



003473823

На правах рукописи

**Мытарев Дмитрий Николаевич**

**РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА БЕРЕМЕННОСТИ СВИНЕЙ МЕТОДОМ  
ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (ИФА)**

**16.00.07. Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции  
животных**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук**

1 8 ИЮН 2009

**Краснодар – 2009**

**Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Ставропольском Государственном аграрном университете» и некоторых хозяйствах Ставропольского края**

**Научный руководитель:** доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РСФСР, республик Дагестан и Карачаево – Черкессия  
**Никитин Виктор Яковлевич**

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
**Назаров Михаил Васильевич**  
доктор ветеринарных наук, профессор  
**Мануйлов Игорь Михайлович**

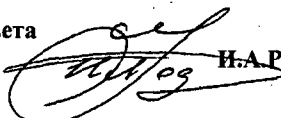
**Ведущая организация:** Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии (ГНУ ВНИВИПФ и Т)

Защита диссертации состоится 30<sup>00</sup> июня 2009 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 в ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»

Автореферат разослан 28 мая 2009 г.

**Ученый секретарь диссертационного совета**  
**доктор ветеринарных наук**

  
**И.А. Родин**

## I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1. Актуальность темы.** Диагностика супоросности необходима для планового ведения отрасли, своевременного выявления бесплодных животных и принятия мер по восстановлению половой функции. Из литературных источников известен ряд методов определения беременности. Наиболее распространенными являются клинические и лабораторные методы.

Клиническим методам диагностики супоросности большое внимание уделял О.Н. Преображенский(1972; 1976; 1983; 2007).

Лабораторные методы диагностики беременности использовали многие ученые, наиболее ценными из них являются радиоиммунологический (РИА) и иммуноферментный (ИФА-анализ), которые позволяют определять в биологических жидкостях (плазма, сыворотка, моча, амниотическая жидкость и т.д.) количественное содержание гормонов, регуляторов репродуктивной функции.

В последние годы используется ультразвуковая диагностика ранних сроков беременности (Г.П. Дюльгер, 2003., М.А. Богданова, М.А. Багманов И.И. Богданов, 2005, 2007, 2008). Но эти исследования проведены по вопросам диагностики беременности и бесплодия коров. Диагностика супоросности этим методом проводится, но литературных сведений не достаточно.

В целом изучению гормонов, их влиянию на половую функцию посвящено много отечественных и зарубежных работ. Среди отечественных ученых наиболее фундаментальные исследования проведены А.Г. Неждановым, 1985., Г.П. Дюльгером, 2008.

По показателю концентрации прогестерона в крови определяют не только беременность у животных, но и различную патологию в яичниках (Cantley T.C. et al., 1975; Garverick H.A. et al., 1976; Nakao T. et al., 1977, 1983; Dobson H. et al., 1977; Nesson G.K., King G.J., 1981; Zucher L. et al., 1981; Leslie K.E., Bosu W.T.K., 1983; Ax R.L. et al., 1984; Dinsmore R.P. et al., 1989; Jou P. et al., 1999; Zulu V.Ch. et al., 2003).

В последние годы (Е.В. Ильинский, М.В. Назаров, А.Н. Трошин, В.Н. Шевкопляс, 2002; А.П. Студенцов, В.С. Шипилов, В.Я. Никитин, М.Г. Миролюбов, В.В. Храмцов, 2005; В.В. Храмцов, Т.Е. Григорьева, В.Я. Никитин, М.Г. Миролюбов, 2007) приводят материалы по диагностике беременности и бесплодия у сельскохозяйственных животных. Они считают наиболее точными у свиноматок рефлексологический, ультразвуковой и ректальный методы.

К сожалению, внедрение метода ИФА в настоящее время не получило повсеместного распространения в связи с дефицитом методической литературы по использованию результатов анализа в клинической практике, а так же отсутствие работ в этом направлении. Изучение данного вопроса позволяет дополнить информацию о диагностике беременности у животных. Кроме того, актуальными являются исследования по разработке иммуноферментного анализа супоросности, основанного на определении концентрации прогестерона в сыворотке крови в зависимости от количества развивающихся плодов.

**1.2. Цель и задачи работы.** Цель работы заключается в изучении иммуноферментного анализа сыворотки крови для ранней диагностики супоросности и его эффективности. В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

1. Изучить особенности племенной работы в СХПК "Россия", Новоалександровского района, Ставропольского края.
2. Определить гематологические и биохимические показатели крови у подопытных свиней.
3. Изучить иммуноферментный анализ ранней диагностики супоросности и определить его эффективность.
4. Оценить ультразвуковое сканирование маток у свиней.

