

РАЗДЕЛ III. ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 57.083.3: 577.14

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА СТЕЛЬНОСТИ У КОРОВ ПУТЕМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ PAG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КОРОВ МЕТОДОМ ИФА

М.Е. Алимбекова, А.А. Тургумбеков, К.У. Койбагаров, Е.С. Усенбеков
НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет»,
Алматы, Республика Казахстан
e-mail: meru27@mail.ru

Аннотация. Авторами статьи для ранней диагностики стельности у коров наряду с ректальной диагностикой был использован способ ИФА исследования путем определения содержания PAG в образцах сыворотки крови коров. Средняя концентрация PAG в сыворотке крови у коров с сроком беременности 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 месяца составила, 1,590, 1,894, 1,416, 2,213, 1,784, 1,601 оптических единиц, соответственно. Хотя, теоретически ожидалось повышение концентрации PAG в сыворотке крови коров с увеличением срок стельности. В двух случаях зарегистрировано несовпадение результатов ректального обследования с результатами ИФА исследования, что составляет 3,5%.

Ключевые слова: ИФА диагностика стельности, PAG, имплантация эмбриона, истинный признак беременности, ректальная диагностика, искусственное осеменение.

EARLY DIAGNOSIS OF PREGNANCY IN COWS BY DETERMINING PAG CONTENT IN BLOOD SERUM COW ELISA METHOD

M.Y. Alimbekova, A.A. Turgumbekov, K.U. Koibagarov., Y.S. Ussenbekov
¹NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty,
Republic of Kazakhstan
e-mail: meru27@mail.ru

Abstract. The authors of the article used the ELISA method for early diagnosis of pregnancy in cows, along with rectal diagnosis, by determining the PAG content in cow blood serum samples. The average PAG concentration in blood serum in cows with a gestational age of 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 months was 1.590, 1.894, 1.416, 2.213, 1.784, 1.601 optical units, respectively. Although, theoretically, an increase in the concentration of PAG in the blood serum of cows was expected with increasing pregnancy. In two cases, a discrepancy between the results of the rectal examination and the results of the ELISA study was registered, which amounts to 3.5%.

Keywords: *ELISA diagnosis of pregnancy, PAG, embryo implantation, true sign of pregnancy, rectal diagnosis, artificial insemination.*

Введение. Своевременная диагностика стельности на молочных фермах имеет важное практическое значение, так как неплодотворно осемененные коровы наносят большой экономический ущерб из-за потери молока и недополучения приплода. В ветеринарной гинекологии существуют множественные способы диагностики стельности у коров, такие как, ректальная пальпация, УЗИ сканирование репродуктивных органов, рефлексологический способ, лабораторные методы диагностики основанные на обнаружении в сыворотке крови гормона прогестерона или специфического белка беременности (РАG). Каждый способ диагностики имеет свои преимущества и недостатки [1].

Более распространенным способом диагностики стельности у коров на ранней стадии беременности является определение содержания гормона прогестерона в образцах молока, сыворотки крови отобранных на 19-21-й день после искусственного осеменения методом иммуноферментного анализа (ИФА). Основными факторами, сдерживающими широкое применение ИФА-способа диагностики стельности у коров являются дефицит оснащенных необходимыми обрудованиями лабораторий, отсутствие необходимых реагентов для лабораторной диагностики. По результатам ИФА исследования, если концентрация прогестерона в образцах сыворотки крови составляет менее 4 нг/мл, тогда корова считается небеременной, 4-7 нг/мл – сомнительной стельности, если уровень прогестерона более 7 нг/мл, корова стельная. Однако, иногда можно получить ложноположительные результаты в результате патологии половых органов у коров (персистентное желтое тело). Обнаружение в образцах сыворотки крови РАG в количестве более 0,300 оптических единиц свидетельствует, что исследуемая корова стельная и данный признак является истинным признаком беременности. С помощью метода ИФА можно определить стельность у коров на ранней стадии путем определения содержания РАG в образцах сыворотки крови на 25-й день после искусственного осеменения. В качестве альтернативного способа диагностики стельности у коров зарубежные ученые используют метод определения Interferon tau (IFNT) в сыворотке крови на 12-14-й дни после искусственного осеменения, увеличение концентрации IFNT указывает на беременность [2]. Таким образом, в нашей работе в качестве альтернативного способа диагностики одновременно с ректальным методом был использован метод обнаружения РАG с помощью ИФА.

