

УДК 636.2:591.469:591.146

Скляр О.І., канд. вет. наук, доцент © (Sklyr 19-56 @ i.ua)
Сумський НАУ**ВДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ФАРБУВАННЯ МАЗКІВ МОЛОКА
(СЕКРЕТУ) ВИМ'Я КОРІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ
СОМАТИЧНИХ КЛІТИН ПРИ СУБКЛІНІЧНОМУ МАСТИТІ**

У даній статті розглянуте питання з удосконалення методів фіксації та фарбування мазків молока (секрету) вим'я корів при субклінічному маститі для підрахунку соматичних клітин мікроскопічним методом Прескотта-Бріда. Визначений найбільш ефективний, зручний у використанні та економічно вигідний реактив – 82%-ний денатурований етанол. Розглянуті недоліки раніше запропонованих хімічних реактивів для фіксування та фарбування мазків молока (секрету) вим'я корів.

Ключові слова: соматичні клітини, денатурований етанол 82%, етиловий спирт, метиловий спирт, етиловий ефір, електронний лічильник, димастин, мастидин, каліфорнійський тест.

Вступ. Соматичні клітини молока – це показник, який дає змогу визначити субклінічний мастит в корів, домішок аномального молока в загальному надої від групи корів. Крім того, дослідження кількості соматичних клітин в загальному надої з ферми в розвинених країнах використовується як ефективний засіб для керування маститною ситуацією в стаді та для прогнозування молочної продуктивності корів.

Встановлено, що при збільшенні кількості соматичних клітин в секреті вим'я корів зменшується продукування молока. Існують відповідні розрахунки для використання кількості соматичних клітин для обчислення зменшення молочної продуктивності корів [3].

Таким чином кількість соматичних клітин є важливим показником в молочній галузі і цей показник активно використовується в програмах покращення якості молока в країнах ЄС та СOT.

В Україні також соматичні клітини є обов'язковими щодо визначення в збірному сирому молоці корів під час його здавання на молокоприймальні пункти та молокопереробні підприємства. Так, при здачі – прийманні сирого молока згідно з ДСТУ 3626-97 «Молоко коров'яче – сировина. Технічні умови» Кількість соматичних клітин в молоці гатунку «Екстра» та «Вищий» повинно бути не більше 400000 сом.кл./см³, а для другого гатунку ця кількість повинна бути не більше за 600000 сом. кл/см³ [5].

Соматичні клітини молока корів складаються в основному з епітеліальних клітин та лейкоцитів [4]. За кількістю соматичних клітин контролюють молоко з метою недопущення для харчових цілей продукції від маститних корів. Санітарний контроль якості молока забезпечує щоденне достовірне тестування

стану здоров'я вим'я окремих стад в цілому без проведення в товарних стадах достатньо трудомістких ветеринарних заходів. З усіх змін, що відбуваються в молоці при запальних процесах у молочній залозі найбільш загальною постійною і значною зміною є збільшення кількості соматичних клітин. Їх кількість залежить від здатності хвороботворних бактерій до росту та розмноження в молочній залозі, розмірів пошкодження тканини вим'я, захисної функції організму[2].

Для підрахунку соматичних клітин використовуються наступні методи:

- використання електронних лічильників;
- використання швидких маститних тестів таких, як мастидин, димастин, 4%р-н NaOH, каліфорнійський маститний тест та інші;
- мікроскопічний метод підрахунку соматичних клітин в мазку молока (секреті) вим'я.

З усіх вищеперерахованих методів останній метод вважається найбільш точним і надійним, він використовується як арбітражний. На жаль, в Україні він маловідомий і майже не використовується, хоча, за міжнародними вимогами, його використання в певних випадках є обов'язковим.

Основним мікроскопічним методом підрахунку соматичних клітин є метод Прескотта–Бріда.

Сутність даного методу полягає у прямому підрахунку соматичних клітин у мазку секрету вим'я корів після їх фарбування під мікроскопом.

Відомі способи фарбування мазків молока (секрету) вим'я корів при субклінічному маститі для підрахунку кількості соматичних клітин ISO 13366-1:2008, але цей метод ще не є чинним в Україні, оскільки на даний час на його основі розроблено тільки проект ДСТУ.

В зазначених методиках використовується фіксація мазків молока (секрету) вим'я різними реактивами.

