

УДК 636.32/.38:619:618.215
© 2013

О.С. ЖУЛІНСЬКА,
здобувач

Д.В. ПОДВАЛЮК,
кандидат ветеринарних наук

*Інститут тваринництва степових
районів імені М.Ф. Іванова
“Асканія-Нова” – Білоцерківський
національний аграрний університет*

Проведено огляд існуючих методів діагностування суягності. Удосконалено методіку цитовагінального дослідження, що пропонується як можливий метод діагностування плідності в овець. Зокрема, у суягних вівцематок на 18 добу після осіменіння спостережено зсув розподілу підгруп епітеліоцитів на користь клітин глибоких шарів, того часу як у незапліднених овець цитологічна картина вагінального мазка ставала характерною для постеструсу.

Ефективність використання генетично цінних вівцематок безпосередньо залежить від їх відтворної здатності. У свою чергу об'єктивна оцінка стану репродуктивної системи вівці зумовлює успішність застосування традиційних та біотехнологічних прийомів відтворення.

Сьогодні існує декілька методів дослідження статевої системи самиць дрібних жуйних тварин, які здебільшого спрямовані на діагностування плідності або виявлення неплідних тварин. Загальновідомо, що своєчасна діагностика плідності дає можливість встановити причини зниження результативності осіменіння і вжити необхідних заходів щодо запобігання неплідності.

Мета наших досліджень – аналіз існуючих методів діагностування вагітності в овець та вивчення можливості використання для цього методу піхвового мазка (цитовагінальне дослідження), виконаного за нашою методикою.

Результати дослідження та їх обговорення. Методи діагностування суягності поділяються на клінічні та лабораторні [1].

Клінічні методи охоплюють аналіз фізіологічних, анатомо-топографічних та морфологічних змін, які відбуваються в організмі та статевих органах самиць. Традиційно для дрібних жуйних клінічні методи застосову-

МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ СУЯГНОСТІ. ЦИТОВАГІНАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

ють при діагностуванні суягності, їх поділяють на зовнішнє та внутрішнє обстеження. До зовнішнього обстеження належать: рефлексологічний метод, огляд, пальпація, аускультация самиці.

Рефлексологічний метод базується на використанні баранів-пробників, котрих пускають в отару для виявлення овець у стадії статевого збудження. Вважається, що відсутність статевої охоти у вівці з 12-го по 19-й день після осіменіння є прогностичною ознакою суягності, наявність охоти свідчить про неплідність тварини [2]. Недоліком цього методу є те, що перевірка бараном-пробником вимагає додаткових затрат праці і не забезпечує потрібної точності тоді, коли осіменіння проводиться наприкінці парувального сезону. За нашими спостереженнями впродовж 2004–2011 рр., 1,7–4,1 % вівцематок асканійської селекції з терміном плідності 2–3 тижні під час парувальної кампанії проявляють повноцінні ознаки статевого збудження. Так, за лапароскопічного обстеження каракульських вівцематок у трьох із 80-ти тварин на 4–6-й день після фіксованої статевої охоти виявлено вагітність терміном 3–4 тижні. Майже 1,5 % вівцематок каракульської породи ритмічно проявляли статево охоту протягом 2,5–3-х перших місяців суягності. І навпаки, за даними І.С. Шинкаренка та М.Ф. Попова, у 12,9

% маточного поголів'я асканійських тонкорунних вівцематок, які в подальшому виявилися неплідними, констатували відсутність статевого збудження протягом 45 днів після осіменіння [3].

Оцінку за зовнішнім оглядом в овець застосовують лише для виявлення передвісників родів: опускання живота, збільшення молочної залози. Характерний "медовий" секрет зі сосків вимені можна виявити вже з 105–107 дня суяності [2]. Отже, визначення суяності за оглядом живота і вульви, констатація приросту маси є досить необ'єктивними і тому можуть бути використані лише як допоміжні.

Метод пальпації в овець можна поділити на різновиди:

♦ трансабдомінальна пальпація має сенс лише після 100-го дня суяності, точність на третьому місяці сягає близько 80 % і зростає зі строком вагітності;

♦ ректальна пальпація каудальної маткової артерії – допомагає уточнити діагноз лише з 100–125-го дня суяності; пальпацію частіше проводять у комплексі з значеними методами;

♦ ректо-абдомінальна пальпація – у пряму кишку на глибину 20–30 см вводять пластикову трубку, плід (якщо він є) підводять кінцем трубки до правої стінки черева і пальпують рукою, прикладеною справа до черевної стінки. Обстеження проводять між 60 та 145 днями після осіменіння, точність методу коливається від 85 до 90–95 %. Основним недоліком цього методу є ризик травмування прямої кишки. Крім того, надто важко обстежувати вгодованих, крупних вівцематок [2, 4].

