

Porównanie skuteczności wybranych metod wczesnego rozpoznawania ciąży u suk

MICHAŁ DZIĘCIOŁ, ROLAND KOZDROWSKI, JAN TWARDOŃ,
GRZEGORZ JAKUB DEJNEKA

Katedra i Klinika Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy oraz Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,
pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Dzięcioł M., Kozdrowski R., Twardoń J., Dejneka G. J.

Comparison of the efficacy of particular methods of early pregnancy detection in bitches

Summary

The aim of the study was to compare the efficacy of a variety of methods of early pregnancy detection in bitches. 32 bitches were examined by Draminski Ultrasonic Pregnancy Detector (Dramiński®, probe 2.5 MHz), ultrasonography (Echason®, probe: 3.5 MHz, 5 MHz, 7.5 MHz) and by the Witness Relaxin Test (Synbiotics®) which measures relaxin levels in plasma or serum samples. Blood samples from the bitches were collected with the anticoagulant. The first examination took place between 23 and 25 day post-mating. The second, control examination, took place 30 days post-mating. The results of the examinations were compared with personal information obtained from the breeder relating to whether or not parturition had occurred. The results confirmed that ultrasonograph is the best method for early pregnancy detection in bitches. The Draminski Pregnancy Detector (locating amniotic fluid in the uterus) was also found to be very useful. Witness Relaxin Test should not to be used for early pregnancy detection in bitches, because its lack of efficacy at this time.

Keywords: bitch, pregnancy, detection

Wczesne rozpoznanie ciąży jest niezwykle istotnym i pożądanym elementem planowanego rozrodu u wszystkich gatunków zwierząt. W przypadku zwierząt gospodarskich ma to znaczenie ze względu na proces produkcyjny, jak również ze względu na koszty wynikające z przedłużającego się okresu międzyciążowego. U suk, które są samicami sezonowo monoestralnymi, ciąża lub jej brak nie wpływa na okres wystąpienia kolejnego cyklu (10). Niemniej również u tego gatunku zwierząt informacja o tym, czy suka jest ciężarna, czy też nie, może mieć istotne znaczenie dla hodowcy. Wiedza na temat obecności ciąży lub jej braku jest niezbędna do prawidłowej opieki nad suką w okresie metoestrus (21). Związane jest to, między innymi, z różnymi potrzebami żywieniowymi (17). Obecność ciąży może również wpływać na sposób użytkowania suk w przypadku psów pracujących, a ponadto wyklucza lub ogranicza możliwość stosowania określonych leków (np. glikokortykosterydy) oraz może mieć również wpływ na program szczepienia i odrobaczania samicy.

Kolejnym, niezwykle istotnym elementem związanym z rozpoznawaniem ciąży u suk jest diagnostyka ciąży u samic pokrytych przypadkowo lub jedynie podejrzewanych o to, że takie zdarzenie mogło mieć miejsce. W tym przypadku istotne wydaje się jak naj-

szybsze postawienie diagnozy, tak aby mieć czas na podjęcie odpowiednich kroków w celu bezpiecznego dla suk usunięcia kłopotliwej ciąży (14, 21).

Ciąża u samic z gatunku *Canis familiaris* trwa średnio 62-65 dni (57-72 dni) (3, 6, 7, 9, 10, 22, 24, 27). Do zapłodnienia dochodzi w górnej części jajowodu, po czym zarodki w stadium moruli schodzą do macicy, co ma miejsce ok. 9 dni po owulacji. Do zagnieżdżenia zarodków dochodzi pomiędzy 17. a 21. dniem od owulacji (6, 13). Przed tym okresem pływają one swobodnie, przemieszczając się w obrębie obu rogów macicy (13, 24).