Недоліками відомих способів фарбування мазку молока (секрету) вимені корів є те, що:

1. Для фіксації та фарбування мазків застосовуються токсичні речовини, при яких необхідно строго дотримуватися правил техніки безпеки та санітарного стану.
2. Не досягається сто відсоткові гарантії отримання якісного мазку.
3. Досить часто, навіть при використанні нових предметних скелець, які підготовлені за стандартною методикою[1]. Не вдається провести надійну фіксацію мазків і при зануренні їх у барвник велика кількість мазків зповзає із скельця і ефективність фіксації мазків складає 75 – 85 відсотків.
4. Для предметних скельцями, які були у використанні необхідно досить багато часу і хімічних реактивів для їх знежирення, але також не відмічається 100% результату.
5. При використанні запропонованих хімічних речовин для фіксації мазків молока (секрету) вимені корів при зануренні мазка в реактиви

останні випаровуються розчиняють позначки та підписи, які зроблені маркером на предметному склі для ідентифікації.

6. Маточний розчин барвника етидіум бромід може зберігатися не довше ніж протягом двох місяців при температурі $2^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, в темноті.

В цих методах в якості фіксатора використовується етанол 95% та тетрахлоретан (отруйний) які входять до складу барвника. Приготування барвника необхідно здійснювати у витяжній шафі. Для захисту шкіри рук необхідно користуватися рукавичками.

Матеріали та методи дослідження. Вдосконалення способу фіксування та фарбування мазків молока (секрету) вим'я корів для дослідження кількості соматичних клітин мікроскопічним методом.

Матеріали та методи дослідження. Матеріалом для дослідження було молоко (секрет) вим'я корів при субклінічному маститі. Методом дослідження було фіксація та фарбування мазку молока (секрету) вим'я корів при дослідженні кількості соматичних клітин методом Прескотта–Бріда. Предметні скельця на яких робилися мазки готували за загальноприйнятою методикою. Перед роботою скельця доставали пінцетом із суміші для зберігання скелець (спирт ефір в рівних кількостях) висушували та робили мазки молока (секрету) вим'я. Для приготування мазку на попередньо розмічене предметне скло площею 1cm^2 наносили досліджуване молоко (секрет) вим'я, потім голкою рівномірно розтирали по всій площі квадрату. Мазки висушували на повітрі при кімнатній температурі. Після висушування мазки фіксували в денатурованому етанолі 82% концентрації (Скляр О.І. та інші). Мазки фарбували за Романовським-Гімзою.

Результати дослідження. Нами опрацьована велика кількість наукової літератури щодо фарбування та фіксації мазків молока (секрету) вим'я корів, де пропонуються різні методи та реактиви[1]. Також ми проводили фарбування мазків молока (секрету) різними способами як стандартними, так і новітніми (Ньюмана-Ламперта), порівняли їх ефективність оцінювали зручність у використанні (табл.1)

Таблиця 1

Результат використання різних реактивів для фіксації та фарбування мазків молока (секрету) вим'я корів.

№	Реактиви для фіксації	К-ть мазків	К-ть мазків придатних для підрахунку сом. клітин після фарбування	%
1	Етиловий спирт	100	73	73
2	Етиловий спирт + Етиловий ефір порівну	100	79	79
3	Метилловий спирт	100	81	81
4	Денатурований етанол 82%	100	100	100

Як видно із таблиці 1, найкращим реактивом для фіксації мазків виявився денатурований етанол 82%. Так, при використуванні денатурованого 82% етанолу ефективність фіксування склало 100%. Поряд з 100% ефективністю для фіксації денатурований 82% етанол є малотоксичною речовиною, що дає

можливість практично працювати без застережень. При потраплянні денатурованого етанолу 82%-ного на шкіру і навіть на слизові оболонки для його нейтралізації достатньо промити місце потраплення проточною водою. Незалежно від того предметні скельця були у використанні чи ні, достатньо їх підготувати за загальноприйнятою методикою і вони придатні для використання. При використанні мазків денатурований 82% р-н етанолу не пошкоджує позначки на скельцях, які зроблені для їх ідентифікації. Час фіксування мазків при кімнатній температурі складає 20-25 хвилин. В одному об'ємі 82% р-ну етанолу можна фіксувати до 50-70 мазків, що є економічно вигідним. Нижче наведені приклади фарбування мазків різними реактивами.

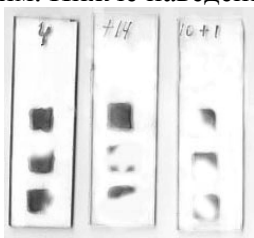


Рис. 1 Мазки зафіксовані етиловим спиртом.

