

Ранняя диагностика стельности коров голштинской породы с помощью иммуноферментного анализа на основе белков, ассоциированных со стельностью

А. А. Жерносенко, канд. ветеринар. наук, доцент кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства, Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина; **А. В. Машнин**, канд. ветеринар. наук, региональный представитель компании ООО "ЗИП-И" по Уралу, Сибири и Дальнему Востоку; **К. И. Петров**, аспирант кафедры диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства, Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина; **В. В. Гудков**, главный ветеринарный врач СПК «Пушкинское», Омская область; **А. В. Плахотин**, управляющий молочным комплексом ООО «ЗапСибХлеб Исеть», Тюменская область; **Ф. А. Федоров**, главный ветеринарный врач ООО «ЗапСибХлеб-Исеть», Тюменская область; **А. В. Оленьков**, главный ветеринарный врач АО «Эвика-Агро», Тюменская область; **С. А. Оржеховская**, главный ветеринарный врач ООО «Приисетье», Тюменская область

Для ранней диагностики стельности коров голштинофризской породы использовали метод иммуноферментного анализа фирмы IDEXX, основанный на обнаружении белков, ассоциированных со стельностью. Использование данного теста позволяет достоверно диагностировать беременность на 20-28-й день после осеменения коров.

Ключевые слова: стельность, крупный рогатый скот, кровь, иммуноферментный анализ, IDEXX Visual Pregnancy, прогестерон, прессинг, овсинг, белки, ассоциированные со стельностью.



В современном животноводстве остро стоит проблема воспроизводства молочного стада коров. Это обусловлено многими факторами, в частности ранней выбраковкой животных по причинам низкой молочной продуктивности, гинекологическим болезням, болезням дистального отдела конечностей, а также заболеваниям молочной железы.

В настоящее время самыми быстрыми и достоверными из лабораторных способов диагностики беременности КРС являются методы иммуноферментного анализа (ИФА). Тесты на их основе позволяют определять маркеры стельности, такие как видонеспецифический гормон прогестерон или гликопротеины, ассоциированных с беременностью, в молоке и/или сыворотке крови уже на 28 сутки после осеменения. [1, 2].

В мировой практике существует большой выбор тест-систем ИФА, как для количественного, так и для полуколичественного определения прогестерона в лабораторных условиях, а также их более простые варианты для использования непосредственно в хозяйствах [3].

Однако существуют определенные проблемы в получении адекватного результата, сопоставимого с реальным физиологическим состоянием осемененной коровы, при использовании наборов ИФА на основе прогестерона. Причиной тому является нарушение функционального состояния яичников КРС различной этиологии [4, 5], вариации в уровнях прогестерона, а так же

использование программ стимуляции животных с применением прогестеронсодержащих препаратов.

В связи с этим применение прогестеронового теста ИФА для ранней диагностики стельности требует неоднократного тестирования животного для получения относительно достоверного диагноза [6].

Известны другие различные методы определения стельности, в том числе ректальный, УЗИ-диагностика, гормональный (по концентрации прогестерона, эстрон-сульфата, хорионического гонадотропина) и др., каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки [7].

Новым направлением в ранней диагностике стельности коров методом ИФА является использование тестов, определяющих в качестве маркера гликопротеины, ассоциированные со стельностью. Данные белки начинают продуцироваться с первого дня формирования ранней плаценты, производятся ею в течение всего периода стельности и в лабораторных исследованиях позволяют исключать получение ложноположительных и/или ложноотрицательных результатов [8, 9].

Различные разновидности тестов ИФА, на основе белков ассоциированных со стельностью, в ряде зарубежных стран конкурируют с наиболее распространенным методом диагностики стельности - ректальным методом, который позволяет установить наличие плода достаточно точно лишь только через 2 - 3 месяца после осеменения. Раньше этого времени стельность достаточно точно может установить только опытный ветеринарный врач. Следует отметить, что ректальный метод диагностики не является безопасным, и может служить механизмом переноса инфекционных заболеваний от коровы к корове [10, 11].

Более того, наборы ИФА на основе белков стельности производства IDEXX, серии Pregnancy Test, становятся альтернативой и/или хорошим дополнением метода ранней диагностики стельности с помощью аппарата ультразвукового исследования (УЗИ), т. к. позволяют точно выявлять стельных коров уже на 28 сут. после осеменения с достоверностью получаемых результатов 99,5 % [12].

Однако, оценивая реальное положение дел в скотоводческих хозяйствах России с различной производственной интенсивностью, становится очевидным, что далеко не каждое хозяйство может позволить покупку достаточно дорогого аппарата УЗИ.