Rutynowo pierwsze badanie w kierunku ciąży przeprowadza się ok. 28.-30. dnia ciąży (15, 25, 26). W badaniu klinicznym, podczas omacywania wyczuwalne powinny być wtedy ampułowato rozszerzone rogi macicy. Między 30.-35. dniem ampuły te zbliżają się do siebie, powodując zmianę kształtu macicy na rurowaty. Badanie palpacyjne w tym okresie niesie ze sobą niebezpieczeństwo pomylenia ciąży z ropomaciczem i z tego względu w tym czasie nie jest zalecane (1, 13).

U suk nie stwierdzono produkcji specyficznej gonadotropiny ciąży, takiej, jak hCG u kobiet lub eCG u kłaczy. Ze względu na podobny profil hormonalny, niemożliwe jest również wykorzystanie pomiaru pro-

gesteronu do diagnozowania ciąży (21, 26). Jako markerów ciąży próbowano używać takich substancji, jak: estrogeny, FSH, peptyd-C czy też białek ostrej fazy i cytokin (4, 5, 8, 12, 20, 28, 31). Praktyczne zastosowanie w postaci komercyjnych testów dostępnych na rynku znalazło jednak oznaczanie poziomu relaksyny we krwi suk (2). Relaksyna produkowana przez łożysko może być wykrywana szybkim i łatwym do wykonaniu testem od 21. dnia po owulacji (18, 19).

Celem badań było określenie przydatności wybranych metod do wczesnego rozpoznawania ciąży u suk.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na 32 sukach różnych ras. W toku badań samice poddawane były badaniom w kierunku ciąży przy zastosowaniu następujących metod: wywiad i badanie kliniczne (ogłądanie, omacywanie), badanie elektronicznym wykrywaczem wód płodowych firmy Dramiński (n = 30), badanie USG (n = 30) oraz test na obecność relaksyny we krwi suki (n = 15) (Witness Relaxin Test firmy Synbiotics).

Po raz pierwszy suki poddawane były badaniu pomiędzy 23. a 25. dniem po kryciu. Ze względu na to, że celem badań było porównanie skuteczności poszczególnych metod do diagnozowania wczesnej ciąży zarówno u suk krytych celowo, jak i suk pokrytych przypadkowo, za początek ciąży uznawano moment krycia. Wynik badania określano jako dodatni (stwierdzenie ciąży) lub ujemny (wykluczenie ciąży). Weryfikację wyników uzyskiwano przez kolejne badanie USG wykonywane po 30. dniu i/lub ustną informację właściciela o wystąpieniu lub braku porodu w odpowiednim czasie.

Badanie ultradźwiękowym detektorem wód płodowych (UDWP) oraz USG przeprowadzano poprzez powłoki brzuszne na zwierzęciu leżącym (USG) i/lub stojącym (UDWP), przy użyciu następujących typów głowic: 2,5 MHz (UDWP Dramiński), 5-7,5 MHz USG Echoson. W przypadku badania USG kryterium ciąży stanowiło stwierdzenie obecności pęcherza płodowego w macicy badanej samicy. W badaniu przeprowadzanym przy pomocy detektora wód płodowych w pierwszej kolejności ustalano położenie pęcherza moczowego. Następnie głowica aparatu kierowana była w obu kierunkach w bok od pęcherza. Obecność płynu w pęcherzu lub w macicy sygnalizowana była przez aparat sygnałem dźwiękowym oraz sygnałem świetlnym.

Witness Relaxin Test umożliwia wykrycie obecności relaksyny zarówno we krwi pełnej, jak i w surowicy. Ze względu na praktyczny wymiar doświadczenia w toku badań zdecydowano o wykonywaniu pomiarów z krwi pełnej pobranej do probówki z antykoagulantem, co umożliwiło uzyskanie wyniku w ciągu 10 minut.