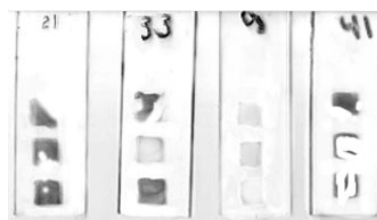


Рис. 2 Мазки зафіксовані метиловим спиртом

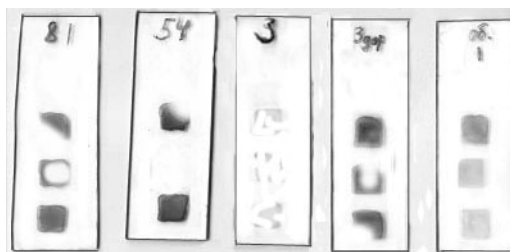


Рис. 3 Мазки зафіксовані етиловий спирт плюс етиловий ефір порівну.

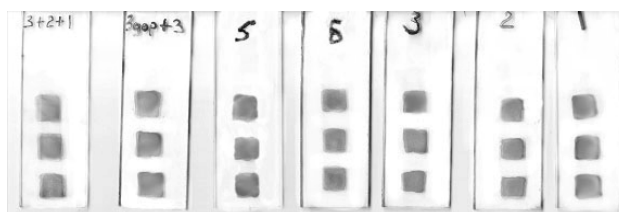


Рис. 4 Мазки зафіксовані в денатурованому етанолі 82%.-ної концентрації.

Як видно з (рис.1 – 3), де мазки зафіксовані етиловим спиртом, спирт ефіром порівну або метиловим спиртом відмічається зповзання мазків повністю або частково.

Мазки для ефективного підрахунку кількості соматичних клітин повинні бути розподілені рівномірним шаром по всій поверхні квадрату та добре зафіксовані (рис.4). Мазок повинен просвічуватися в прохідному світлі мікроскопа – тобто колір повинен бути світло-синій (блакитний), належна

фіксація та фарбування мазків у більшості випадків відмічається при використанні реактиву, запропонованого Скляр О.І. та іншими.

Висновки.

1. Використовування 82%-ного розчину денатурованого етанолу дає можливість отримати ефективність фіксації та фарбування мазків молока (секрету) вимені корів при субклінічному маститі в 100% випадках.

2. Денатурований етанол 82% виявився найбільш економічно вигідним порівняно з другими реактивами, оскільки вартість його найнижча.

3. Використаний для фіксації мазків денатурований етанол 82% є більш безпечний з точки зору техніки безпеки та санітарії. При роботі з ним можна обходитися загальноприйнятими гігієнічними нормами.

Література

1. Практикум по клинической диагностике с рентгенологией. / [Беляков И.М., Дугин Л.Г., Кондратьев В.С., Ленец А.И.]. – Москва «Колос», 1992. – 286

2. Гончаренко І. Санітарна якість молока залежно від хімічного складу / Гончаренко І. – Ветеринарна медицина України. 2002–№10 С.32–33.

3. Машкін М.І. Технологія виробництва молока і молочних продуктів / М.І.Машкін, Н.М.Париш. –Київ «Вища освіта» – 2006 – 351с.

4. Скляр О.І. Цитологічний аналіз молока здорових корів та секрету вимені при захворюванні на субклінічний мастит / О.І. Скляр, І.О. Скляр. – Збірник наукових праць ХДЗВА Випуск 20, частина 2, том 2. Ветеринарні науки. С.132–136.

5. Держстандарт України – 2007 (ISO 13366-1:2008)

Summary

Sklyar O.I. (Sklyr 19-56 @ and.ua)

Sumskiy NAU m. Sumy

PERFECTION OF METHOD OF PAINTING OF STROKES OF MILK (TO THE SECRET) OF UDDER OF COWS FOR DETERMINING THE AMOUNT OF SOMATICHNKH OF CAGES AT SUBCLINICAL VENERABLE

In this article a question is considered for the improvement of methods of fixing and painting of strokes of milk (to the secret) udder of cows at subclinical mastitis for the count of somatic cages by the microscopic method of Preskotta-bridia. The most effective is certain, comfortable in the use and economic advantageous peakmuv-82%-ний is denaturized ethanol. Failings are considered panivue the offered chemical reagents for jigging and painting of strokes of milk(to the secret) udder of cows.

Стаття надійшла до редакції 6.03.2010