορούν να διαιρεθούν (ι) στις αγελάδες με πρώϊμη έναρξη των οιστρικών κύκλων (πρώτος οίστρος πριν από την 14η ημέρα μετά τον τοκετό), (ιι) στις αγελάδες με κανονική έναρξη των οιστρικών κύκλων (πρώτος οίστρος πριν από την 30η ημέρα μετά τον τοκετό) και (ιιι) στις αγελάδες με καθυστερημένη έναρξη των οιστρικών κύκλων (πρώτος οίστρος μετά την 30η ημέρα μετά τον τοκετό).

Η ψηλάφηση των ωοθηκών αποκαλύπτει την έναρξη κανονικού ωοθηκικού κύκλου με ωοθυλακιορρηξία πριν από την 30η ημέρα, ακόμη και σ έκείνες τις αγελάδες, που ο πρώτος οίστρος εκδηλώνεται μετά την 30η ημέρα, οι οποίες, ως εκτούτου, είναι περιπτώσεις σιωπηλού οίστρου. Ενδέχεται να υπάρχει κύστη ωοθυλακίου και η αγελάδα να παρουσιάζει κανονικό ωοθηκικό κύκλο (ωοθυλάκιο-ωοθυλακιορρηξία-ωχρό σωμάτιο).

Η εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα είναι η ίδια, τόσο στις αγελάδες με κανονικό οιστρικό κύκλο, όσο και σ έκείνες που παρουσιάζουν σιωπηλό οίστρο, χαρακτηρίζεται δε από διαδοχικές περιόδους χαμηλής προγεστερόνης, 3 ng/ml (φάση ωοθυλακίου), εναλλασσόμενες με περιόδους (10-15 ημερών) υψηλής προγεστερόνης, 10 ng/ml (φάση ωχρού σωματίου). Η ίδια όμως εικόνα μπορεί να εμφανιστεί και σε μερικές αγελάδες με κύστη ωοθυλακίου (εικόνες 1,2,3). Στην κατηγορία αυτή των αγελάδων δεν εμφανίζεται ανώμαλη εικόνα τιμών προγεστερόνης. Τέλος, το ποσοστό κυοφοριών στις αγελάδες της πρώτης κατηγορίας είναι κανονικό, με μια μειωμένη γονιμότητα μόνο στις αγελάδες που παρουσιάζουν συμφύσεις, λόγω τοπικής περιτονίτιδας.

Αγελάδες με καθυστερημένη έναρξη των οιστρικών κύκλων. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν αγελάδες με καθυστερημένη έναρξη των οιστρικών κύκλων (πρώτος οίστρος μετά την 30η ημέρα από τον τοκετό). Η καθυστέρηση αυτή οφείλεται κατά 61% σε σιωπηλούς οίστρους και κατά 39% σε ωοθηκική δυσλειτουργία, όπως είναι ο πραγματικός άνοιστρος ή αδράνεια ωοθηκών, η προσωρινή αδράνεια των ωοθηκών, δηλαδή η προσωρινή καθυστέρηση στην ανάπτυξη του ωχρού σωματίου μετά την ωοθυλακιορρηξία και η κυστρική εκφύλιση των ωοθηκών. Μαζί με την ωοθηκική δυσλειτουργία πιθανόν να συνυπάρχει και ανώμαλη παλινδρόμηση της μήτρας, ενδομητρίτιδα, πυομήτρα, συμφύσεις ή περικολπική αντίδραση.

Η εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα των αγελάδων με σιωπηλό οίστρο είναι κανονική, όπως και στις αγελάδες της πρώτης κατηγορίας. Αντίθετα, η εικόνα στις αγελάδες με ωοθηκική δυσλειτουργία είναι ανώμαλη. Στις αγελάδες με αδράνεια των ωοθηκών τα επίπεδα της προγεστερόνης δεν ξεπερνούν τα 5 ng/ml. Η χωρίς ωχρινική φάση εικόνα των τι-

μών της προγεστερόνης παρατηρείται σε μερικές αγελάδες με κύστη ωοθυλακίου (εικόνες 4,5,6).

Αγελάδες με ακανόνιστους οιστρικούς κύκλους. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι αγελάδες εκείνες που παρουσιάζουν ακανόνιστους οιστρικούς κύκλους μετά τον τοκετό, οι οποίοι εμφανίζονται κατά μεγάλα ή μικρά χρονικά διαστήματα. Η κυριότερη αιτία για τη δημιουργία ακανόνιστων οιστρικών κύκλων είναι η μη εμφανής εκδήλωση των συμπτωμάτων του οίστρου, που οδηγεί στην επιμήκυνση του οιστρικοί κύκλου.

Κατά την ψηλάφηση διαμέσου του απευθυσμένου μπορεί να διαπιστωθεί η παρουσία κύστεων ωοθυλακίου, τόσο στις αγελάδες με μεγάλο οιστρικό κύκλο, όσο και στις αγελάδες με μικρό οιστρικό κύκλο. Ενδέχεται να συνυπάρχει κύστη ωοθυλακίου με περιοδικό ωχρό σωμάτιο. Τέλος, η παρουσία πυομήτρας μπορεί να δημιουργήσει παραμένον ωχρό σωμάτιο, που με τη σειρά του οδηγεί στην επιμήκυνση της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου.

