



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **94479** (13) **C2**
(51) **МПК (2011.01)**
G01N 33/48
A01K 67/02 (2006.01)
A61D 19/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТАДІЇ ЕСТРУСУ У НОРОК КЛІТКОВОГО РОЗВЕДЕННЯ

1

2

(21) а200903611

(22) 13.04.2009

(24) 10.05.2011

(46) 10.05.2011, Бюл.№ 9, 2011 р.

(72) ГОНЧАР ОЛЕКСІЙ ФЕДОРОВИЧ, ГАВРИШ
ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ

(73) ЧЕРКАСЬКИЙ ІНСТИТУТ АГРОПРОМИСЛОВОГО
ВИРОБНИЦТВА УААН

(56) SU 1065777 A, 07.01.1984

RU 2048767 C1, 27.11.1995

Чекалова Т.М. Эффективность селекции по воспроизводительной способности у песцов и лисиц в условиях их клеточного разведения на специализированных зверофермах // Вестник ВОГиС.- 2007. - Том 11, №1. - С. 195-203

Ахмадеев А.В. Структурная организация и показатели нуклеиново-кислого обмена в нейронах заднего отдела миндалевидного комплекса мозга в

различные фазы эстрального цикла //.- Ж.: Фундаментальные исследования. - 2004. - № 4. - С. 24-27

(57) Спосіб визначення стадії статевого циклу у норок кліткового розведення, що передбачає аналіз мікроскопічного складу цервікального слизу, взятого у самок в період підготовки та проведення сезону паруваль, шляхом визначення кількісного і якісного складу клітин епітелію та їх співвідношення, який **відрізняється** тим, що встановлюють кількісний та якісний склад таких клітин епітелію, як парабазальні, дрібні й великі проміжні та поверхневі епітеліальні, визначають індекс дозрівання клітин (%), розміщення клітин, кількість клітин з нормальними ядрами, кількість лейкоцитів та поведінку самки, й за одержаними даними встановлюють стадію статевого циклу згідно із табл. 1 опису.

Винахід відноситься до галузі сільського господарства і може знайти застосування в норківництві для виявлення стадії еструсу у самок норок під час підготовки та проведення гону в умовах господарств різних форм власності.

Недостатнє знання поведінки звірів та помилки обслуговуючого персоналу під час проведення гону веде до надмірних затрат праці та зниження показників відтворення. Все це зумовило необхідність пошуку додаткових методів оцінки стадій статевого циклу самок. Найбільш доцільним і селективним є метод дослідження мазків піхового слизу, який дозволяє вести масові спостереження за тваринами в звичайних умовах їх утримання.

Найбільш близьким аналогом винаходу, що заявляється є методика, для визначення стадії еструсу у песців кліткового розведення, яка також базується на визначенні стадії естрального циклу самок за мікроскопічними показниками цервікального слизу, відібраних в період проведення сезону паруваль [Чеканова Т.М. Совершенствование технологии разведения песцов / Т. М. Чеканова // Эк-

спресс информация. Серия: «Кооперативное звероводство». - М., 1978. -№ 3. - 17 с.].

Методика базується на визначенні стадії еструсу, шляхом взяття мазків цервікального слизу в статевих шляхах самок перед проведенням та під час гону за мікроскопічними показниками клітин епітелію. Піховий епітелій ссавців є чутливим індикатором гормональної стимуляції як ендогенного так і екзогенного походження. В період естрального циклу змінюються гормональний фон організму самки: в першій фазі циклу ростучий (фолікул виділяє естрогени; в другій - утворюється жовте тіло та виділяє прогестерон. Все це змінює піховий епітелій наступним чином. В період анаеструсу (статевому спокої) епітелій піхви складається з кількох шарів клітин. В першій половині естрального циклу під дією естрогенів відбувається потовщення епітелію за рахунок росту кількості клітин з одночасно їх диференціацією. В кінці фолікулінової фази циклу, перед овуляцією епітелій піхви складається з морфологічно-різних кліткових шарів: парабазального, проміжного та поверхневого.