Целью работы было изучение эффективности использования определения содержания РАG в образцах сыворотки крови методом ИФА исследования для ранней диагностики стельности у коров.

Материалы и методы исследования. В качестве материала для иммуноферментного анализа использовали 57 образцов сыворотки крови коров частного сектора сельского округа «Жетитобе» Жуальинского района Жамбылской области. В период с 11 мая по 13 июня 2023 года нами было

проведено искусственное осеменение коров частного сектора в количестве 161 головы, в сентябре 2023 года проводилось ректальное исследование коров на стельность и был осуществлен выборочно сбор образцов сыворотки крови (n=57) для ИФА диагностики стельности. Определение концентрации плацентраного белка (pregnancy-associated glycoproteins, PAG) в образцах сыворотки крови проводилось в лаборатории кафедры «Акушерства, хирургии и биотехнологии воспроизводства» Казахского национального аграрного исследовательского университета, был использован иммуноферментный анализатор ELx808 (микропланшетный ридер) и коммерческий набор «Bovine Pregnancy Test Kit» Американской компании IDEXX.

Результаты исследования. В период с 12 по 16 сентября 2023 года нами проводилось ректальное исследование коров и были определены количество стельных и бесплодных коров. Искусственное осеменение коров нами проводилось ректоцервикальным способом в период с 11 мая по 13 июня спермой племенного быка симментальской породы, затем для «зачистки» был использован способ вольного спаривания. Было важно, определение точного срока стельности, так как небольшие сроки стельности свидетельствовали о наступлении беременности в результате естественного осеменения беспородным быком производителем. Таким образом, по результатам ректальной диагностики из 57 коров 4 оказались бесплодными, у двух коров 1,5 месяца, у трех коров сроки стельности 2,0 месяца, у одной коровы 2,5 месяца (табл. 1). У этих животных сроки стельности не соответствуют с датой искусственного осеменения и возможно, указанные коровы стали стельными в результате «зачистки» путем естественного осеменения.

Таблица 1 – Результаты ректальной диагностики и ИФА исследования образцов сыворотки крови коров (протокол испытания от 19-20 сентября 2023 г)

№	Дата искусственного осеменения	Инд № коровы	Результаты ректальной диагностики (12-16 сентября 2023 г)	Содержание PAG (19-20.09.2023 г)
1	2	3	4	5
1	20.05.23	45202516	3,5 мес	2,623
2	27.05.23	44562405	3,5 мес	3,404
3	23.05.23	00064669	Бесплодная	0,106
4	22.05.23	00064666	3,5 мес	1,846
5	13.05.23	46008835	4 мес	1.525
6	12.05.23	б/н	4 мес	3.122
7	26.05.23	45120715	4 мес	1.464
8	18.05.23	45738929	4 мес	1.532
9	28.05.23	45955289	4 мес	1.434
10	26.05.23	б/н	4 мес	1.211
11	08.06.23	44983929	Бесплодная	0.101
12	12.06.23	б/н комолая	3 мес	3.547
13	17.05.23	б/н	3,5 мес	1,217