Η εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα των αγελάδων με κυστική εκφύλιση των ωοθηκών είναι ανώμαλη. Οι αγελάδες με πυομήτρα και παραμένον ωχρό σωμάτιο εμφανίζουν εικόνα τιμών προγεστερόνης με επιμηκυσμένη ωχρινική φάση. Η εικόνα αυτή παρατηρείται επίσης και σε μερικές αγελάδες με κύστη ωοθυλακίου ή συνδυασμό πυομήτρας και κύστεων ωοθυλακίου (εικόνες 9,10).

Γενικά στις αγελάδες με κύστεις ωοθυλακίου μπορεί να παρατηρηθούν πέντε τύποι εικόνας (pattern) τιμών προγεστερόνης.

α. Κανονική εικόνα, που παρατηρείται στις αγελάδες στις οποίες συνυπάρχουν κύστεις ωοθυλακίου και ψηλαφητό περιοδικό ωχρό σωμάτιο (εικόνα 3).

β. Κανονική εικόνα τιμών προγεστερόνης με βραχύχρονες ωχρινικές περιόδους (<10 ημέρες), που παρατηρείται σε αγελάδες με βραχύχρονα μεταξύ δύο οίστρων διαστήματα. Στις αγελάδες αυτές τα κανονικά αναπτυσσόμενα περιοδικά ωχρά σωμάτια έχουν βραχύ χρόνο ζωής (εικόνα 7).

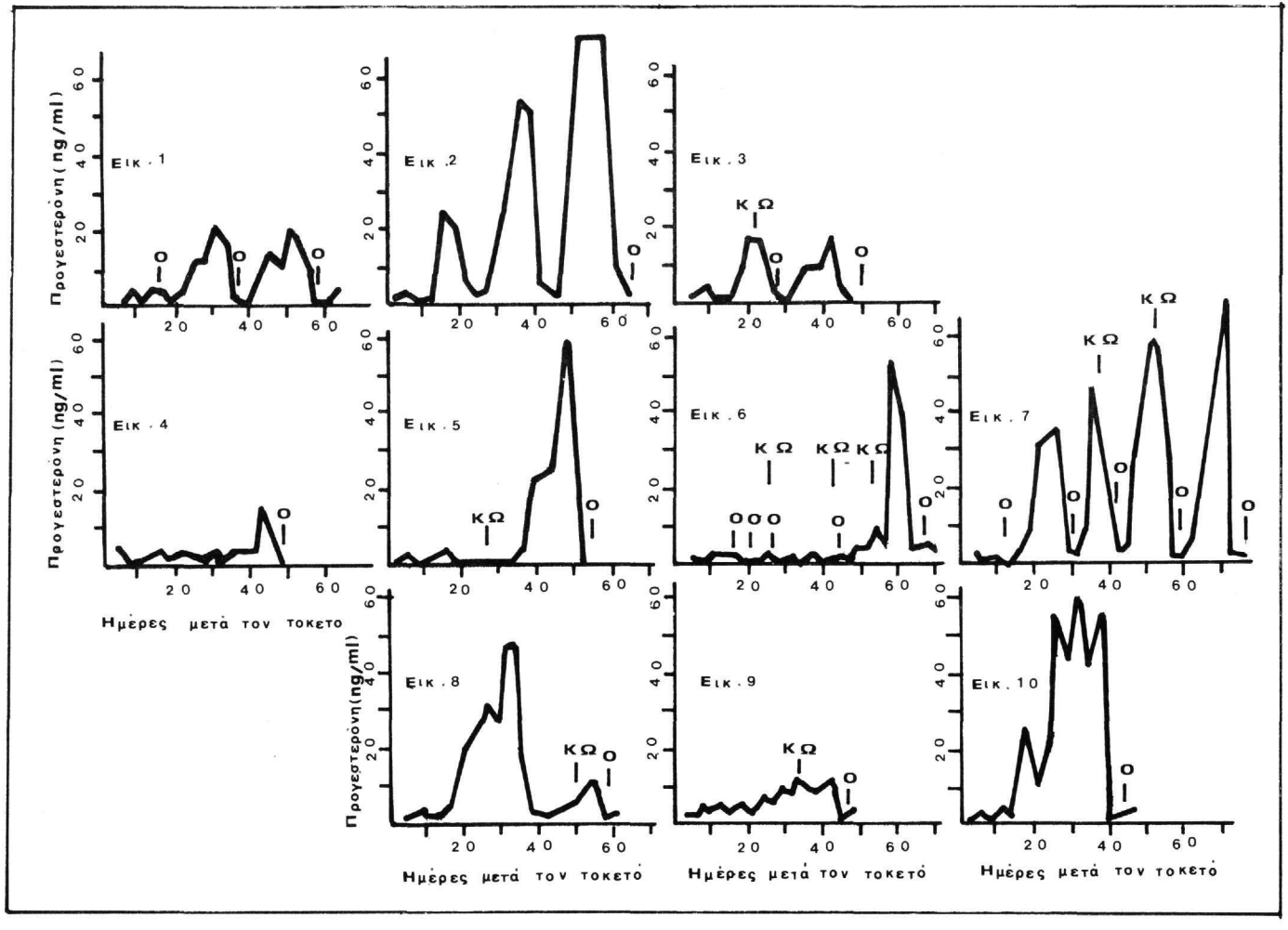
γ. Εικόνα τιμών προγεστερόνης με μακρόχρονες ωχρινικές περιόδους (ωχρινική φάση >15 ημερών), που παρατηρείται σε αγελάδες με κύστη ωοθυλακίου και καθυστερημένη εμφάνιση του πρώτου μετά τον τοκετό οίστρου, καθώς και σε αγελάδες με κύστεις ωοθυλακίου και πυομήτρα. Η ίδια εικόνα παρουσιάζεται επίσης και σε αγελάδες με παραμένον ωχρό σωμάτιο (εικόνες 9,10).