(13) **C2**

(11) **94479**

(19) **UA**

Дослідження проводиться під мікроскопом при збільшенні у 150 раз, з використанням барвників Гінза - Романовського. При оцінці мазків враховуються наступні параметри: кількість та співвідношення епітеліальних клітин, їх розміщення, відсоток клітин з нормальним ядром, кількість лейкоцитів, кількість та якість слизу. Злуцнені епітеліальні клітини в піхвовій слизі за розміром поділяються на чотири групи: парабазальні - дрібні, по розміру - 16 мк, рівні лейкоцитам з великим пухироподібним ядром; дрібні проміжні клітини - розміщені над парабазальним і відрізняються від них більшим розміром (16-26 мк); великі проміжні клітини - мають великий розмір (27-40 мк), ядра плоскі; поверхневі епітеліальні клітини - до 60 мк, багато з них не мають ядер, велика кількість цих клітин в мазках появляється при наявності вираженої естрогенної активності.

В основу винаходу поставлена мета розроблення методики виявлення стадії еструсу у самок норок в період гону шляхом мікроскопічного дослідження церві кального слизу, для об'єктивного визначення готовності звірів до розмноження та оптимальних термінів проведення паруваль.

Запропонована методика забезпечує об'єктивне визначення стадії естрального циклу у норок

кліткового розведення, зниження травматизму звірів, які не готові до проведення паруваль, а також економії часу та фізичної праці звіроводів, що є неможливим при використанні суб'єктивної візуальної оцінки стану статевих органів та поведінкових реакцій норок в цей період.

В другій фазі естрального циклу у самок норок, коли дія естрогену різко знижується та починається секреція прогестерону, відбувається активне злуцнування епітелію. Верхня третя частина епітелію в цей час чітко виражена пластинчаста та злуцнуються цілі шари поверхневих клітин. І-Іа протязі всього циклу відбувається злуцнування клітин різного ступеню диференціації, але в першій його половині ріст кількості клітин (проліферація) переважає над злуцнуванням (ексфоціація), а в другій переважає останнє. Внаслідок чого в кінці метеструсу товщина епітелію майже така як і на вихідному рівні. На вивчені відторгнутих клітин піхвового епітелію, який вже відреагував на суму гормонального впливу і будується гормональна цитодіагностика.

Зміни показників мазків церві кального слизу, вульви та поведінки звірів на різних стадіях естрального циклу висвітлені в табл. 1.

1. Зміни піхвових мазків, вульви та поведінки звірів в період естрального циклу

Стадії циклу	Індекс дозрівання %	Розміщення клітин	Клітини з нормальними ядрами, %	Кількість слизі	Кількість лейкоцитів	Поведінка самок
Спокій	-	окремо	-	с	10-40	Агресивна
Проеструс-0	-	окремо	-	сс	10-40	Агресивна
Проеструс-1	30/50/20/0	групами	90	сс	-	Агресивна
Проеструс-2	10/50/40/0	групами	80	сс	-	Агресивна
Проеструс-3	0/20/40/40	групами	50	с	-	Прояв статевої охоти
Еструс - 1	0/0/40/60	окремо	30	-	-	Прояв статевої охоти
Еструс - 2	0/0/20/80	окремо	10	-	-	Прояв статевої охоти
Еструс - 3	0/0/0/100	аглютинація	>10	-	-	Прояв статевої охоти
Метеструс - 1	0/0/20/80	аглютинація	30	ссс	10-20	Прояв статевої охоти в окремих випадках
Метеструс - 2	0/0/70/30	окремо	80	сс	500-1000	Агресивна
Метеструс - 3	0/30/70/0	окремо	90	с	40-50	Агресивна

Слиз в мазках присутній на протязі всього циклу. Але його кількість та інтенсивність забарвлення змінюється. В стані спокою та проеструсі мазки містять середню кількість слизу (оцінка кількості за трьохбальною системою: С - мало, СС - середня кількість, ССС - багато). Зазвичай він у вигляді желатинової плівки, середньої інтенсивності забарвлення. На початку метеструсу в мазках спостерігається багато темнозабарвленого ниткоподібного слизу, який в подальшому починає забарвлюватися менш інтенсивно та набуває вигляду дрібних крупинок. Оскільки характер зміни слизу зберігається не у всіх мазках (63 %), то цей показник використовується тільки як допоміжний при оцінці мазка.