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5
14	31.05.23	46105681	3,5 мес	2,811
15	24.05.23	б/н	3,5 мес	2,296
16	24.05.233	б/н	2 мес	2,224
17	14.05.23	б/н	4 мес	1,618
18	15.05.23	45872396	4 мес	1,957
19	12.05.23	4552118	4 мес	1,026
20	15.05.23	б/н	4 мес	2,110
21	16.05.23	45738774	4 мес	1,612
22	14.05.23	45782379	4 мес	1,594
23	26.05.23	б/н	4 мес	1,413
24	17.05.23	б/н	4 мес	1,172
25	25.05.23	45738765	4 мес	1,210
26	25.05.23	б/н	4 мес	1,169
27	25.05.23	45738770	4 мес	1,013
28	25.05.23	б/н	4 мес	1,645
29	28.05.23	4520206	4 мес	1,767
30	25.05.23	44887884	4 мес	1,648
31	14.05.23	44887885	4 мес	2,840
32	06.06.23	б/н	2,5 мес	1,416
33	26.05.23	45383951	4 мес	2,147
34	07.06.23	69391404	1.5 мес	1,709
35	28.05.23	69384859	3,5 мес	1,706
36	02.06.23	70244167	3.5 мес	1,425
37	02.06.23	70244165	3.5 мес	1,603
38	02.06.23	70293293	3,5 мес	3,031
39	01.06.23	70244162	3,5 мес	2,224
40	01.06.23	70243636	3.5 мес	2,029
41	01.06.23	70244164	2 мес	1,491
42	01.06.23	70244166	Бесплодная	1,064
43	04.06.23	453422968	3,5 мес	1,319
44	07.06.23	45342970	3.5 мес	1,491
45	01.06.23	45342953	3.5 мес	1,526
46	07.06.23	45342951	2 мес	1,968
47	02.06.23	45342958	3.5 мес	1,785
48	01.06.23	б/н	3.5 мес	1,688
49	10.06.23	72623920	3 мес	1,069
50	10.06.23	73188676	3 мес	1,844
51	12.06.23	45111910	3 мес	1,952
52	12.06.23	б/н	3 мес	2,946
53	12.06.23	б/н	3 мес	3,562
54	04.06.23	45342956	Бесплодная	1,915
55	07.06.223	б/н	3 мес	1,565
56	05.06.23	450373369	1,5 мес	1,471
57	05.06.23	46009404	3 мес	1,225

Примечание: б/н – без номера, значение РАG более 0,300 ОП стельная, ОП – оптическая плотность.

Однако, как видно из таблицы 1 у двух коров (инв №70244166, 45342956) которые по результатам ректального исследования были бесплодными, обнаружена достаточно высокая концентрация РАГ, 1,064 и 1,915, соответственно. У коров с сроком беременности 1,5 месяца (n=2) средняя концентрация РАГ составила 1,590, с сроком беременности 2 месяца (n=3) средняя концентрация РАГ составила 1,894, с сроком беременности 2,5 месяца (n=1) средняя концентрация РАГ составила 1,416, с сроком беременности 3 месяца (n=8) средняя концентрация РАГ составила 2,213, сроком беременности 3,5 месяца (n=17) средняя концентрация РАГ составила 1,784, сроком беременности 4,0 месяца (n=22) средняя концентрация РАГ составила 1,601.

Анализ результатов ИФА исследования показывает (таблица 1), что у коров концентрация РАГ в образцах сыворотки крови меняется скачкообразно, хотя теоретически ожидалось повышение содержания РАГ с увеличением срока стельности у коров. Также, у двух бесплодных, по результатам ректального исследования, наблюдается повышенное содержание РАГ, данный факт является следствием артефакта или ошибочного результата ректальной диагностики.

Выводы. По результатам ректальной пальпации репродуктивных органов коров и ИФА исследования уровень неточности ректальной диагностики с результатами иммуноферментного анализа составила 3,50%, т.е. у двух коров которые оказались бесплодными по результатам ректального исследования выявлены стельность. Можно предполагать, что стельность у шести коров с сроком стельности от 1,5 до 2,5 месяца наступила в результате естественного осеменения беспородным быком производителем. Выявлена тенденция скачкообразного изменения динамики содержания РАГ в образцах сыворотки у исследуемых коров.

Финансирование. Данная работа выполнена в рамках реализации 019 инновационной программы «Управления сельского хозяйства акимата Жамбылской области», согласно договора «Договор о государственных закупках работ, не связанных со строительством» №30 от 11 апреля 2023 года.

Литература

1. Определение РАГ в сыворотке крови коров методом иммуноферментного анализа и его диагностическое значение / А. Б. Багдат, Е. С. Усенбеков, Н. К. Акильжанов, Г. С. Шманов, М. Е. Алимбекова, Л. С. Аубекерова // Научное обеспечение животноводства Сибири: материалы III Международной научно-практической конференции, 16-17 мая 2019 г. – Красноярск, 2019. – С. 70–73.

2. In vivo expression of interferon tau mRNA by the embryonic trophoblast and uterine concentrations of interferon tau protein during early pregnancy in the cow / R. Robinson, M. Fray, D. Wathes, G. Lamming, G. Mann // Mol Reprod Dev. – 2006. – Vol. 73. – pp. 470–474.