Цель исследования. Изучить эффективность применения набора ИФА - IDEXX Visual Pregnancy Test при ранней диагностики стельности коров на 20 и 35 сут. после осеменения.

Материалы и методы исследования. Для ранней диагностики стельности использовали пробы сыворотки крови в количестве 96 образцов, полученные от коров голштино-фризской породы, на 20 сут. (ООО "ЗапСибХлеб-Исеть", ООО «Приисеть», АО "Эвика-Агро") и 35 сут. (СПК "Пушкинское") после их осеменения.

При этом в СПК "Пушкинское" (Омская область) не практикуется применение гормональной стимуляции коров после отела для синхронизации полового цикла.

Коровы, принадлежащие ООО "ЗапСибХлеб-Исеть" (Тюменская область), по технологическому циклу подвергаются синхронизации половой охоты с использованием классической схемы Овсинг.

Все животные после отела в ООО «Приисеть» и АО "Эвика-Агро" (Тюменская область) для активизации половых циклов проходят гормональную обработку по схеме Прессинг и Овсинг.

Сыворотки крови тестировали с помощью набора IDEXX Visual Pregnancy Test согласно инструкции по применению от производителя, с той лишь разницей, что в хозяйствах, в которых используется синхронизация половой охоты отбор проб крови проводили уже на 20 сут. после осеменения коров.

Дополнительно контроль беременности всех обследованных коров в хозяйствах Тюменской и Омской областях осуществляли методом УЗИ на 35 сут. после их осеменения вне зависимости от результатов ИФА.

Результаты исследований и обсуждение. Тестирование сывороток крови набором IDEXX Visual Pregnancy Test в СПК "Пушкинское" показало, что из 25 голов КРС взятых в опыт, в числе которых согласно протоколу исследования УЗИ 11 голов были стельными и 14 коров не стельными, беременными оказались 13 голов коров и 12 голов — не беременными. При этом по результатам теста ИФА 2 головы, давших отрицательный результат в УЗИ, и 1 голова, показавшая положительный результат в УЗИ, показали наличие у них стельности и ее отсутствие, соответственно.

Портовое обследование этих сомнительных животных на 45 сут. стельности методом УЗИ подтвердило правильность результатов, полученных путем тестирования сывороток крови набором IDEXX Visual Pregnancy Test.

Вероятнее всего, данное разночтение в результатах было обусловлено квалификацией специалиста, проводившего УЗИ. Однако, при получении подобных результатов УЗИ и с возможной последующей гормональной терапией коров имела бы место стопроцентная вероятность получения двух абортос и удлинение сервис-периода по одной корове с ложно положительной стельностью по результатам УЗИ.

Последующие исследования проводились в хозяйствах Тюменской области, где активно используется гормональная синхронизация половой охоты у коров.

Так исследование 25 проб сывороток крови коров в ООО «Приисеть» методом ИФА, определяющего гликопротеины ассоциированные со стельностью, свидетельствовало о наличии таковой у 13 голов. Остальные 12 голов оказались нестельными, что полностью согласуется с результатами УЗИ, проведенным на 35 сут. после осеменения.

В ООО "ЗапСибХлеб-Исеть" из 25 обследованных голов методом ИФА 16 голов коров дали положительный результат, а 8 голов - отрицательный результат. Также 1 голова показала слабое окрашивание раствора в лунке, что поставило под сомнение ее стельность.

На 35 сут. была проведена диагностика методом УЗИ, которая подтвердила в 100 % случаев ранее полученные положительные и отрицательные результаты в ИФА.

При этом у коровы с сомнительным результатом на стельность в ИФА (слабое голубое окрашивание раствора в лунке), по результатам УЗИ было обнаружено наличие слабо развитого плодного пузыря, что говорило о стельности этой коровы. Последующее ректальное исследование этой головы на 60 суток после осеменения показало, что у коровы все же происходит развитие плода, но с выраженной задержкой.

Анализ 7 заведомо отрицательных по стельности сывороток крови, проведенный в АО "Эвика-Агро" с помощью набора IDEXX Visual Pregnancy Test, продемонстрировал абсолютную специфичность данного теста, т. е. все заведомо нестельные животные дали отрицательный результат.

Из 14 опытных коров в этом предприятии 8 голов показали наличие плода и 6 голов оказались нестельными. Последующее исследование этих опытных животных методом УЗИ на предмет стельности на 35 сут. после осеменения показало 100 % чувствительность анализируемого метода ИФА, т. е. подтвердило ранее полученные в ИФА IDEXX результаты исследования.