Należy zaznaczyć, iż skuteczność badania ultrasonograficznego we wczesnym rozpoznawaniu ciąży była tematem wielu badań, została wielokrotnie pozytywnie zweryfikowana i znajduje zastosowanie w codziennej praktyce lekarza weterynarii (10, 11, 14, 15, 20, 21, 24). W niniejszych badaniach ultrasonografia stanowiła więc odnośnik, do którego porównywane były pozostałe metody.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Wykonano badanie korelacji przy pomocy testu r Spearmana, przy poziomie istotności statystycznej $p < 0,01$. Badano korelację pomiędzy wynikiem pierwszego badania oraz faktem odnotowania porodu u badanych suk.

Wyniki i omówienie

Tabela 1 przedstawia rezultaty badania suk w kierunku ciąży przy pomocy UDWP, USG oraz testu Witness Relaxin.

Tab. 1. Rezultaty badania suk w kierunku ciąży przy pomocy UDWP, USG i testu Witness Relaxin

Metoda badania	Ilość zwierząt	Ilość trafnych diagnoz w pierwszym badaniu pomiędzy 23. a 25. dniem po kryciu	Współczynniki korelacji (test r. Spearmana)
UDWP	n = 30	n = 25	r = 0,65, p < 0,01
USG	n = 30	n = 28	r = 0,84, p < 0,01
Witness Relaxin Test	n = 15	n = 10	n.s.

Objaśnienia: r – współczynnik korelacji przy $p < 0,01$; n.s. – nie stwierdzono korelacji

Uzyskane rezultaty wykazały, iż spośród badanych metod wczesnego rozpoznawania ciąży u suk zdecydowanie największą skutecznością charakteryzowała się metoda badania ultrasonograficznego ($r = 0,84$ przy $p < 0,01$). Badanie przy pomocy UDWP obarczone było nieco większym błędem (mniejszy współczynnik korelacji $r = 0,65$ przy $p < 0,01$), zaś zastosowanie do wczesnego rozpoznawania ciąży testu Witness Relaxin okazało się nieprzydatne ze względu na niewystarczającą trafność diagnozy.

Porównując skuteczność poszczególnych metod warto podkreślić korzyści lub niedostatki płynące z ich stosowania. Badanie ultrasonograficzne oprócz dużej trafności pozwala na wizualizację płodów, a przez to umożliwia ocenę ich żywotności, zdrowotności (przy odpowiednim doświadczeniu badającego) oraz w pewnym zakresie może również informować o ich liczbie, a nawet przewidywać termin spodziewanego porodu (11, 14, 21, 22). Oprócz tego USG pozwala na wykonanie diagnozy różnicowej pomiędzy ciążą a ropomaciczem. Niebezpieczeństwo pomylenia tych dwóch stanów występuje natomiast przy stosowaniu UDWP. UDWP ze względu na swoją specyfikę działania (wykrywanie obecności płynu owodniowego) jest polecany do rozpoznawania ciąży wczesnej (od trzeciego tygodnia, najlepiej 25.-28. dzień), co wynika z faktu, iż w tym okresie ciąży stosunek znajdujących się w macicy wód płodowych do wielkości ciała płodu jest najbardziej korzystny.

Podsumowując wyniki dotyczące oceny skuteczności aparatu Dramiński UDWP należy wspomnieć, iż na trafność diagnozy wpływa kilka istotnych elementów. Jednym z nich jest doświadczenie badającego w ob-

śludze aparatu. Drugi element to wypełnienie przewodu pokarmowego (żołądka) oraz pęcherza moczowego, które mogą być przyczyną fałszywie dodatnich wyników (26). Z kolei wypełnione dużą ilością treści pokarmowej jelita mogą być przyczyną fałszywie ujemnych wyników zarówno w badaniu UDWP, jak i przy zastosowaniu ultrasonografu (15). W takiej sytuacji właściwym wydaje się ponowne przebadanie pacjenta po okresie kilkunastogodzinnej głodówki. Stosunkowo duże prawdopodobieństwo popełnienia błędu występuje przy mało licznej ciąży, a szczególnie przy ciąży pojedynczej (11, 15, 26).