В період статевого спокою до початку проеструсу мазки мають однорідний склад - малі ядра,

залишки протоплазми малих проміжних клітин і невелика кількість лейкоцитів.

Склад мазка в проеструсі-0 залишається таким як і в стані спокою. Самка агресивно реагує на самця.

Проеструс-1 (рис. 1). Стадія чітко відрізняється від попередньої. В мазках появляються парабазальні, дрібні проміжні клітини, розташовані невеликими групами. Загальна кількість клітин швидко зростає. В 6% мазків зустрічаються одиночні лейкоцити.

Проеструс-2. Кількість парабазальних клітин зменшилась, а великих проміжних збільшилась у порівнянні до проеструсу-1. Клітини розташовані великими групами, границі їх часто чітко окреслені, ядра добре виражені, 10% клітин мають пікнотичні ядра.

Проеструс-3. В мазках переважають великі проміжні клітини та pojawiaються поверхневі, парабазальні зникають повністю, а кількість малих проміжних значно зменшується. У 50 °А) клітин ядра нормальні. Слизу майже немає, лейкоцити відсутні. В кінці цього періоду самці активно переслідують самок, самки проявляють видимі ознаки статевої охоти.

Еструс-1. В мазках збільшується кількість поверхневих клітин з зміненими ядрами та без них. Більшість клітин розташовані групами по 2-3 та настільки прозорі, що при накладенні однієї на іншу, границі нижньої чітко видно. Слиз та лейкоцити відсутні. Більшість самок покриваються.

Еструс-2. В мазку майже одні поверхневі клітини зі зміненими ядрами та без них. Клітини розташовані на деякій відстані одна від іншої, іноді окремі клітини подібні між собою. Розмір їх максимальний, тому в поле зору попадає невелика кількість до (до 5-7 клітин), це свідчить про те, що на цій стадії злущування епітелію майже не проходить. Слиз та лейкоцити відсутні. Загальний вид мазка чистий, прозорий. На цій стадії проходить максимальна кількість парувань.

Еструс-3. Між поверхневими клітинами спостерігається аглютинація, вони мутніють, інтенсивніше забарвлюються. Ядро видно не чітко. Місцями в мазку цілі пластини поверхневих клітин, границі клітин нечіткі. Слиз та лейкоцити відсутні. Самки проявляють статево охоту.

Метеструс-1. Поверхневі клітини представляють собою однорідну масу, в якій практично неможливо простежити границі окремих клітин та ядер. Вони набрякли та починають руйнуватися. Появляються округлі проміжні клітини з невеликими ядрами. Структура останніх чітко виражена. В мазках з'являється густий, темнозабарвлений ниткоподібний слиз. На цій стадії проходить повторне парування.

Метеструс-2. В мазку слизу з'являється велика кількість лейкоцитів, між ними розташовані клітини різного діаметру та різної інтенсивності забарвлення. Ядра великі з чітким малюнком. На цій стадії спостерігаються пухирчатовидні клітини, а також інфільтровані лейкоцитами. Місцями ще зустрічаються групи поверхневих клітин, що руйнуються. Слизу виділяється менше. За таких умов покриття самок самцями бувають дуже рідко.