Заключение. IDEXX Visual Pregnancy Test, как метод ИФА диагностики стельности животных, можно применять в хозяйствах для раннего определения наличия плода у коров. В данных опытах была продемонстрирована возможность выявления не стельных и стельных животных по сыворотке крови, начиная с 20 сут. после осеменения животных. Данный метод диагностики является безопасным для коров, так как не происходит механического вмешательства, беспокойства, возможной передачи инфекции и травмирования плодного пузыря в матке животного.

Метод диагностики стельности с помощью теста IDEXX Visual Pregnancy Test можно применять непосредственно в хозяйствах, так как он не требует специальных лабораторных условий, какого-либо дополнительного оборудования и персонала и включает в состав набора все компоненты, необходимые для проведения тестов.

Такой метод исследования животных на стельность можно практиковать в хозяйствах, где используются программы прессинг и/или овсинг, а также в хозяйствах, не использующих программы синхронизации половой охоты.

Ранняя диагностика стельности коров вышеуказанным тестом позволяет сократить срок сервис-периода и раньше приступить к лечению животных с нарушениями

репродуктивной функции, а также выявлять внутриутробную гибель эмбрионов и плодов на ранних сроках беременности.

Необходимо также обратить внимание на рекомендацию компании-производителя проводить исследование животных начиная с 28го дня после осеменения.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Сковородин Е. Н. Игуменова Н. А. Методы ранней диагностики стельности // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. Т.2. №30. С.89-91.
2. Шевелев Н., Матрешина Н., Краснов В. Метод ИФА диагностики бесплодия // Животноводство России. 2008. №1. С. 47-48.
3. Posthuma-Trumpie G.A., van Amerongen A., Korf J., van Berkel W.J.H. Perspectives for on-site monitoring of progesterone // Tr. Biotechnol. 2009. 27:652 – 660.
4. Мордашева Э. Б., Берчанский Д. И. Клиника «Айболит», г. Красногорск <http://www.veterinarka.ru/for-vet/endokrinologicheskaya-diagnostika-reproduktivnoj-sistemy-suk.html>
5. Середин В.А. "Биотехнология воспроизводства в скотоводстве: учебное пособие. - Нальчик: ИЦ "Эль-Фа", 2004. - 472 с., ил.
6. Ранняя диагностика стельности коров с использованием ИФА Самсонова Ж.В., Осипов А.П., Егоров А.М., Рыбина Т.Н., Киреев Н.В. в журнале Ветеринария, № 12, с. 46-48.ф
7. Posthuma-Trumpie G.A., van Amerongen A., Korf J., van Berkel W.J.H. Perspectives for onsite monitoring of progesterone // Tr. Biotechnol. 2009. 27:652 – 660.
8. http://www.researchgate.net/publication/13822488_Multiple_pregnancy-associated_glycoproteins_are_secreted_by_Day_100_ovine_placental_tissue
9. Патент EP1141727 A2 (от 20 марта 1998). Early pregnancy diagnosis using pags (pregnancy-associated glycoproteins). The Regents Of The Univ. Of Minnesota.
10. Шевелев Н., Матрешина Н., Краснов В. Метод ИФА в диагностике бесплодия // Животноводство России. 2008. № 1. С. 47,48. 8. Laing J.A., Heap R.B. The concentration of progesterone in the milk of cows during the reproductive cycle // Br. Vet. J. 1971. 127:19 – 22.
11. Пашенко Е., Шевцов Ф. Диагностика стельности // Молочное и мясное скотоводство. 2008. № 5. С. 28, 29.
12. <http://www.leantlab.ru/katalog/veterinariya/diagnosticheskie-naboryi-importnogo-pr-va/idexx-ssha/>

Early pregnancy diagnosis of Holstein cows using ELISA-based analysis of proteins associated with pregnancy

A. A. Zhernosenko, A. V. Mashnin, K. I. Petrov, V. V. Gudkov, A. V. Plakhotin, F. A. Fedorov, A. V. Olen'kov, S. A. Orzhekhovskaya.

For early diagnosis of pregnancy of holstein-friesian cows we used the method of enzyme-linked immunosorbent assay IDEXX, based on detection of glycoproteins associated with pregnancy. The use of this test can reliably diagnose pregnancy at 20-28 days after insemination of cows.

Keywords: pregnancy, cattle, blood, ELISA, IDEXX Visual Pregnancy Test, progesterone, presynch, ovsynch, proteins associated with pregnancy.

Контакты: тел.: +7 913 140 97 42, e-mail: mashnin.a@list.ru