**1.3. Научная новизна.** Впервые в условиях производства использован иммуноферментный анализ (ИФА) для ранней диагностики супоросности. Новизна ИФА у свиноматок обусловлена тем, что содержание прогестерона определялось в весенне-зимние месяцы с учетом числа поросят при родах. Впервые установлено количественное содержание прогестерона в сыворотке крови у

бесплодных и супоросных свиноматок. Проведена сравнительная оценка использования УЗИ для диагностики супоросности. Изучены показатели крови у бесплодных и супоросных свиноматок.

**1.4. Практическая значимость.** Разработан и предложен производству иммуноферментный метод ранней диагностики супоросности. Дана оценка эффективности ранней диагностики супоросности под контролем УЗИ. Показана зависимость содержания прогестерона в крови от количества зародышей у свиноматок.

**1.5. Апробация результатов исследования.** Результаты исследований и основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на научно-практических конференциях СтГАУ (Ставрополь, 2006 - 2008 гг); на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники размножения животных», посвященной юбилею кафедры акушерства СтГАУ (2007 г.); на XVII заседании межвузовского координационного совета по свиноводству «Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации», Карачаево-Черкессия, 2008 г.

**1.6. Публикации материалов диссертации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 7 научных работ, в том числе 3 в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК РФ.

**1.7. Основные положения диссертации выносимые на защиту.**

1. Результаты исследований по определению эффективности свиноводства в исследуемом хозяйстве.

2. Применяемые в свиноводстве методы диагностики супоросности не позволяют осуществлять эффективный контроль за воспроизводством.

3. Разработана технология применения иммуноферментного анализа (ИФА) для определения беременности и бесплодия свиней.

4. Производственные испытания установили высокую диагностическую точность и экономическую эффективность разработанного иммуноферментного метода определения беременности и бесплодия свиней.

**1.8. Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 129 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов и практических предложений, списка литературы и приложения. Список используемой литературы включает 132 источника, в том числе 31 иностранных. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 2 рисунками.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Материалы и методы исследований**

Работа выполнена в 2006-2009 годах в соответствии с планом научных исследований кафедры акушерства по теме № 179. Специальные исследования проведены в условиях кафедры акушерства ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГУ «Ставропольская межобластная ветеринарная лаборатория», СХПК «Россия», Новоалександровского района, СПК «им. Ворошилова», Труновского района, Ставропольского края.

В колхозе «Россия» на свиноматках крупной белой породы и нового заводского типа «Григорополисский – 1» проведено изучение ранней диагностики супоросности методом иммуноферментного анализа сыворотки крови (ИФА). Под наблюдением находилось 749 основных свиноматок, из них 100 голов были естественно осеменены и через 18-20 суток у них исследовалась кровь для определения ранней супоросности. Такое же исследование проведено у 5 свиноматок до осеменения и они служили контролем. У 10 свиноматок (5 супоросных, с ранним сроком беременности и 5 не осемененных) проводились гематологические и биохимические исследования крови для оценки клинического статуса животных. В качестве контроля нам служили также свиноматки, не оплодотворившиеся после осеменения.

Имуноферментный анализ проводили по следующей схеме: отбирали по 0,2 мл сыворотки крови в полиэтиленовые пробирки. Добавляли по 1 мл диэти-

лового эфира, закрывали пробирки пробками, интенсивно встряхивали в течение 1 минуты и помещали в емкость, содержащую смесь ацетона и сухого льда до замораживания водной фазы (данную манипуляцию проводили в холодильнике при температуре не выше чем  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Далее перелили эфирный экстракт во флаконы и поместили их на водяную баню при  $+37^{\circ}\text{C}$  до полного выпаривания эфира. Сухой остаток растворили в 50 мкл растворителя для анализируемых проб, добавили 325 мкл рабочего раствора промывочного буфера и использовали в ИФА. До использования хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Далее вскрыли упаковку со стрипами (с планшетом) и внесли во все используемые в работе лунки по 300 мкл промывочного буфера.

1. Удалили содержимое переворачиванием планшета или отсасыванием, таким образом, чтобы в лунке не осталось жидкости.

2. В лунки 1 и 2 ряда А вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей стандарт 0 нМ/л.

3. В лунки 1 и 2 ряда В вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей стандарт 1,0 нМ/л.

4. В лунки 1 и 2 ряда С вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей стандарт 3,0 нМ/л.

5. В лунки 1 и 2 ряда D вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей 10,0 нМ/л.