δ. Ακανόνιστη εικόνα τιμών προγεστερόνης, στην οποία μια κανονική ή μακρόχρονη ωχρινική περίοδος ακολουθείται από μια βραχύχρονη ωχρινική περίοδο. Η εικόνα αυτή μπορεί να παρατηρηθεί και σε αγελάδες με κύστη ωοθυλακίου, που εμφανίστηκε μετά από ένα ωοθηκικό κύκλο με κανονική ανάπτυξη περιοδικού ωχρού σωματίου (εικόνα 8).

ε. Εικόνα τιμών προγεστερόνης χωρίς ωχρινική περίοδο (προγεστερόνη 5 ng/ml), που παρατηρείται σε αγελάδες χωρίς εμφανή συμπτώματα οίστρου και/ή σε αγελάδες με συχνή εκδήλωση οίστρων. Η εικόνα αυτή είναι παρόμοια με εκείνη που παρουσιάζουν οι αγελάδες με πραγματικό άνοιστρο ή αδράνεια ωοθηκών (εικόνες 4,5,6).

Γενικά ο υπόοιστρος, δηλαδή ο σιωπηλός οίστρος, είναι η κυριότερη αιτία για την καθυστερημένη εμφάνιση του πρώτου μετά τον τοκετό οίστρου σε αγελάδες με μετέπειτα κανονικούς οίστρους, καθώς και η πιο σπουδαία αιτία για τα μεγάλα μεταξύ δύο οίστρων χρονικά διαστήματα. Η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα φαίνεται να είναι πολύ χρήσιμη για τη διάγνωση του σιωπηλού οίστρου, γιατί παρέχει μια σωστή και αντικειμενική εικόνα της λειτουργίας του περιοδικού ωχρού σωματίου. Αντίθετα, η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα μόνη της δε μπορεί να προσφέρει μια σωστή διάγνωση της ωοθηκικής δυσλειτουργίας, γιατί οι κύστεις ωοθυλακίου μπορούν να δημιουργήσουν πολλούς τύπους εικόνας τιμών προγεστερόνης, που θα μπορούσαν να αποτελέσουν λάθη για άλλες ωοθηκικές δυσλειτουρ-

Σχήμα 1. Εικόνες τιμών προγεστερόνης στο γάλα αγελάδων, μετά τον τοκετό. Ο = οίστρος. ΚΩ = κύστη ωοθυλακίου. Εικ. 1 = κανονικός οίστρος. Εικ. 2 = σιωπηλός οίστρος (υπόοιστρος). Εικ. 3 = κανονικός οίστρος + κύστη ωοθυλακίου. Εικ. 4 = πραγματικός άνοιστρος (αδράνεια ωοθηκών). Εικ. 5 = άνοιστρος + κύστη ωοθυλακίου. Εικ. 6 = συχνοί οίστροι + κύστεις ωοθυλακίου. Εικ. 7 = συχνοί οίστροι + κύστεις ωοθυλακίου. Εικ. 8 = άνοιστρος + κύστη ωοθυλακίου. Εικ. 9 = άνοιστρος + κύστη ωοθυλακίου. Εικ. 10 πυομήτρα.
(Από τους KALIS AND VAN DE WELL (32), ξανασχεδιασμένες καμπύλες).


Εικ. 1
Εικ. 2
Εικ. 3
Εικ. 4
Εικ. 5
Εικ. 6
Εικ. 7
Εικ. 8
Εικ. 9
Εικ. 10
Προγεστερόνη (ng/ml)
Ημέρες μετά τον τοκετό
Κ Ω
Ο

γίες. Από την άλλη πλευρά, η παρουσία μεγάλων κύστεων ωοθυλακίου δημιουργεί δυσκολίες στη διαπίστωση περιοδικού ωχρού σωματίου με ψηλάφηση διαμέσου του απευθυσμένου. Σ' αυτές τις περιπτώσεις η εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες. Τέλος, το κανονικό ποσοστό κυοφοριών (68% με πρώτη σπερματέγχυση), η κανονική εικόνα των τιμών της προγεστερόνης στο γάλα και ψηλάφηση των ωοθηκών σε αγελάδες με σιωπηλό οίστρο, αποκλείουν την πιθανότητα ο υπόοιστρος να είναι ωοθηκικής προέλευσης.