Наголосимо, що основним недоліком перелічених методів є запізні строки проведення самої процедури діагностування суяності. Пов'язані з цим перегрупування, прогін тварин через вузький розкіл та інші стресові чинники підвищують ймовірність виникнення травматизму в суягних овець і створюють загрозу викидня.

До внутрішнього клінічного обстеження відносять огляд піхви за допомогою піхвового дзеркала, коли суяність діагностують за наявністю густого слизу, що з'являється на

20–30-й день після осіменіння [5]. При обстеженні маточного поголів'я тонкорунних овець перед парувальним сезоном у певного відсотка тварин ми виявляли густий пастоподібний слиз в області шийки матки. У парувальний сезон виділення подібної консистенції реєстрували в овець зі статевою охотою вперше.

До внутрішнього клінічного огляду відносять і методи, які є спеціальними. Зокрема, рентгенівське обстеження, що донедавна було чи не єдиним точним методом, дає можливість встановити не тільки сам факт плідності, а й кількість плодів [6]. Проте витрати на таке обстеження не оправдуються економічним ефектом у невеликих отарах та на поголів'ї з помірним рівнем плодючості (20–30 % двійневих приплодів).

Лапароскопічний метод, хоч і вважається менш радикальним порівняно з лапаротомією, все ж передбачає травмування черевної стінки при введенні оптичного пристрою в абдомінальний простір для огляду матки. Точність його з третього тижня суяності сягає 98 %, за підрахунком плодів – 83 % [4, 7]. Але спеціальне вартісне обладнання, потреба у кваліфікованих спеціалістах та витрати часу не дозволяють широко застосовувати цей метод на практиці.

У 90-х роках найпрогресивнішим клінічним методом внутрішнього обстеження репродуктивних органів овець стала сонографія (ультразвукове обстеження). Існує дві модифікації способу використання ультразвукових хвиль: перша – на використанні ефекту Доплера, застосовується для виявлення серцебиття плода, точність при цьому складала 90 % на 60–160-й день суяності [4]; друга ґрунтується на здатності ультразвукових хвиль по-різному відбиватися від тканин різної щільності. З розвитком техніки стало можливим візуалізувати цю різницю на екрані монітора. Сьогодні цей метод став найзручнішим і найточнішим способом діагностування суяності, починаючи з 24–28-ї доби після осіменіння. Точність методу зростає від 82–85 % на 22–28-й день та майже 95 % – на 32–35-й день після осіменіння. Можливість встановити життєздатність ембріона за наявністю серцебиття, простежити чіт-

кість візуалізації амніотичної порожнини та характер ехогенності ембріональної рідини допомагають визначити реальні показники запліднюваності в овечих отарах. Обмеженням поширення такого способу у вівчарстві є висока вартість обладнання. У 1999–2001 рр. ми започаткували ультразвукові дослідження внутрішніх статевих органів вівцематок при стимуляції поліовуляції та для встановлення реального показника приживлення трансплантованих зародків. Було встановлено, що оптимальним часом для констатації факту приживлення ембріонів є 34–35-й день після статевої охоти реципієнта.

Проміжне місце серед викладених клінічних та лабораторних методів посідає так званий біологічний метод, принцип якого полягає в реєстрації реакції організму самиці на введення речовин гормональної природи. За кордоном на початку 80-х років ХХ ст. використовували обробку діетилstilbестролом або сумішню прогестерону та естрадіолу, після чого неплідні вівцематки проявляли статево охоту, запліднені не реагували [2, 8]. Кратність обробок та потреба в періодичному перегрупуванні тварин роблять цей метод надто непрактичним.