6. В лунки 1 и 2 ряда Е вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей 30,0 нМ/л.

7. В лунки 1 и 2 ряда F вносили по 150 мкл калибровочной пробы, содержащей 100,0 нМ/л.

8. В остальные лунки вносили по 150 мкл анализируемых образцов в дубликатах.

9. Во все используемые лунки планшета к растворам стандартов анализируемых проб приливали по 50 мкл раствора конъюгата.

10. Планшет закрывали крышкой и инкубировали в течение 30 минут в вибротермостате при температуре от  $+20$  до  $+26^{\circ}\text{C}$

11. По окончании времени инкубации из лунок удалили жидкость переворачивая планшет или отсасыванием. Незамедлительно после этого во все лунки планшета внесли по 30 мкл промывочного буфера, после чего жидкость из лунок вновь немедленно удалили отсасыванием.

12. Во все используемые лунки планшета внесли по 100 мкл раствора хромогена и инкубировали в течение 7 - 15 минут в термостате при температуре + 37 С.

13. Затем в те же лунки планшета внесли по 100 мкл стоп-раствора, для остановки ферментативной реакции.

Далее оценку результатов анализа проводили на спектрофотометре «УНИПЛАН», с длиной волны 450 нм.

При проведении гематологических исследований определяли в крови количество гемоглобина (при помощи гемометра Сали), эритроцитов и лейкоцитов (подсчет в счетной камере с сеткой Горяева), а так же интенсивность СОЭ (капиллярным способом с помощью аппарата Панченко) и характера лейкограммы (микроскопированием мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза с исчислением гемо-цитологического показателя по П.А. Волоскову и А.А. Сунайкину (П.А. Волосков, 1959), отражающего соотношение лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, т.е процессов возбуждения и торможения в центральной нервной системе.

Биохимические исследования сыворотки крови включали определение содержания: общего белка – рефрактометрически (ИРФ-22), общего кальция – по де-Варду, неорганического фосфора – по Бригсу и Юделовичу в модификации А.А. Анисимовой, щелочного резерва в плазме крови – диффузным методом по И.П. Кондрахину с соавт. (1985).

Наряду с основными исследованиями нами для сравнения проведено дополнительное изучение ультразвуковой диагностики супоросности в СПК «им. Ворошилова», Труновского района, где поголовье состоит из 250 основных и 250 проверяемых свиноматок крупной белой породы. Этот метод широко известен, однако в условиях Ставропольского края применяется в единичных хо-



зайствах, из-за отсутствия дорогостоящего оборудования. Поэтому результатов ранней диагностики беременности накоплено еще не достаточно.

В хозяйстве применяется искусственное осеменение свиней и ультразвуковая диагностика супоросности проводится на 21-23 сутки после осеменения. Работа по определению супоросности с помощью УЗИ, проводили прибором Palm Scan Enhanced (PharVision). Она состояла в следующем: исследование начинали с правой стороны свиноматки, животное во время исследования находилось в стоячем положении. Зонд, смазанный гелем, прикладывали в окрестностях паха, стараясь проникнуть в места, в которых находятся углы матки. Далее проводили сканирование, в результате которого на жидкокристаллическом мониторе были четко видны плоды свиноматки.

В качестве естественной стимуляции нами использованы хряки – пробники на поголовье 14 свиноматок основных (подопытных), 18 свиноматок (основных контрольных). А также 10 голов ремонтных свинок служили подопытными и 24 ремонтные свинки – контрольными. Стимуляция половой функции у свиней крупной белой породы проводили хряками-пробниками при ежедневных двухчасовых прогулках.

При стимуляции учитывали осемененных животных, число оплодотворившихся из них в первую охоту, во вторую охоту и оставшихся бесплодными.

Числовые данные обработаны методом критерия Стьюдента и линейной регрессии и корреляции в программе BIostat.

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Особенности племенной работы в СХПК «Россия»**

##### **Новоалександровского района, Ставропольского края**

СХПК «Россия» является высокорентабельным хозяйством, которое занимается не только растениеводством, молочным скотоводством, но и свиноводством. Статус Племенного завода по разведению свиней крупной белой породы был получен в 1979 г. за высокие показатели успешного ведения отрасли.

Племенное свиноводство в хозяйстве является одной из ведущих отраслей. В структуре валовой продукции оно занимает 18 – 20%. Рентабельность в последние годы составляет 29 – 30% (табл. 1).