W celu omówienia wyników dotyczących testu Witness Relaxin należy odwołać się do specyfiki cyklu płciowego suki oraz do mechanizmów, jakim podlega rozwój wczesnej ciąży.

Komórka jajowa u suki w momencie owulacji nie jest gotowa do zapłodnienia. Tę gotowość osiąga dopiero po ok. 48 h od owulacji. Czas, w którym może być skutecznie zapłodniona obejmuje okres ok. 2 dni (10, 13). Jednak plemniki utrzymują zdolność do zapłodnienia komórki jajowej od 2 do 4, a nawet 7 dni. W związku z tym u suki można wyróżnić dwa okresy: okres płodny i okres zapłodnieniowy. Pierwszy z nich to okres, w trakcie którego suka może być skutecznie pokryta. W nim zawiera się okres zapłodnieniowy, to znaczy czas, kiedy w drogach rodnych znajduje się komórka jajowa gotowa do zapłodnienia (5, 10, 13). Pomimo tego, że stwierdzenie relaksyny możliwe jest już po osiemnastu dniach od wylewu LH, w praktyce producent w ulotce dołączonej do testu zaleca wykonywanie testu od czwartego tygodnia trwania ciąży (22-29 dni po owulacji). Pokrycie suki na początku okresu płodnego powoduje, iż podawany przez właściciela suki czas trwania ciąży jest w rzeczywistości znacznie dłuższy od rzeczywistego. To z kolei może być przyczyną wykonania testu w kierunku ciąży przed okresem, kiedy relaksyna może osiągnąć wykrywalne stężenie. Fakt ten jest najprawdopodobniej przyczyną stosunkowo małej skuteczności testu relaksynowego. Należy jednak podkreślić, iż niezadowolające rezultaty testu Witness Relaxin dotyczą diagnozy wczesnej ciąży. W przypadku ujemnego wyniku badania, wykonanego w tym okresie, wskazane jest powtórzenie badania po jednym tygodniu (20). Biorąc jednak pod uwagę wysokie koszty zakupu testu i wspomnianą ewentualną konieczność wykonywania go dwukrotnie, wydaje się, iż stosowanie tej metody do wykrywania ciąży u suk przed 30. dniem nie jest godne polecenia.

Piśmiennictwo

1. Boryczko Z., Katkiewicz M., Bostedt H., Gajewski Z.: Etiopatogeneza, objawy, diagnostyka i leczenie pyometry u suk. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 256-260.
2. Bunck C., Froin H., Gunzel-Apel A. R.: Experience with commercial relaxin assay for pregnancy diagnosis in the dog. *Kleinterpraxis* 2002, 47, 5-10.
3. Christiansen I. J.: *Reproduction in Dog and Cat.* Bailliere Tindal, London 1984.
4. Concannon P. W., Gimpel T., Newton L., Castracane D.: Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1996, 57, 1382-1385.