Αγελάδες με πρώϊμους εμβρυϊκούς θανάτους. Στις παραπάνω τρείς κατηγορίες αγελάδων μπορεί να ενταχθεί και μια τέταρτη κατηγορία, που περιλαμβάνει τις αγελάδες εκείνες, στις οποίες επιβεβαιώθηκε η σύλληψη με μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα (8 ng/ml) 21-24 ημέρες μετά την ΤΣ, μεταγενέστερα όμως τα επίπεδα της προγεστερόνης έπεσαν χαμηλά για αρκετές ημέρες (3 ng/ml) (32,39,43).

3. Έλεγχος της αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής αγωγής σε υπογόνιμες αγελάδες.

Μια άλλη δυνατότητα που προσφέρει η μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα είναι ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής αντιμετώπισης των διαφόρων μορφών υπογονιμότητας, που οφείλονται σε ωοθηκική δυσλειτουργία (8,37,48).

Έχει αποδειχτεί ότι το 70% των γαλακτοπαραγωγικών και το 60% των κρεατοπαραγωγικών αγελάδων παρουσιάζει μετά τον τοκετό ένα βραχύ οιστρικό κύκλο με μικρής διάρκειας ωχρινική φάση (διάρκεια 5-10 ημερών, με 5-8ng προγεστερόνης ανά ml γάλακτος), ο ποίος συνεχίζεται με κανονικούς οιστρικούς κύκλους ανά 17-25 ημέρες (36,38).

Η θεραπεία των αγελάδων με καθυστερημένη έναρξη ή διακοπή των ωοθηκικών κύκλων μετά τον τοκετό πρέπει να σχεδιαστεί έτσι, ώστε να αρχίσει ή να μιμηθεί αυτόν τον πρώτο μετά τον τοκετό βραχύ κύκλο της προγεστερόνης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με ενδομυϊκή έγχυση 0,5mg συνθετικής LH-RH (Hoest), είτε με ενδοκολπική τοποθέτηση για 10 ημέρες σπειραμάτων που ελευθερώνουν προγεστερόνη (PRID, Progesterone releasing intravagianal devices, της CEVA). Και οι δύο αυτές θεραπευτικές αγωγές μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία για την αντιμετώπιση αυτού του είδους υπογονιμότητας, γιατί εξασφαλίζουν ικανοποιητική ενδοκρινική ανταπόκριση και μειώνουν σημαντικά, σε σχέση με τους μάρτυρες, όχι μόνον το χρόνο που παρεμβάλλεται μεταξύ του τελευταίου τοκετού και της επόμενης σύλληψης, αλλά και τον αριθμό των σπερματεγχύσεων ανά σύλληψη.

Η θεραπεία των αγελάδων με σιωπηλούς οίστρους ή μεγάλη ωχρινική φάση του ωοθηκικού κύκλου, βασίζεται στην ωχρινολυτική δράση ενός συνθετικού αναλόγου της προσταγλαδίνης F_{2a} (Cloprostenol, της ICI), το οποίο προκαλεί ωχρινόλυση και επιτρέπει τη σπερματέγχυση κατά το εκδηλούμενο οίστρο ή σε προκαθορισμένο χρόνο μετά τη λήξη της θεραπείας. Η θεραπεία αυτή είναι επίσης επιτυχής, γιατί μειώνει σημαντικά το χρονικό διάστημα από τον τελευταίο τοκετό μέχρι τη σύλληψη. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη, όταν η ΤΣ γίνεται κατά τον εμφανιζόμενο οίστρο απ' ό,τι όταν γίνεται σε προκαθορισμένο χρόνο (3η και 4η ημέρα μετά τη λήξη της θεραπείας). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ορισμένες αγελάδες δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία, ενώ σ' άλλες, αμέσως μετά την αναμενόμενη πτώση της προγεστερόνης, ακολουθεί μια μεγάλης διάρκειας φάση ωοθυλακίου, η οποία, όταν συνδυάζεται με ΤΣ σε προκαθορισμένο χρόνο, μπορεί να οδηγήσει σε αποτυχία, λόγω διενέργειας της ΤΣ σε χρόνο άσχετο με την ωοθυλακιορρηξία.

IV. Η ΑΝΑΓΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΕΝΟΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΓΕΛΑΔΩΝ

Η γονιμότητα των αγελάδων είναι ένα συνεχώς αυξανόμενο πρόβλημα. Στην Ομοσπονδιακή Γερμανία, ενώ το 1950 απομακρύνθηκε από τις μονάδες λόγω αγονιμότητας μόνο το 4,3% των αγελάδων, το ποσοστό αυτό αυξήθηκε το 1974 σε 8,2%. Από το σύνολο των αγελάδων που εκτρεφόταν το 1974 απομακρύνθηκε το 32,3% (59), το δε ποσοστό αυτό αυξήθηκε σε 37,4% το 1975 (51). Η τρομακτική οικονομική επίπτωση της αγονιμότητας πάνω στην παραγωγικότητα των αγελάδων επιβάλλει την εφαρμογή ενός προγράμματος ελέγχου της γονιμό-

τητας, χρησιμοποιώντας σαν μέσο ελέγχου τον προσδιορισμό της προγεστερόνης στο γάλα. Η εφαρμογή του προγράμματος αυτού σε μεγάλη κλίμακα θα μπορέσει να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες, που θα βοηθήσουν τους αγελαδοτρόφους, τους κτηνίατρους, τα Κέντρα Τεχνητής Σπερματέγχυσης, τους ερευνητές και τους ειδικούς εφαρμοστές. Κατά την εφαρμογή του προγράμματος αυτού ο προσδιορισμός της προγεστερόνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις ακόλουθες περιπτώσεις:

α) Λήψη δειγμάτων γάλακτος την ημέρα της ΤΣ, για να μπορέσει ο αγελαδοτρόφος να μάθει αν οι αγελάδες τους βρίσκονται πραγματικά σε οίστρο κατά τη στιγμή της ΤΣ.