Таблица 1. Экономические показатели животноводства в СХПК «Россия»

Наименование	Ед. измер.	2000-2005	2006-2008
Рентабельность производства, %	%	60,9	65
в том числе свиноводство	%	29	30
Стоимость валовой продукции с/х –ва в сопоставимых ценах 2004 г.	тыс. руб.	10 939	14 043

В хозяйстве имеются две свиноводческие племенные фермы, где содержатся: небеременные, супоросные и подсосные свиноматки, хряки-производители, а также ремонтный молодняк и подсвинки групп 2 – 4 месяца.

Все взрослое поголовье ежедневно получает активный моцион дважды в сутки – утром и вечером, по одному часу. Что позволяет обеспечить нормальное течение и проявление половых циклов у свиноматок, своевременное их оплодотворение, течение супоросности и успешное проведение опоросов при максимальной сохранности приплода.

В исследуемом хозяйстве строго соблюдается принцип “пусто-занято”. Промежуток между технологическими циклами составляет не менее семи дней, в течение которых производится механическая очистка, дезинфекция, мелкий ремонт и побелка. Ежедневно проводятся санитарные дни. За счет наличия летних корпусов есть возможность каждый год подвергать санации производственные корпуса в теплый сезон года.

Устоявшийся тип кормления - концентратный, в весенне-осенний период - малоконцентратный, за счет ввода в рацион люцерновой травы, свеклы, тыквы. В среднем доля концентратов составляет 80%. Основные компоненты рациона: ячмень, пшеница, горох, соя, кукуруза. Из грубых кормов используется травяная мука из люцерны, люцерновое сено; из сочных - свеклу, траву люцерны, витаминную тыкву. Корма животного происхождения представлены набором из цельного молока, рыбной, костной и мясо-костной муки.

В племколхозе «Россия» имеется мощный кормоцех, а на фермах - кормокухни. Зерносмеси измельчают до частиц размером 0,1 - 0,6 мм, что значительно повышает усвояемость кормов.

Поголовье свиней состоит из хряков в возрасте: до 12 мес. - 30 гол. (50%), хряков 24 - 36 мес. и старше, тоже 50 %. Численность свиноматок на сегодняшний день 1167 голов, из них до 24 мес. - 781 гол.(66,9%), 24 - 35 мес. - 209 гол. (17,9%), 36 мес. и старше - 177 гол. (15,2%).

О некоторых показателях свиней приводим материалы в табл. 2.

Таблица 2. Некоторые показатели свиней

Возраст животных, мес.	Колич.	Живая масса, кг		Длина туловища, см	
		min	max	min	max
Хряки, всего	78	-	-	-	-
в том числе до 12 мес.	41	178	218	156	169
18 - 23 мес.	2	276	289	167	180
24 мес.	21	231	302	170	184
36 мес. и старше	14	303	331	178	187
Свиноматки, всего	1167	-	-	-	-
в том числе до 18 мес.	654	176	221	151	159
18 - 23 мес.	162	183	240	147	168
24 - 35 мес.	168	198	254	153	167
36 мес. и старше	183	219	256	158	160

Анализ материалов таблицы позволяет отметить, что поголовье хряков и свиноматок находится в требуемых показателях.

Продуктивность свиноматок (табл. 3) в последние 3 года указывает на нормальную продуктивность и молочность животных.

Значительно увеличилась масса гнезда в 2-х месячном возрасте по группе свиноматок с одним опоросом - со  $193 \pm 1,82$  до  $209 \pm 3,7$ , а масса гнезда по группе свиноматок основного стада с  $206 \pm 3,1$  до  $213 \pm 2,1$ .

В стаде имеются такие свиноматки, многоплодие которых составляет 15 - 16 поросят, молочность свыше 70 кг, а живая масса гнезда в 2-х месячном возрасте свыше 250 кг. Это позволяет отметить, что есть возможность по совершенствованию работы в свиноводстве.

Таблица 3. Продуктивность свиноматок за 2006-2008 гг. СХПК «Россия»

Показатели	Годы		
	2006	2007	2008
	M±m	M±m	M±m
Матки с 1 опоросом, всего	205	238	211
Многоплодие, поросят	11,4±0,77	11,6±0,78	11,3±0,93
Колич. поросят в 2 мес.	10,3±0,06	10,1±0,05	10,9±0,07
Молочность, кг	63±0,53	61±0,41	67,±0,81
Масса гнезда в 2 мес. возрасте	193±1,82	196±2,34	209±3,7
Средняя живая масса 1 поросёнка, кг	18,7±0,89	19,1±0,11	19±1,7
Основные матки	315	427	384
Многоплодие, поросят	11,5±0,48	11,8±0,75	11,7±0,67
Колич. поросят в 2 мес.	10,9±0,73	11,1±0,65	11±0,97
Молочность, кг	68±0,48	65±0,51	69±0,58
Масса гнезда в 2 мес. возрасте	206±3,1	210±1,53	213±2,1
Средняя живая масса 1 поросёнка, кг	19,1±1,02	19,6±1,7	19,4±2,7