Лабораторні методи дослідження статевої системи вівці можна умовно поділити на дві групи. Методи першої групи базуються на визначенні в організмі концентрації біологічно активних речовин, зокрема гормонів та їх похідних. При діагностуванні суягності в овець такими методами є:

- визначення вмісту прогестерону у плазмі крові за допомогою радіоімунологічного методу або методом конкурентного зв'язування білка. У вівцематок, що не проявили охоту, тричі відбирають проби крові: на 21–31-й день після парування, а також через 6 та 12 днів після першого відбору. Рівень прогестерону більше 1,0 або 1,5 нг/мл (відповідно до застосованої методики) вважають показником плідності. Точність методів становить близько 96 та 95 % відповідно [9, 10];

- тестування за концентрацією прогестерону в крові на 17–19-й день або на 12-й день (за різними методиками) після осіменіння забезпечує точність діагностики суягності 89–90 %. Якщо рівень прогестерону в крові

сягає 20–70 нмоль/л (радіоімунологічний метод) та 0,5–1,0 нг/мл або 4,9–10,63 нмоль/л (імунферментний аналіз), вівцю вважають суягнуою [4, 11, 12]. За даними багатьох науковців, концентрація прогестерону в сироватці крові суягнуої та несуюгнуої вівці варіює залежно від пори року, породи, дня відбору після осіменіння [11, 12, 13];

- за вмістом хоріонічного соматомамма-тропіну в плазмі крові, який визначається радіоімунологічним методом у модифікації Т. Chan зі співавт. (1978). Метод базується на виявленні так званого “антигену суягності”. Точність діагностування від 85 % на 47-й день та до 99 % – на 55–70-й день [14].

Зазначені лабораторні методи діагностування суягності не набули широкого використання на виробництві через незручність застосування, дороговизну діагностиків, різноманіття тест-систем та специфіку самої інтерпретації. Виникає також потреба в повторних відборах крові, що спричиняє додаткові стреси та витрати. Тому такі дослідження частіше застосовують з дослідницькою метою.

Встановлення суягності у овець за фізико-хімічними властивостями цервікального слизу за Bostedt von Н. Слиз відбирають мідним стержнем, переносять у пробірку з дистильованою водою і доводять до кипіння. За успішного запліднення слиз має біло-сірий колір, не розчиняється, а вода залишається прозорою. У неплідної тварини слиз розчиняється або ділиться на пластівці, вода мутна. На 3–6-му тижні встановити суягність вдається у 62 % випадків, на 7–22 тижні точність зростає до 100 % [15].

До другої групи лабораторних методів діагностування суягності відносяться гістологічний та цитовагінальний методи, які базуються на властивості епітеліальних тканин статевих органів відповідати певним ступеням проліферації на зміну гормонального фону тварини з настанням суягності.

Гістологічний метод. Існує багато методик діагностування суягності на основі біопсії піхви. Для цього використовують присмоктувальний апарат або роблять вищип слизової оболонки в певній ділянці піхви – приблизно 7–8 см від вульви. У суягних

овець спостерігають значне зменшення кількості шарів епітелію. Зазвичай епітеліоцити кубічної форми з вакуолізованою цитоплазмою та круглим ядром. У неплідних овець епітелій багат шаровий, з щільно прилеглими клітинами та однорідною інтенсивно забарвленою цитоплазмою. Точність цього методу в овець нестабільна – від 34 (через місяць після осіменіння) до 84 % після 1,5–2

місяців суяності, крім того, сам метод є досить трудомістким [4, 15]. Порівняно з цитологічним дослідження гістологічне (біопсія) потребує більших витрат праці, часу, коштів, воно, як правило, інвазійне.

Цитологічне дослідження мазків вагінального слизу – метод, який ґрунтується на вивченні розподілу десквамованих епітеліальних клітин вагінального слизу за морфо-

Цитологічна характеристика вагінальних мазків вівцематок різного репродуктивного статусу

