



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **58403** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/487 (2011.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СУБКЛІНІЧНОГО МАСТИТУ КОРІВ**

1

2

(21) u201011565

(22) 28.09.2010

(24) 11.04.2011

(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.

(72) ЯБЛОНСЬКИЙ ВАЛЕНТИН АНДРІЙОВИЧ,
ЖЕЛАВСЬКИЙ МИКОЛА МИКОЛАЙОВИЧ, ЖУК
ЮРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб діагностики субклінічного маститу корів, що полягає у виділенні чистої клітинної популяції клітин з молока та базується на методиці седиментації у градієнті щільності фіколоворографіні, який **відрізняється** тим, що отримується чиста фракція клітин з секрету молочної залози, необхідна для точної цитологічної оцінки.

Спосіб діагностики субклінічного маститу корів відноситься до ветеринарної медицини, а саме до ветеринарного акушерства та імунології і може бути використаний для визначення рівня локального імунного захисту молочної залози корів у клінічно здорових та при виникненні маститу.

Відомо, що при субклінічному маститі корів відбуваються фізико-хімічні зміни властивостей його секрету. В молоці різко збільшується вміст сухої речовини, лактози, сухого знежиреного залишку, казеїну, фосфору, кальцію, магнію, зростає також щільність та швидкість сичужного зсідання. Поряд з цим в секреті молочної залози зростає концентрація азотистих речовин, казеїнової фракції, золи, натрію, хлору, сульфору, активність каталаз, різко збільшується й кількість соматичних клітин. У ветеринарній практиці визначення вмісту соматичних клітин секрету молочної залози корів є важливим критерієм у діагностиці субклінічного маститу. Тому саме дослідження їх кількісного складу та цитологічної характеристики секрету молочної залози дає повну уяву про характер запалення в молочній залозі, дозволяє прогнозувати перебіг хвороби, адекватність проведеного лікування та відслідковування патології.

Відомий спосіб [Солов'єва О.І. Электронная система диагностики субклинического мастита коров / О.И. Солов'єва, О. Коуфан // Ветеринария. - 2008. - №12. - С. 13-15.] полягає у визначенні електропровідності молока.

Недоліком цього способу є визначення лише кількісного вмісту соматичних клітин в молоці та потреба спеціального електронного обладнання.

Поряд з цим відомий спосіб прямого підрахунку соматичних клітин за методикою Бріта-Прескота [Слободяник В.И. Иммунологические аспекты физиологии и патологии молочной железы коров / В.И. Слободяник, В.А. Париков, Н.Т. Климов, В.В. Подберезный / Под ред. В.И. Слободяника - Таганрог: Изд. центр Таганрог, гос. пед. ин-та, 2009. - 276 с.], що полягає у виготовленні мазків із секрету молочної залози корів, фарбуванні мікропрепаратів та їх мікроскопічній оцінці. Спосіб відрізняється значною трудомісткістю і не дає можливість виділяти чисту клітинну суспензію імунокомпетентних клітин, необхідну для проведення точних цитохімічних та імунологічних досліджень.

Запропоновані способи часто використовуються в діагностиці субклінічного маститу і дають змогу визначити лише загальний вміст соматичних клітин, а також не дозволяють робити результати точну цитологічну оцінку мікропрепарату.

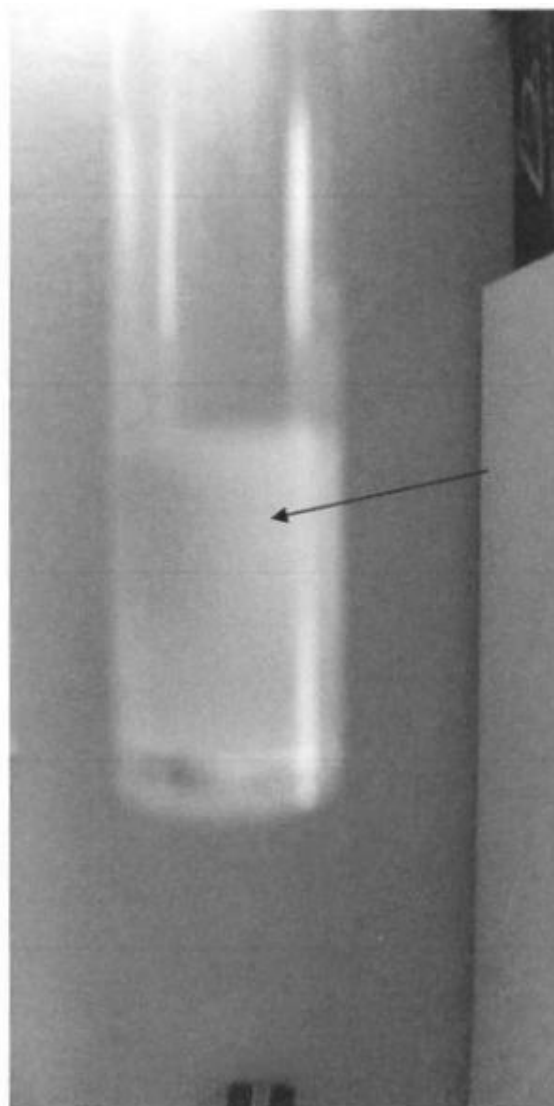
В основу корисної моделі спосіб діагностики субклінічного маститу корів поставлено завдання удосконалення способу виділення та диференціації соматичних клітин молока. Нами пропонується спосіб виділення клітин секрету молочної залози, шляхом седиментації у градієнті щільності фіколоворографіну, приготування мікропрепарату із подальшим проведенням його цитологічної диференційної оцінки. Перевагою запропонованого способу є - можливість виділити чисту клітинну суспензію імунокомпетентних клітин, що необхідно для проведення точних цитохімічних та імунологічних досліджень.

Фіг.1. Виділення клітинної фракції секрету молочної залози.

(19) **UA** (11) **58403** (13) **U**

Поставлене завдання вирішується таким чином: від дослідної корови відбирають 1,0 мл молока, який нашаровують на градієнт щільності фікол-верографіну щільністю $1,077 \text{ г/см}^3$. Пробу центрифугують впродовж 20 хв. в режимі 1500 об/хв. Після цього відбирають інтерфазу розшарованого середовища, в якому міститься клітинний пул (Фіг.1). Далі 0,2 мл відібраної клітинної суміші наносять на знежирене предметне скло та готують тонкий мазок, який висушують на повітрі (5-7 хв.)

за умов кімнатної температури ($t \sim 18-22^\circ\text{C}$), впродовж 3-5 хв. фіксуючи метанолом (90°). Готові мікропрепарати фарбують фарбою Романовського-Гімзи (рН 6,5). Мікроскопію проводять із використанням імерсійного об'єктива ($90-100\times$) та окуляру ($20\times$). В досліджуваних мікропрепаратах будуть відсутні жирові кульки, які утруднюють мікроскопію та цитологічну діагностику маститу. Для визначення характеру запальної реакції проводять диференціацію клітин секрету молочної залози.



Фіг. 1