В хозяйстве взрослые свиноматки за период супоросности увеличивают живую массу на 35 – 40 кг, при среднесуточном привесе около 350 г., а молодые растущие свиноматки, соответственно 45 – 50 кг, при 400 г. среднесуточного прироста. Потребность взрослых супоросных свиноматок в протеине в расчете на 1 корм. ед. составляет 105 - 110 г, а молодых маток - 110 - 115 г.

Исследования, проведенные нами по стимуляции половой функции у свиней посредством ежедневных 2-х часовых прогулок с хряками-пробниками, оказывают положительное влияние (табл. 4).

Анализ представленной таблицы позволил установить, что оплодотворяемость основных и ремонтных свинок подопытных групп оказалась почти в двое выше, чем в контрольных группах. Таким образом, стимулируя половую охоту свиней посредством ежедневного контакта с хряками-пробниками во время мочона, можно существенно повысить показатели осеменения и опоросов.



### 3.2. Гематологические и биохимические показатели крови свиней

Гематологические исследования у не беременных и супоросных свиноматок позволили установить (табл. 5), что в целом показатели вполне удовлетворительны. Обращает на себя внимание некоторое снижение содержания гемоглобина по сравнению с нормой.

Таблица 5. Гематологические показатели крови свиней

Показатели	Ед. измер.	Норма	Свин. холост.	Свин. супорс.
Эритроциты	млн./мм	5.0-6.0	6.31±0.13	6.35 ±0.15
Лейкоциты	тыс./мм	12.0-16.0	13.9±0.61	13.2±0.59
Гематокрит	%	39.0-46.0	37.8±0.69	37,7±0,48
Гемоглобин	г/л	99-119	98.0±1.21	89,0±1,15
СОЭ	мм/ч	10-15	12.3±0.86	14,1±1,32
Базофилы	%	0.3-0.8	0.41±0.08	0,72±0,04
Эозинофилы	%	4-12	7.57±1.03	5,69±1,74
Юные	%	0-2	0.09±0.11	0,18±0,06
Палочкоядерные	%	3-6	2.25±0.37	2,94±0,56
Сегментоядерные	%	25-35	31.07±1.34	27,81±1,13
Лимфоциты	%	40-50	48.54±1.76	54,75±1,08
Моноциты	%	2-5	0.50±0.12	0,39±0,12

Биохимические показатели у исследуемых свиноматок приводятся

в табл. 6.

Таблица 6. Биохимические показатели крови свиней

Показатели	Ед. измер.	Норма	Свиноматки холостые	Свиноматки супоросные
Общий белок	г/л	75 - 84	67,1±2,3	65,1±1,90
Белковые фракции, в т.ч.				
-альбумины	%	40,0-50,0	46,5±0,87	32,8±0,91
-α-глобулины	%	14,0-20,0	13,3±0,59	22,4±0,71
-β-глобулины	%	16,0-21,0	13,4±0,61	11,3±0,59
-γ-глобулины	%	17,0-26,0	26,6±0,94	33,5±0,87
Глюкоза	ммоль/л	3,33-5,55	2,27±0,08	2,34±0,07
Щелочной резерв	об/ СО <sub>2</sub>	45,0-55,0	55,3±2,3	50,3±1,9
Кальций общий	ммоль/л	2,5 - 3,0	2,70±0,18	2,75±0,08
Фосфор неорганический	ммоль/л	1,6 - 2,2	1,79±0,10	1,76±0,09
Отношение Са:Р	Ед.	1,6 - 2,0:1	1,52±0,14	1,51±0,22
Железо	ммоль/л	3,6 - 7,2	5,92±1,62	5,77±1,56

Анализ материалов таблицы 6 позволяет отметить, что у холостых и супоросных свиноматок содержание общего белка несколько ниже нормы. Альбумины снижены у супоросных свиноматок,  $\beta$ -глобулины ниже нормы у холостых и супоросных. А  $\gamma$ -глобулины превышают верхнюю границу нормы как у холостых, так и у супоросных свиноматок, что является положительным фактором.