День циклу	Група	Функціональні епітеліоцити, %				Зруйновані епітеліоцити, %		Без'ядерні епітеліоцити, %	Клітини з пікнотизованим ядром, %
		всього	підгрупи клітин			всього	голі ядра		
			базальні, парабазальні	проміжні	суперфіційні ядерні				
4	З	81,7± 5,76	3,1± 2,12	21,3± 4,32	57,3± 3,27	7,3± 3,56	4,3± 2,86	3,7± 1,08	7,3± 3,27
	Н	73,0± 3,67	1,33± 1,63	12,0± 4,42	59,7± 2,48	2,7± 2,16	1,0± 1,22	11,3± 5,02	13,0± 3,08
6	З	77,0± 9,90	0	5,7± 2,68	71,3± 11,45	8,3± 5,12	2,0± 2,45	5,0± 3,24	9,7± 2,48
	Н	64,7± 2,68	0,3± 0,41	10,7± 1,47	53,7± 3,56	6,3± 2,48	0,7± 0,82	11,0± 3,67	14,7± 6,10
8	З	63,0± 11,77	0,33± 0,41	17,0± 10,42	45,3± 1,47	11,0± 8,15	6,3± 7,76	6,3± 2,27	18,3± 6,87
	Н	73,3± 2,48	2,33± 2,86	25,7± 7,63	45,3± 5,96	4,3± 1,78	0	4,0± 2,45	18,3± 0,41
11	З	69,3± 4,97	5,3± 2,86	30,0± 4,30	34,0± 6,74	14,7± 3,56	8,7± 3,89	3,3± 4,08	12,7± 7,26
	Н	67,3± 2,68	5,0± 4,42	21,7± 4,71	45,7± 2,68	8,3± 1,08	2,0± 1,41	2,7± 0,41	21,7± 3,34
13	З	77,0± 18,38	10,0± 2,83	25,5± 10,61	41,5± 10,61	12,5± 10,61	11,3± 4,33	5,5± 3,53	5,0± 4,24
	Н	63,0± 20,94	3,7± 2,27	21,3± 6,87	36,7± 14,32	12,7± 5,49	5,3± 0,82	11,0± 11,11	13,3± 5,40
18	З	84,7± 5,49	42,7± 3,89 ^a	33,7± 2,48	8,3± 4,14 ^a	11,3± 5,72	4,3± 3,63	0 ^a	4,3± 0,82
	Н	81,3± 5,02	1,0± 1,22 ^f	18,0± 8,86	62,3± 13,64 ^c	4,3± 0,82	0	4,3± 1,47 ^b	10,0± 4,64

Показники з різними субскриптами в різних групах тварин, що відповідають кожному дню дослідження, різняться між собою за рівнем вірогідності: a:b – p<0,05; a:c – p<0,01; a:f – p<0,0005.

логією. Вітчизняними вченими у 50-х роках ХХ ст. було зроблено перші спроби застосувати цей метод на вівцях для діагностування суяності [16].

З використанням удосконаленої нами методики відбору матеріалу та аналізу мазків проведено дослідження динаміки цитологічної картини вагінального мазка у 14 вівцематок асканійської тонкорунної породи віком 4–6 років протягом статевого циклу. Тварини були поділені на дві групи: перша група – вівцематки, яких після ранкового відбору баранами-пробниками піддавали процедурі штучного осіменіння нативною спермою (6 голів), друга група – вівцематки, яких не осіменяли (8 голів). Відбір цитологічного матеріалу починали у перший день статевого циклу перед осіменінням і повторювали з інтервалом 1–2 дні впродовж 22 днів. Осіменіння трьох вівцематок першої групи виявилось нерезультативним. Групу 3 склали вівцематки з результативним ($n = 3$), групу Н – вівцематки з нерезультативним осіменінням ($n = 3$) – таблиця.

Процедура відбору цитологічного матеріалу, за свідченням інших дослідників, незалежно від техніки виконання, сама по собі викликає подразнення слизової оболонки піхви з виникненням лейкоцитозу. Лейкоцитоз у мазках спостерігався лише у 30 % (з 14 досліджуваних) тварин, але він не мав постійного характеру. На нашу думку, причиною цього була контамінація піхви секундарною мікрофлорою за періодичних відборів матеріалу.

Але це не було причиною нерезультативного осіменіння у трьох вівцематок. Переважав, мабуть, більший вплив стресового чинника за кожного відбору матеріалу та ритмічне подразнення піхви. На підтвердження, інші три вівцематки з групи Н запліднилися у наступні два статеві цикли.

На 13-й день циклу в запліднених тварин відстежується тенденція до зростання кількості клітин глибокого шару (таблиця). На 18-й день між заплідненими і незаплідненими тваринами спостерігалася вірогідна різниця за кількістю клітин глибоких (базальних) та поверхневих (суперфіційні ядерні та без'ядерні епітеліоцити) шарів.

На іншій групі вівцематок ($n = 12$) було проведено дослід з метою встановлення можливості діагностувати суяність у більш ранні строки – на 10-й день після осіменіння. У вівцематок, що стали плідними, на 10-й день спостерігали тенденцію до зростання загальної кількості функціональних клітин за одночасного зменшення частки клітин проміжного шару та суперфіційних ядерних епітеліоцитів порівняно з показниками під час статевої охоти. При цьому невірогідно знижувалася кількість клітин з пікнозом ядра – від $24,0 \pm 7,48$ до $14,2 \pm 3,66$. У незапліднених вівцематок подібного не спостерігали. На 10-й день у тварин, які не запліднилися, кількість клітин глибоких шарів (базальні-парабазальні епітеліоцити) була дещо меншою, ніж у запліднених овець – $5,7 \pm 4,26$ проти $17,28 \pm 6,21$ ($p > 0,05$; $td = 1,538$).