β) Λήψη δειγμάτων γάλακτος από αγελάδες προβληματικές, για να βοηθηθεί ο κτηνίατρος να κάνει σωστή διάγνωση, χωρίς να είναι υποχρεωμένος να επισκέπτεται τη μονάδα για κάθε αγελάδα χωριστά.

γ) Λήψη δειγμάτων γάλακτος από αγελάδες υπό θεραπεία, για να μπορέσει ο κτηνίατρος να κάνει αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της θεραπευτικής αγωγής που εφάρμοσε και να δώσει σωστές συμβουλές στον αγελαδοτρόφο.

δ) Λήψη δειγμάτων γάλακτος 21-24 ημέρες μετά την ΤΣ, για να γίνει με ακρίβεια μια πρώϊμη διάγνωση «μη κυοφορίας» και να δωθεί ιδιαίτερη προσοχή σ' αυτές τις αγελάδες.

Κάτω από τις συνθήκες που επικρατούν στην πράξη, η συχνότητα συλλογής των δειγμάτων γάλακτος για τη διερεύνηση των μετά τον τοκετό προβληματικών αγελάδων πρέπει να είναι, κατά το δυνατόν, η ελάχιστη. Υπάρχουν τρεις εναλλακτικές εφαρμογές, έχοντας σαν σημείο αναφοράς την ημέρα που διενεργείται η ΤΣ (ημέρα 0):

1) **Μέθοδος του 1 δείγματος.** Το δείγμα γάλακτος μπορεί να συλλεγεί:

α) **Την ημέρα 0.** Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της σωστής παρακολούθησης των οίστρων των αγελάδων και να επιβεβαιωθεί αν κατά την ΤΣ η αγελάδα βρισκόταν σε πραγματικό οίστρο.

β) **Την ημέρα 6.** Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί αν υπάρχει κανονικός ωοθηκικός κύκλος (ωοθυλάκιο - ωοθυλακιορρηξία, ωχρό σωμάτιο), μόνον όμως στις περιπτώσεις εκείνες που ή ανίχνευση των οίστρων γίνεται με ορθό τρόπο και είναι σίγουρο ότι κατά την ημέρα της ΤΣ η αγελάδα βρισκόταν σε οίστρο.

2) **Μέθοδος των 2 δειγμάτων.** Η συλλογή των δειγμάτων γάλακτος γίνεται την ημέρα 0 και την ημέρα 6 μετά την ΤΣ. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για να ελεγχθεί αν η ανίχνευση των οίστρων σε μια μονάδα γίνεται με ορθό τρόπο και αν υπάρχει κανονικός ωοθηκικός κύκλος.

3) **Μέθοδος των 3 δειγμάτων.** Τα δείγματα γάλακτος συλλέγονται την 0 ημέρα, την 6η ημέρα και την 20η ημέρα μετά την ΤΣ. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για να ελεγχθεί αν η ανίχνευση των οίστρων γίνεται με ορθό τρόπο, αν υπάρχει κανονικός ωοθηκικός κύκλος και επιπλέον να ελεγχθεί το αποτέλεσμα της ΤΣ (σύλληψη / μη σύλληψη).

Η ερμηνεία των τιμών που παίρνονται από τη μέτρηση της προγεστερόνης στο γάλα, σε συνδυασμό με τις κλινικές παρατηρήσεις έχει ως εξής:

α) Σε δείγμα γάλακτος που συλλέγεται την 0 ημέρα (ημέρα ΤΣ) από αγελάδες χωρίς κανένα κλινικά εύρημα, χαμηλή τιμή προγεστερόνης (<ng/ml γάλακτος) σημαίνει ότι η ΤΣ έγινε κατά τον οίστρο, ενώ υψηλή τιμή προγεστερόνης (>3ng/ml γάλακτος) σημαίνει το αντίθετο.

β) Κάτω από άριστες συνθήκες ανίχνευσης των οίστρων, η μέτρηση της πογεστερόνης σε δείγμα γάλακτος που συλλέγεται την ημέρα 6 μετά τη ΤΣ από αγελάδα χωρίς κλινικά ευρήματα, μπορεί να εκπληρώσει τον παραπάνω σκοπό. Έτσι, υψηλή τιμή προγεστερόνης (>ng/ml) την 6η ημέρα σημαίνει ότι η ΤΣ έγινε κατά τον οίστρο, ενώ η χαμηλή τιμή (<3ng/ml) σημαίνει το αντίθετο.