### 3.3. Иммуноферментный анализ ранней диагностики супоросности и его эффективность

Иммуноферментный анализ нами применен для ранней диагностики супоросности у свиней. Под опытом находилось 749 свиноматок, из них 100 голов были естественно осеменены, и через 18 – 20 суток у них исследовалась кровь на содержание прогестерона. Такое же исследование проведено у 5 контрольных свиноматок до осеменения. В качестве контроля нам служили также свиноматки, не оплодотворившиеся после осеменения.

Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили по методике, изложенной ранее. Материалы по ИФА приведены в таблицах 7, 8, 9 и на рисунке 1.

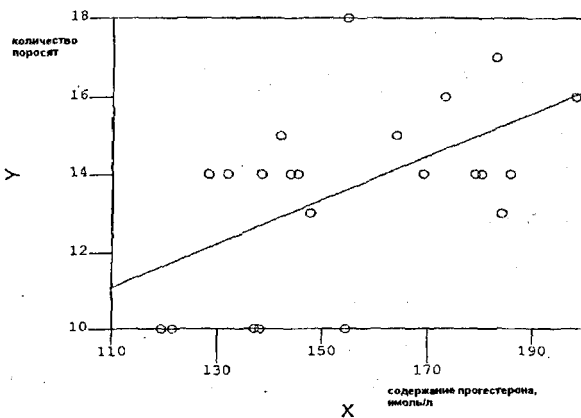


Рис. 1. Линейная корреляция между количеством прогестерона и многоплодием.

Таблица 7. Концентрация прогестерона (нмоль/л) у супоросных свиноматок

Показатели	1 группа (n=21)	P1	2 группа (n=23) опытная	P2	3 группа (n=36) опытная	P3
	M±m		M±m		M±m	
Прогестерон, нмоль/л	164,2±4,24	<0,05	152,6±2,42	<0,05	149,2±2,76	<0,05

Примечание: P1 – уровень достоверности между 1 и 2 группами, P2 – между 2 и 3 группами, P3 – 1 и 3 группами.

Анализ материала табл. 7 позволяет отметить, что в первой группе, состоящей из 21 свиноматки, уровень прогестерона в сыворотке крови находится в пределах 164,2±4,24 нмоль/л с достоверностью  $P < 0,05$ , во второй группе из 23 свиноматок, соответственно 152,6±2,42 с достоверностью  $P < 0,05$ , и в третьей группе уровень прогестерона был равен 149,2±2,76, при  $P < 0,05$ .

Таблица 8. Концентрация прогестерона у контрольных свиноматок

Показатели	Беременные (n=80)	P1	Неоплодотворившиеся (n=9)	P2	Небеременные до осеменения (n=5)	P3
	M±m		M±m		M±m	
Прогестерон, нмоль/л	155,3±2,66	<0,001	39,0±0,73	<0,001	29,83±4,66	<0,05

Примечание: P1 – уровень достоверности между 1 и 2 группами, P2 – между 2 и 3 группами, P3 – 1 и 3 группами.

Анализ результатов исследования, приведенных в таблице 8 позволяет отметить, что концентрация прогестерона в сыворотке крови у супоросных составляет 155,3±2,66, а у не оплодотворившихся (не беременных) соответственно 39,0±0,73 нмоль/л, и у не беременных до осеменения этот показатель составлял 29,83±4,66. Следовательно, ранняя диагностика супоросности вполне может проводиться методом ИФА. Тем более что кроме исследования сыворот-



ки крови на прогестерон мы учитывали опорос и количество поросят при рождении. Это дополнительно подтверждает правильность поставленного диагноза методом иммуноферментного анализа. В целом оплодотворяемость основных свиноматок в хозяйстве составляет – 89,4%.

Представляет особый интерес уровень прогестерона и его связь с плодовитостью свиноматок (табл. 9).

Таблица 9. Уровень прогестерона и его связь с плодовитостью свиноматок

Группы свиноматок	п, гол.	Прогестерон, нмоль/л	Количество поросят на 1 свиноматку, гол.		
			всего	деловых	мертворожденных
1	17	158,3±5,22	14,84±0,34	13,56±0,36	1,21±0,51
P		<0,05	<0,001	<0,001	
2	7	134,2±6,39	10,86±0,55	10,86±0,55	0
P		<0,001			
3	5	38,61±1,17	0	0	0

Примечание: 1 группа – свиноматки с повышенным содержанием прогестерона,

2 группа – свиноматки с нормальным содержанием прогестерона,

3 группа – свиноматки с пониженным содержанием прогестерона.