Метеструс-3. Кількість округлих клітин і лейкоцитів зменшується. Округлі поверхневі клітини невеликого розміру зовсім не зустрічаються. Спостерігається незначна кількість крупиноподібного слизу. Аналогічна картина мазка спостерігається і на ранніх стадіях вагітності. В цей час самки не підпускають самців.

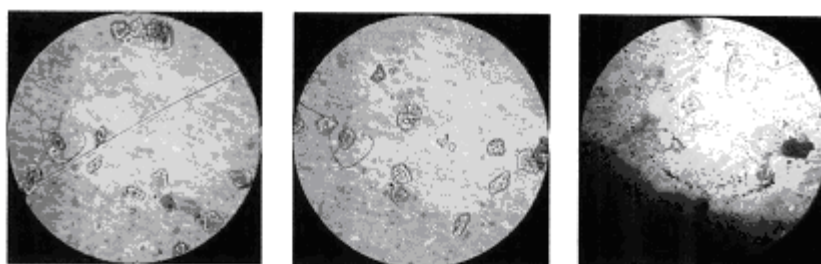
Найбільша кількість епітеліальних клітин в мазках слизу, а відповідно і найбільше злущування цих клітин із стінок піхви відбувається всередині проеструсу та початку метеструсу.

Розмір епітеліальних клітин, починаючи з проеструсу поступово збільшується до початку метеструсу, а потім різко зменшується. Це пояснюється тим, що поверхневі клітини інтенсивно злущуються на початку естрального періоду і швидко виводяться із піхви. У більш пізній період метеструсу злущуються уже проміжні клітини, розмір яких значно менший від поверхневих.

Кількість лейкоцитів різко зростає в метеструсі, поява великої кількості можна вважати характерною ознакою цього періоду циклу.

Використання даного способу діагностики перебігу статевого циклу самок забезпечує підвищення продуктивності праці звіроводів в період проведення гону та дозволяє проводити вибірково самок непридатних до розмноження.

Спосіб визначення стадії еструсу у норок кліткового розведення пройшла апробацію в умовах звірогосподарства «Золотоніське» Золотоніського району Черкаської області.

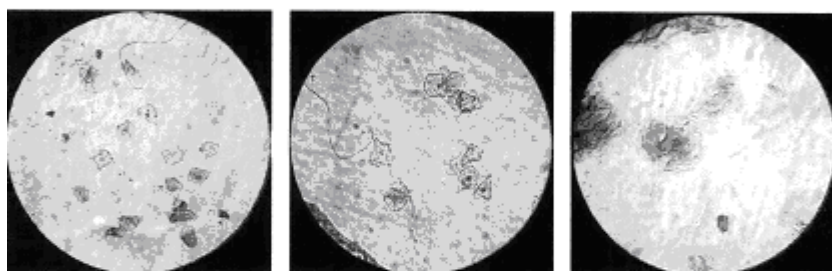


а

б

в

Стадія про еструсу, фази: а – проеструс-1; б - проеструс-2; в - проеструс-3.

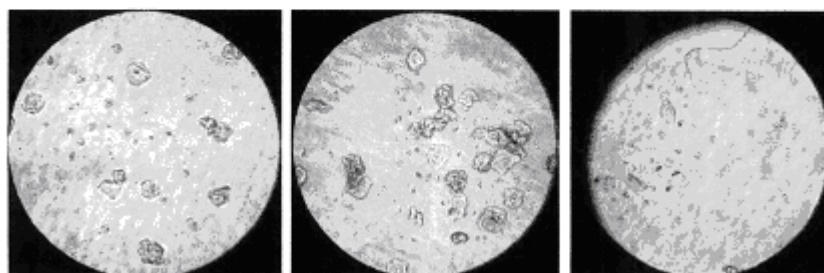


г

д

е

Стадія еструсу, фази: г – еструс-1; д - еструс-2; е - еструс-3.



є

ж

з

Стадія мете еструсу, фази: є – метеструс-1; ж - метеструс-2; з - метеструс-3.

Стадія естрального циклу самок норок

Фіг.1