γ) Η μέθοδος των 2 – δειγμάτων χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο για τον έλεγχο της κυκλικής λειτουργίας των ωοθηκών, κυρίως σε προβληματικές αγελάδες ή μονάδες. Σε αγελάδες χωρίς ευρήματα από την ψηλάφηση των ωοθηκών και σε αγελάδες με εμφανή συμπτώματα οίστρου, χαμηλό επίπεδο προγεστερόνης (<3ng/ml) την 0 ημέρα και υψηλό επίπεδο την 6η ημέρα (>3ng/ml) σημαίνουν ότι η ανίχνευση του οίστρου έγινε με ορθό τρόπο και ότι ο οίστρος συνοδευόταν με ωοθυλακιορρηξία. Όταν όμως τα παραπάνω επίπεδα δε συνοδεύονται με εμφανή συμπτώματα οίστρου, σημαίνουν την ύπαρξη «σιωπηλού οίστρου». Υψηλά επίπεδα προγεστερόνης την 0 ημέρα και

χαμηλά την 6η ημέρα σημαίνουν ότι η ανίχνευση του οίστρου ήταν λανθασμένη, η ΤΣ, που έγινε σε ακατάλληλο χρόνο, θα είναι ανεπιτυχής και η αγελάδα θα «επιστρέψει» 14-16 ημέρες αργότερα. Σε αγελάδες με ευρήματα από την ψηλάφηση των ωοθηκών, χαμηλά επίπεδα προγεστερόνης την 0 ημέρα, καθώς και την 6η ημέρα σημαίνουν ότι ο «οίστρος» χωρίς ωοθυλακιορρηξία μπορεί να οφείλεται σε κύστεις ωοθυλακίου, που μπορούν να ψηλαφησθούν διαμέσου του απευθυσμένου ή σε άλλες ακυκλικές συνθήκες. Σε τέτοιες περιπτώσεις η μέθοδος των 2 - δειγμάτων μπορεί να δώσει μέσα σε μια εβδομάδα πληροφορίες, για τις οποίες θα χρειαζόταν βοήθεια ειδικού κτηνίατρου Θα πρέπει όμως να τονιστεί ότι γι κλινικούς σκοπούς, ο προσδιορισμός μόνο της προγεστερόνης στο γάλα δεν είναι γενικά μια εφαρμόσιμη μέθοδος για τη διαφοροποίηση των διαφόρων τύπων κύστεων, γιατί υπάρχει λειτουργική δραστηριότητα και σ' άλλα σημεία του ωοθυλακικού ιστού (συνύπαρξη περιοδικού ωχρού σωματίου και κύστεων ωοθυλακίου) (24).

δ) Η μέθοδος των 3 - δειγμάτων (ημέρα 0,6 και 20-24), εκτός των άλλων, μπορεί να δώσει απάντηση γι την κατά προσέγγιση «επιστροφή ή μη επιστροφή» των αγελάδων που υποβλήθηκαν σε ΤΣ.

Τα μέχρι σήμερα αποτελέσματα από την εφαρμογή στην πράξη των διαφόρων σχημάτων προσδιορισμού της προγεστερόνης στο γάλα έδειξαν ότι υπάρχει μια αξιόπιστη αναλυτική μέθοδος, η οποία μπορεί να φέρει σε συνεργασία τους αγελαδοτρόφους, τα Κέντρα Τεχνητής Σπερματέγχυσης και τους κτηνίατρους, προκειμένου να βοηθήσουν στην επίλυση των διαφόρων προβλημάτων αγονιμότητας των αγελάδων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abraham, G, E., Manlimos, F. S. & Garza, R. (1977) Radioimmunoasay of Steroids. In G. E. Abraham (Ed) Handbook of radioimmunoassay. M. Dekker, Inc. (1977) p. 611.

2. Allen, R. M. Redshaw, M. R. & Holdsworth, R. (1980). A comparison of titriated and iodonated tracers in the radioimmunossay of progesterone in cow milk. J. Reprod. Fert. 58, 89-93.

3. Attonaty, J. M., Gastinel, P. L., Jalles, E. & Thibier, M. (1973). Consequences économiques de troubles de la fécondité. Compte - rendue de la journées d' imformation. ITEB.

4. Both, J. M. (1980). Milk progesterone pregnancy testing in cattle and other species. 9th Int. Congr. on Anim. Reprod. & A. I. Madrid / Spain,pp 109-117.

5. Boyd, L. J. (1970). Managing dairy cattle for fertility. J. Dairy Sci. 53, 969-972.

6. Boyd, H. & Muaro, C. D. (1979). Progesterone assays and rectal palpation in preservice management of a diary herd. Vet. Rec. 104, 341-343.

7. Bulman, D. C. & Lamming, G. E. (1978). Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in diary cows. J. Reprod. Fert. 54, 447-458.

8. Bulman, D.C., McKibbin, P.E., Appleyard, W. T., & Lamming, G. E. (1978). Effect of progesterone - releasing intravaginal device on the milk progesterone levels, vaginal flora, milk yield and fertility of cyclic and non - cyclic dairy cows. J. Reprod. Fert. 55,289-296.