Висновки

1. Серед існуючих методів діагностування суяності найбільш ефективним методом у виробничих умовах є сонографія.

2. Цитовагінальне дослідження, враховуючи його наднизьку собівартість, може використовуватись як самостійний метод для діагностування суяності в малочисельних племінних отарах (до 500 голів маточного поголів'я), особливо в умовах штучної синхронізації. За розподілом підгруп функціональних клітин, починаючи з 18 доби після осіменіння, з успіхом можна діагностувати плідність.

3. На відміну від ультразвукового обстеження, метод вагінального мазка за нашою методикою одночасно можна використовувати при діагностуванні запальних процесів субклінічного характеру в статевих шляхах овець.

Опираючись на досвід інших науковців та власні численні дослідження вважаємо, що у вівчарстві в сучасних умовах господарювання замість простого діагностування плідності доцільніше застосовувати системний контроль за станом відтворної функції вівцематок в отарі з

використанням цитовагінального дослідження (метод вагінального мазка). А це означає:

- контроль за перебігом післяродового періоду;

- своєчасне виявлення овець з порушеною відтворною функцією;

- прогнозування відтворної функції;

- встановлення оптимальних строків початку парувальної кампанії.

Бібліографія

1. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології: підручник / [В.А. Яблонський та ін]; за заг. ред. В.А. Яблонського та С.П. Хомина. – Вінниця : Нова Книга, 2006. – 592 с.
2. Rommel W. Zur Trachtigkeitsfeststellung beim Shaf. / W. Rommel, H. Rummer // Mh. Veter.-Med. – 1980. – 35, № 11. – P. 428–432.
3. Шинкаренко І. Наслідки широкомасштабної австралізації овець асканійської тонкорунної породи / І. Шинкаренко, М. Попов // Тваринництво України. – 2002. – № 7. – С. 14–16.
4. Pregnancy diagnosis / T. Bunch [et al.] // Sheep Breeder. – 1982. – Vol. 102, № 5. – P. 120–125.
5. Акушерство, гинекология и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных / [Н.Н. Михайлов, Г.В. Паршутин, Н.Е. Козло и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 527 с.
6. Allison A. Twinning ewes can be diagnosed, so what? / A. Allison // N. Z. farmer. – 1980. – Vol. 101, № 23. – P. 16–17.
7. Определение суяности и числа зародышей у овец путем лапароскопии / М. Филлиппо [и др.] // Сельское хозяйство за рубежом. – 1973. – № 3. – С. 24–25.
8. Evolution of pregnancy in the ewe based on pituitary responsiveness to LHRH / G. Foster [et al.] // Am. Soc. Anim. Se. Am. Meat. – 1979. – № 30. – P. 230–232.
9. Early identification of non-pregnant and pregnant ewes in the field using circulating progesterone concentration / R. Tyrrel [et al.] // Anim. Reprod. Sc. – 1980. – Vol. 3, № 2. – P. 149–153.
10. Pregnancy diagnosis and assessment of fetal numbers in the ewe in a commercial setting / N. Eewling [et al.] // Theriogenology. – 1983. – Vol. 19, Issue 5. – P. 655–663.
11. Иванов В.И. Ранняя диагностика суяности / В.И. Иванов // Овцеводство. – 1989. – № 3. – С. 31–32.
12. Склярів П.М. Аналіз причин зниження заплідненості овець та кіз, заходи профілактики / П.М. Склярів // Наук. вісник НУБІП. – 2009. – Вип. 136. – С. 46–52.
13. Wilmut L. Does hormonal imbalance death of embryos in sheep? / L. Wilmut, D. Saler // Rep. Anim. Breeding. Res. Org., Edinburgh – 1982. – P. 25–30.
14. Diagnosis of pregnancy in ewe at mid-gestation / H. Robertson [et al.] // Anim. Reprod. Sc. – 1980. – Vol. 3, Issue 1. – P. 69–71.
15. Касымов К. Определение беременности овец / К. Касымов, Б. Бисенов, Н. Каратаев // Сельское хозяйство за рубежом. – 1980. – № 5. – С. 52–53.
16. Лопырин А.И. Повышение плодовитости овец и коз / А.И. Лопырин. – М. : Сельхозгиз, 1953. – 232 с.

Рецензент – доктор сільськогосподарських наук **В.М. Іовенко**