Из материалов табл. 9 видно, что прогестерон в первой группе (17 свиноматок) содержится в пределах 158,3±5,22 нмоль/л, поросят получено на каждую свиноматку 14,84±0,34, в том числе деловых 13,56±0,36, мертворожденных 1,21±0,51, достоверность по всем показателям этой группы высокая. Соответственно во второй группе из 7 голов свиноматок с более низким уровнем прогестерона у супоросных свиноматок (134,2±6,39), поросят получено 10,86±0,55, в том числе все они были деловыми и мертворожденные отсутствовали. В контрольной группе из 5 голов, у не осемененных уровень прогестерона составлял 38,61±1,17. Достоверность между 1 и 2 группами составляет  $P \leq 0,05$ , и между 2 и 3 –  $P \leq 0,001$ .

Мы считаем, что у свиноматок с более высоким содержанием прогестерона, больше созревает и овулирует фолликулов, и соответственно образуется желтых тел, но у многоплодных животных чаще встречаются мертворож-

денные поросята.

У свиноматок с уровнем прогестерона  $134,2 \pm 6,39$  нмоль/л, по сравнению с первой группой, поросят на 4 головы было меньше на каждую свиноматку, однако мертворожденных среди них не было.

Изучая корреляцию между количеством прогестерона и многоплодием свиноматок нами установлено: на рисунке 1 показана линейная корреляция между количеством прогестерона и многоплодием, коэффициент которой составляет 0,55 при  $P < 0,5$ . Этот показатель также подтверждает высокую эффективность метода ранней диагностики супоросности у свиней, предлагаемого нами с помощью ИФА.

Наряду с диагностикой супоросности мы установили эффективность ИФА при определении бесплодия свиноматок (табл. 10).

Таблица 10. Эффективность ИФА для диагностики бесплодия у свиноматок

Показатели	1 группа подопытная (супоросные) (n=80)	P <sub>1</sub>	2 группа контрольная (до осеменения) (n=5)	P <sub>2</sub>	3 группа бесплодная (неоплодотв орившиеся) (n=9)	P <sub>3</sub>
	M±m		M±m		M±m	
Прогесте- рон, нмоль/л	155,3±2,66	<0,05	29,83±4,66	<0,05	39,0±0,73	<0,05

Материалы таблицы показывают, что иммуноферментный анализ сыворотки крови применим не только для супоросности через 18-20 дней после осеменения, но и в целях выявления бесплодия у осемененных свиноматок. Так, у супоросных уровень прогестерона составляет  $155,3 \pm 2,66$  нмоль/л; у контрольных свиней до осеменения соответственно  $29,83 \pm 4,66$  ( $p < 0,05$ ), а у осемененных, но неоплодотворившихся он равен  $39,0 \pm 0,73$  ( $p < 0,05$ ), то есть почти в четыре раза меньше, чем у беременных.

На основании результатов исследований, нами сделан вывод о том, что

ИФА по определению прогестерона в сыворотке крови свиней с использованием специализированных наборов, является методом информативным с высокой точностью анализов, его смело можно рекомендовать для диагностики беременности и бесплодия, начиная с 18 – 20 суток после осеменения. При этом точность диагноза на беременность составляет 98,34%, на бесплодие – 98,70%.

### 3.4. Ультразвуковое сканирование маток у свиней

В СПК Колхозе им. Ворошилова, Труновского района, Ставропольского края проведена ранняя диагностика супоросности. В хозяйстве насчитывается 2500 свиней, из них 250 основных и такое же количество проверяемых свиноматок. Свиноматок осеменяют в возрасте 8 месяцев. Для диагностики ранней супоросности используется ультразвуковое исследование (УЗИ). Переносной сканер УЗИ с монитором внедрен в хозяйство и им свободно пользуются техники по искусственному осеменению. Через 21 – 23 дня после осеменения свиноматок подвергают исследованию. В результате исследования практически все оплодотворившиеся свиноматки выявляются. Из 100 осемененных свиноматок выявляются, как правило, 75 оплодотворившихся, достоверность составляет 95 %. Этот метод диагностики прост в использовании, но аппаратура дорогостоящая и не все хозяйства могут ее приобрести. Кроме того, по сравнению с иммуноферментным анализом, им нельзя выявить качественные показатели в период беременности.

Таким образом, внедрение иммунологического теста для диагностики беременности и бесплодия свиноматок позволяет значительно сократить потери при воспроизводстве.

#### 4. ВЫВОДЫ

1. Установлено, что иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови у исследуемых свиноматок позволяет определить уровень прогестерона, по которому возможно ставить диагноз на беременность или бесплодие.