9. Claus, R., Rattenberger, E. (1979). Improved method for progesterone determination in milk fat. Brit. Vet. J., 135,448-453.

10. Cox, N. M. M., Thompson, F. N. & Culver, D. H. (1978). Milk progesterone to predict reproductive status in a commercial dairy herd. J. Dairy Sci., 61, 1616-1621.

11. Deas, D. W. (1970). The timing of inseminations. Vet. Rec., 87, 450-451.

12. De Kruif, A. (1975). Fertiliteit en subfertiliteit bij het vrouwelijk rund. Thesis, Utrecht.

13. De Kruif. A. (1977). Ein onderzoek van runderen in anoestrus. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 102, 247-263.

14. De Kruif. A. (1980). Efficiency of a fertility control programme in dairy herds. 9th Int. Cong. on Anim. Reprod. & A. I. , Madrid/Spain, p.p. 381-388.

15. Dobson, H., Rankin, J. E. F., & Ward, W.

A. (1977). Bovine cystic ovarian disease plasma. Hormone concentrations and treatment. Vet. Rec., 101, 459-461.

16. Elsaesser, F., Ellendorff, F. & Schmidt, D. (1979). Die milchprogesteronebestiimmung als mittel zur objectivierung des Fruchtbarkeitstatus von Milch Kuhherden in der post - partum phase. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 86, 53-54.

17. Esslemont, R. J. & Ellis, P. R. (1974). Components of a herd calving interval. Vet.Rec. 95, 319-320.

18. Esslemont, R. J. & Ellis, P. R. (1975). The Melbred dairy herd health recording scheme. A report on the economic reproductive and hunsbandry changes in 22 herds over three seasons. University of Reading. Department of Agriculture. Study No 21.

19. Foote, R. H. (1979). Hormones in milk that may reflect reproductive changes. In Animal Reproduction, H. W. Hawk ed. Allanheld, Osmun and Co., Montclair, New Jersey.

20. Foote, R. H. Smith, R. D., Oltenacu, E. A. B., Rraun, R. K. & Reimers, T. J. (1980). Milk progesterone assays as a part of a reproductive management progarm for dairy cattle. 9th Inter. Congr. on Animal Reproduction and A. I., Madrid. 16-20 June 1980. p.p. 135-141.

21. Ginther, O. J., Nuti, L., Wentworth, B. C. & Tyler, W. J. (1974). Progesterone concentraction in milk and blood during pregnancy in cows. Proc. Sc. Exp. Biol. Med. 146, 354-357.

22. Ginther, O, J., Nuti, L. C., Garcia, M. C., Wentworth, B. C. & Tyler, W. J. (1976). Factors affecting progesterone concentration in cows' milk and dairy product. J. Anim. Sci., 42, 155-159.

23. Günzler, O., Korndörfer, L., Lohoff, H. Hamburger, R. & Hoffaman, B. (1975). Praktische Erfahrung mit der Progesternbestimmung in der Milch zur Erfassung des Fertilitäts - zustandes bei der Kugh Tierärztl. Umschau, 30, 111-118.

24. Günzler, O., Rattenberger, E., Gürlach, A., Hahn, R., Hocke, P., Claus, R. & Karg, H. (1979). Milk progesterone determintation as appleid to the confirmation of oestrus, the detection of cycling and as an aid to veterinarian and biotechnical measures in cows. Brit. Vet. J. 135.

25. Heap, R. B., Gwyn, M., Laing J. A. & Walters, D. E. (1973). Pregnancy diagnosis in cows. Changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. J. Agric. (Cambridge) 81, 151-157.

26. Heap, R. B., Holdsworth, R. J., Gadsby, J. E. Laing, J. A. & Walters, D. D. (1976). Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentration. Brit. vet. J., 132, 445-464.

27. Hoffmann, B. (1971). Embryonaler Fruchttod bei einer Kuh im Anschluss an eine Nachbesamnachgewissen mit Hilfe der Progesteronbestimmung in Blut. Zuchthyg. 6, 134-138.

28. Hoffmann, B, & Gamburger, R. (1973). Progesterone in der Milch: Radioimmunologische bestimmung Beziehungen zur Gelbörprfunction und Milchfettkonzentration. Zuchthyg. 8, 154-162.

29. Hoffmann, B., Hamburgerm R., Günzler, O. Korndörfer, L. & Lohoff, H. (1974). Determination of progesterone in milk applied for pregnancy diagnosis in the cow. Theriogenology, 2, 21-28.

30. Hoffmann, B., Günzler, O., Hamburger, R. & Schidt, W. (1976). Milk progesterone as a parameter for fertility control in cattle; methodological approches and present status of application in Germany. Brit. Vet. J. 132, 469-476.

31. Hoffmann, B., Hamburger, R. & Hollwichm, W. (1977). Betimmung von Progesteron direkt in Milchfett als verbessertes Verfahren zur Fertilitätskontolle bei der Kuh. Zuchthyg., 12, 1-7.

32. Humblot, P. Dalla Porta, M. M. & Schwartz, J. L. (1982). Étude de la mortalité embryonnaire. Elevage et Insemination, 189, 15-28.