5. Concannon P. W., McCann J. P., Temple M.: Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 39, 1989, 3-25.
6. Concannon P. W., Powers M. E., Holden W., Hansel W.: Pregnancy and parturition in the bitch. *Biol. Reprod.* 1977, 16, 517-526.
7. Concannon P. W., Whaley S., Lein D., Wissler R.: Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile of sperm. *Amer. J. Vet. Res.* 1983, 44, 1819-1821.
8. Eckersall P. D., Harwey M. J. A., Ferguson J. M., Renton J. P., Nickson D. A., Boyd J. S.: Acute-phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *J. Reprod. Fert.* 1993, 47, 159-164.
9. Eilt B. E., Davidson A. P., Hosgood G., Paccamonti D. L., Baker D. G.: Factors affecting gestation duration in the bitch. *Theriogenology* 2005, 64, 242-251.
10. England G. C. W.: *Rozród i położnictwo psów według Allena.* SIMA WLW, Warszawa 1998.
11. England G. C. W., Allen W. E., Porter D. J.: Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: diagnosis of early pregnancy and number of conceptuses. *J. Small Anim. Pract.* 1990, 31, 321-323.
12. Evans J. M., Anderton D. J.: Pregnancy diagnosis in the bitch: the development of a test based on the measurement of acute phase proteins in the blood. *Annls Zootech.* 1992, 41, 397-405.
13. Feldman E. C., Nelson R. W.: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.* Saunders W. B. Comp., Philadelphia 1996.
14. Janowski T., Domosławska A., Zduńczyk S.: Blokery receptorów progesteronu (antygestageny) oraz ich zastosowanie w rozrodcie małych zwierząt. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 1064-1067.
15. Jaśkowski J. M.: Diagnostyka ultrasonograficzna w fizjologii i patologii rozrodu. Część I. Suki i kotki. *Życie wet.* 1993, 68, 60-62.
16. Jurka J., Gruk-Jurka A.: Ultrasonograficzne rozpoznawanie ciąży u suk. *Mag. Wet.* 1994, 3, 51-52.
17. Klimentowska I.: Wybrane zagadnienia z pediatrii psów. Część I. Ciąża i okres okołoporodowy. *Mag. Wet.* 1995, 3, 402-404.
18. Klönisch T., Hombach-Klönisch S., Froehlich C., Kauffold J., Steger K., Steinetz B. G., Fischer B.: Canine preprolaxin: nucleic acid sequence and localization within the canine placenta. *Biol. Reprod.* 1999, 60, 551-557.
19. Klönisch T., Kauffold J., Steger K., Bergman M., Leiser R., Fischer B., Hombach-Klönisch S.: Canine relaxin-like factor: unique molecular structure and differential expression within reproductive tissue of the dog. *Biol. Reprod.* 2001, 64, 442-450.
20. Kuniyuki A. H., Hughes M. J.: Pregnancy diagnosis by biochemical assay. *Prob. Vet. Med.* 1992, 4, 505-530.
21. Kustritz M. V. R.: Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. *Theriogenology* 2005, 64, 755-765.
22. Kutzler M. A., Yeager A. E., Mohammed H. O., Meyers-Walle V. N.: Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. *Theriogenology* 2003, 60, 1309-1327.
23. Luvoni G. C., Grioni A.: Determination of gestation age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. *J. Small Anim. Pract.* 2000, 41, 292-294.
24. Niżański W.: *Fizjologia ciąży u suk, [w:] Dubiel A.: Rozród psów.* Wyd. AR Wrocław 2000, 237-250.
25. Niżański W., Dejneka G. J.: Rozpoznawanie ciąży u suk. Cz. I. Ocena kliniczna i rentgenowska. *Medycyna Wet.* 1996, 52, 210-214.
26. Niżański W., Dejneka G. J.: Rozpoznawanie ciąży u suk. Cz. II. Zastosowanie ultradźwięków i testów laboratoryjnych. *Medycyna Wet.* 1996, 52, 280-285.
27. Niżański W., Dejneka G. J.: *Fizjologia porodu u suk, [w:] Dubiel A.: Rozród psów.* Wyd. AR Wrocław 2000, 319-335.
28. Schafer-Somi S.: Cytokines during early pregnancy of mammals: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 2003, 75, 73-94.
29. Steinetz B. G., Goldsmith L. T., Hasan S. H., Lust G.: Diurnal variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, or estradiol-17 beta in the pregnant bitch. *Endocrinology* 1990, 127, 1057-1063.
30. Steinetz B. G., Goldsmith L. T., Harvey H. J., Lust G.: Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: detection of relaxin as marker of pregnancy. *Am. J. Vet. Res.* 1989, 50, 68-71.
31. Vannucchi C. I., Mirandola R. M., Oliveira C. M.: Acute-phase protein profile during gestation and diestrus: proposal for an early pregnancy test in bitches. *Anim. Reprod. Sci.* 2002, 74, 87-99.