2. Использование иммуноферментного анализа для диагностики беременности предусматривает определение прогестерона в сыворотке крови свиноматок (на 18-20 сутки после осеменения) в количестве  $149,2 \pm 2,76$ - $164,2 \pm 4,24$  нмоль/л.

3. Иммуноферментный анализ сыворотки крови свиноматок применяли для установления плодовитости. Уровень прогестерона у свиноматок, имеющих в гнезде  $14,84 \pm 0,34$  поросят ( $p < 0,001$ ) концентрация прогестерона находится в пределах  $158,3 \pm 5,22$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), а у животных имеющих  $10,86 \pm 0,55$  поросят ( $p < 0,001$ ) соответственно  $134,2 \pm 6,39$  нмоль/л ( $p < 0,001$ ).

4. Диагностика бесплодия у свиноматок по содержанию прогестерона в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) является высокоэффективным. У супоросных свиной уровень прогестерона находится в пределах  $155,3 \pm 2,66$  ( $p < 0,05$ ), а у бесплодных соответственно  $39,0 \pm 0,73$  ( $p < 0,05$ ). У контрольных животных, до осеменения концентрация прогестерона низкая ( $29,8$  при  $3 \pm 4,66$ , при  $p < 0,05$ ).

5. Диагностические возможности ультразвукового сканирования матки у свиной через 21-23 дня после осеменения заслуживают внимания, однако ИФА позволяет шире рассматривать физиологические процессы в период беременности.

#### 5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для ранней диагностики супоросности применять иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови через 18-20 суток после осеменения и при наличии концентрации прогестерона свыше 110 нмоль/л, считать животных бе-

ременными.

2. У бесплодных свиноматок, неоплодотворившихся после осеменения, учитывать уровень прогестерона в сыворотке крови, который составляет в пределах 40 нмоль/л.

3. В целях повышения оплодотворяемости применять общение свиноматок с хряками – пробниками ежедневно во время моциона по два часа дважды в сутки.

4. Материалы наших исследований рекомендуется использовать при проведении научно-исследовательских работ по решению проблем воспроизводства свиней и в учебном процессе вузов.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Рачков, И.Г. Влияние сезона года и режима использования на спермопродукцию хряков-производителей / И.Г. Рачков, В.В. Семенов, А.С. Сигида, Л.М. Смирнова, В.А. Корнилов, Д.Н. Мытарев // Животноводство – продовольственная безопасность страны: Сб. науч. тр. / СНИИЖК. – Ставрополь, 2006. – С.99 – 102.

2. Семенов, В.В. Репродуктивные качества свиней при чистопородном разведении и гибридизации / В.В. Семенов, Л.М. Смирнова, В.А. Корнилов, Д.Н. Мытарев, М.В. Булавинова // Животноводство – продовольственная безопасность страны: Сб. науч. тр. / СНИИЖК. - Ставрополь, 2006. – С.112-113.

3. Мытарев, Н.И. Качество спермопродукции хряков в зависимости от стресс –реакции их организма/Н.И. Мытарев, К.И. Юрченко ,И. Рачков, Д.Н.Мытарев // Свиноводство №4.- 2007.-С.25-26.

4. Никитин, В.Я Ранняя диагностика беременности у свиноматок с помощью иммуноферментного анализа / В.Я. Никитин, Д.Н. Мытарев // Российский ветеринарный журнал. Спец. вып. / Ставрополь, «Агрус».-2007.–С. 41.

5. Никитин, В.Я. Опыт естественной стимуляции половой охоты у свиней крупной белой породы / В.Я. Никитин, Д.Н. Мытарев // Российский ветеринар-

ный журнал. Спец. вып. / Ставрополь, «Агрус». – 2007.–С. 41–42.

6. Никитин, В.Я. Диагностика беременности свиней/В.Я. Никитин, Д.Н. Мыгарев // Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации: Сб. науч. тр. / Ставрополь, «Сервисшкола».–2008.–С. 85 – 88.

7. Никитин, В.Я. Диагностика беременности у свиноматок по количеству гормона прогестерона в сыворотке крови / В.Я. Никитин, Д.Н. Мыгарев // Российский ветеринарный журнал. /М.: КолосС, 2009.-с. 4.

Мытарёв Дмитрий Николаевич

**РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА БЕРЕМЕННОСТИ СВИНЕЙ МЕТОДОМ  
ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (ИФА)**

Подп. в печать 22.05.2009. Бумага офсетная. Формат 60/84 1/16

Зак. 041. Усл. изд. лист 1,0. Тираж 100 экз.

---

Цех оперативной полиграфии СНИИЖК

г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 15.