33. Kalis, C.H.J. & Van de Weil, D.F.M. (1980). Relationship of clinical examinations to milk progesterone profiles. 9th Int. Congr. on Anim. Reprod. & A.I., Madrid/Spain, pp 125-134.

34. Laing, J. A. & Heap, R. B. (1971). The concentration of progesterone in the milk of cows during the reproductive cycle. Brit. Vet. J., 127, XIX-XXII.

35. Laing, J. A., Eastman, S. A. K. & Boutflower, J. C. (1979). The use of progesterone concentrations in milk and plasma for pregnancy diagnosis in cattle. Brit. Vet. J., 135, 204-209.

36. Lamming, G. E. (1976). Reproduction during lactation. In Control of Ovulation, pp 335-353. Eds. D. B. Crighton, N. B. Haynes, G. R., Foxcroft & G. E. Lamming. Butterworths, London.

37. Lamming, G. E. & Bulman, D. C. (1976). The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. Brit. Vet. J., 132, 507-517.

38. Lamming, G. E., Foster, J. P. & Bulman, D. C. (1979). Pharmacological control of reproduction cycles. Vet. Rec., 104, 156-160.

39. Linares, R. (1981). Embryonic development in repeat - breeders and virgin heifers 7 days after A. I., Anim. Reprod. Sci., 4, 189-198.

40. Louca, A. & Legatis. J. E. (1968). Production losses in cattle due to days open. J. Dairy Sci., 51, 573-583.

41. McCracken J. A. (1964). Distribution of progesterone in body fluids and tissues of the dairy cow. Ph. D. thesis. University of Glasgow.

43. O' Farrel, K. J., Langley, O. H., Hartigan, P. J. & Sreenan, J. M. (1983). Fertilization and embryonic survival rates in dairy cows culled as repeat - breeders. Vet. Rec., 122, 95-97.

44. Pelissier, C. L. (1972). Herd breeding problems and their consequences. J. Dairy. Sci. 55, 385-391.

45. Pelissier, C. L. (1976). Dairy cattle breeding problems and their consquences. Theriogenology, 6, 574-583.

46. Pennigton, J. A. Spahr, S. L. & Lodge, J. T. (1976a). Pregnancy diagnosis in dairy cattle by progesterone concentration in milk. J. Dairy Sci., 59, 1528-1531.

47. Pennington. J. A., Spahr, S. L. & Lodge, J. T. (1976b). Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. Brit. Vet. J., 132, 487-496.

48. Peters, A. R., Riley, G. M. & Lamming, G. E. (1980). Milk progesterone profiles and oestrus activity in post partum beef cows. 9th Intern. Cong. on Anim. Reprod. & A. I., Madrid (Spain).

49. Pope, G. S., Majzlik, I., Ball, P. J. H. & Leaver, J. D. (1976). Use of progesterone concetrations in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle. Brit. Vet. J., 132, 497-506.

50. Schiaco, J. J., Matuszczak, R. L., Oltenaeu, E. B. & Foote, R. H. (1975). Milk progesterone in post partum and pregnant cows as a monitor of reproductive status. J. Dairy Sci., 58, 1713-1716.

51. Schuman, H. (1975). Bestandsaufnahme und Kritische Betrachtungen zur Fruchtbarkeits - situation der bayrischen Kuberstände. Seminar f tier. Prod. TU Weihenstephan am 16-10.

52. Shemesh, M., Ayalon, N. & Lindner. H.R. (1968). Early effect of conceptus on plasma progesterone levels in the cow. J. Reprod. Fert., 15, 161-164.

53. Shemesh, M. Ayalon, E., Shalev, E., Nerya, A., Schnindler, H. & Milguir, F. (1978). Milk progesterone measurment in dairy cows: Correlation with estrus and pregnancy determination. Theriogenology, 9, 343-352.

54. Stupnicki, R. & Kula, E. (1981). Direct radioimmunoassay of progesterone in milk and plasma by using ^{125} I - labelled derivative. In application of Radioimmunoassay and Related Methods in Animal Science. Warsaw. Ed. R. Stupnicki.

55. Thimberger, G. H. & Davis, G. K. (1943). The relationship between time of imsemination and breeding efficiency in dairy cattle. Res. Bull. Neb. Agric. Exp. Stn., No 129.

56. Thibier, M. (1974). La progestérone dans le lait de vache. Diagnostic précoce de gestation. Elevage et Insé mination, 144, 27-32.

57. Thibier, M., Petit, M. & Humbolt, P. (1977). Use progesterone concentrotions in peripheral plasma or milk in cattle herd manegement. Control of Reproduction in the cow. J.R. Sheeman (ed), vol. I,pp 576-595.

58. Van De Wiel, D.F.M., Van Eldik, J., Koops, W., Postman A & Oldenbroek, J.K. (1978). Fertility control in cattle by use of the milk «progesterone test». Tijidschr. Diergeneesk, 103, 91-103.

59. Zeddies, J. (1976). Der wirtschaftliche wert der Fruchtbarkeit. 6. Hülsenberger Gespräche Verlagsges, f. tierzücht. Nachrichten mbH 2000 Hamburg 54, 12-33.

60. Zikken, A. (1978). Enkele klinische en biochimische aspecten van het puerperium van het rund. Thesis, Utrecht.