

followed by isolation of pure culture. All stages of incubation of cultures is carried out in screening conditions. Identification of pure cultures is carried out by morphological, biochemical and other characteristics that determine the identity of the species of bacteria of the genus Campylobacter.

Key words: *microbiological research, microorganisms Campylobacter, food, the objects of the environment, selective media, microaerophilic conditions*

УДК 636.2.09:616.99 – 093

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КЛАСИЧНИХ МЕТОДІВ ТА ЕКСПРЕС-МЕТОДУ DIFF-QUIK ФАРБУВАННЯ МАЗКІВ КРОВІ ЗА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ БАБЕЗІОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

В. В. Лець, аспірант*

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

М. П. Прус, доктор ветеринарних наук, професор

Національний університет біоресурсів

і природокористування України

perin_vika@ukr.net

Проведено порівняльний аналіз традиційних методів фарбування мазків крові для дослідження на бабезіоз великої рогатої худоби та альтернативного експрес-методу фарбування мазків Diff-Quik за допомогою набору Лейкоциф®200. Отримані результати свідчать про те, що експрес-метод за лабораторної діагностики бабезіозу великої рогатої худоби є специфічним, ефективним і дозволяє отримувати якісно пофарбовані мазки за короткий час. Обґрунтовано необхідність впровадження експрес-методу в лабораторну практику паразитологічних відділів Державних лабораторій ветеринарної медицини України.

***Ключові слова:* бабезіоз, методи фарбування, експрес-метод Diff-Quik**

Бабезіоз великої рогатої худоби – це паразитарне захворювання, що викликається одноклітинними організмами бабезіями, які паразитують переважно в еритроцитах, але можуть зустрічатися у цитоплазмі клітин ретикуло-ендотеліальної системи та тимчасово перебувати у плазмі крові [2, 4, 5].

За життя тварин вирішальними у підтвердженні діагнозу на бабезіоз великої рогатої худоби є лабораторні дослідження, які включають у себе серологічні, молекулярно-генетичні методи та мікроскопію пофарбованих мазків крові [1, 5].

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор М. П. Прус

© В. В. Лець, М. П. Прус, 2015

Традиційним та найбільш уживаним методом є мікроскопічне дослідження товстих і тонких мазків крові за допомогою імерсійної системи мікроскопа, пофарбованих різними методами. Для фарбування мазків у ветеринарній практиці використовують кілька методів: Романовського-Гімза, Паппенгейма, Райта, Фалда, Лейшмана та ін., а за наявності флуоресцентного мікроскопу – метод фарбування акридиновим помаранчевим [1, 3]. Істотним недоліком даних методів є трудомісткість та тривалість пофарбування, тому на даний час перспективним є випробування і впровадження сучасних експрес-методів фарбування мазків крові для швидкого встановлення діагнозу на бабезіоз. Одним з таких методів є експрес-метод Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200, який складається з трьох розчинів для швидкого фарбування мазків крові і таблеток для приготування промиваючого буферного розчину (рис. 1) [1].



Рис. 1. Набір для пофарбування мазків крові Лейкодиф® 200

Даний метод не потребує попередньої фіксації мазків крові, простий у застосуванні, економічно вигідний та швидкий, що дає можливість за короткий час встановити діагноз, а відповідно і своєчасно розпочати специфічну терапію для успішного проведення заходів боротьби з бабезіозом великої рогатої худоби [1].

Мета досліджень – провести порівняння ефективності класичних методів пофарбувань мазків крові та експрес-методу Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200 у разі мікроскопічної діагностики бабезіозу великої рогатої худоби.

Матеріали та методика досліджень. Дослідження проводили у фермерському господарстві «Бутенко», м. Мена Чернігівської області та науково-дослідному паразитологічному відділі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Кров для приготування мазків відбирали вранці до годівлі із периферійних судин вуха великої рогатої худоби різної вікової категорії та різних порід. Для проведення даних досліджень було приготовано 15 мазків крові від тварини з рівнем паразитемії 3 %.

По 5 приготованих мазків фарбували за загальноприйнятими методиками Романовського-Гімза і Паппенгейма та 5 мазків – експрес-методом

фарбування Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200. Для цього спочатку готували промиваючий розчин: 1 таблетку розчиняли у 250 мл дистильованої води. Фарбування проводили зануренням мазків у фарбуючі розчини, які виливали у ємності, що були зручними для занурення скелець і щільно закривались. Мазки занурювали 5 разів на 1 секунду в реактив 1 (фіксує розчин). Фіксований мазок занурювали 3 рази на 1 секунду в реактив 2 (фарбуючий розчин 1 – еозин). Далі мазок занурювали 6 разів на 1 секунду в реактив 3 (фарбуючий розчин 2 – азур II). Після кожного занурення давали можливість розчину стекти, його надлишок прибирали притискаючи мазок до краю посудини, а у разі перенесення мазка з одного розчину в інший, надлишок фарб прибирали за допомогою фільтрувального паперу. Далі скельця ополіскували у промиваючому розчині та залишали висихати на повітрі.

Дослідження проводили за допомогою імерсійної системи мікроскопа Zeiss, збільшення x1000. Ступінь паразитемії (%) визначали шляхом підрахунку кількості уражених бабезіями еритроцитів на 100 підрахованих клітин. Для виведення зображення на екран монітору і фотофіксації використовували авермедіокамеру AVer Vision 303.

Результати досліджень. Результати проведених мікроскопічних досліджень пофарбованих мазків крові за різними методиками наведені у таблиці 1. Виявлені бабезії за морфологічними ознаками належали до виду *Babesia bigemina*.

1. Показники ступеню паразитемії бабезіозу за різних методів пофарбування мазків крові, $M \pm m$, $n = 5$

Показник	Методи пофарбування мазків		
	за Романовського-Гімза	за Паппенгейма	Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200
Кількість вражених еритроцитів на 100 підрахованих клітин	3 ± 0,71	3,2 ± 0,84	3,2 ± 0,45
Ступінь паразитемії, %	3	3,2	3,2

Порівнюючи методи фарбування мазків за Романовським-Гімза, Паппенгейма та експрес-методом Diff-Quik, розглянули їх специфічність та ефективність як методів мікроскопічної діагностики бабезіозу великої рогатої худоби. Оскільки, при мікроскопії мазків, пофарбованих різними методами, виявлено практично однаковий ступінь паразитемії, який становить близько 3 %, та чітко видно морфологічні структури бабезій, то можна зробити висновок, що всі методи фарбування є дієвими та мають діагностичне значення.

Однак, при проведенні досліджень щодо порівняння методів фарбування мазків крові було виявлено ряд недоліків традиційних методів. Так, для методу пофарбування мазків крові за Романовським-Гімза можна виділити наступні зауваження:

- потрібна попередня фіксація мазків крові за допомогою етанолу чи метанолу;

- постійно потрібно мати свіжоприготовану дистильовану воду, (у випадку якщо вода буде несвіжоприготованою, то фарба, у разі розведення її такою водою, випадає у вигляді пластівчастого осаду, що призводить до непридатності для подальшого використання, а це, в свою чергу, пов'язано з матеріальними витратами);

- робочий розчин фарби швидко псується і не може бути використаний для повторного фарбування, а постійне приготування розчину фарби призводить до витрат часу та матеріальних затрат;

- якість і швидкість фарбування суттєво залежать від температури навколишнього середовища (чим нижча температура, тим триваліше пофарбування);

- можливе випадання преципітатів фарби, що призводить до діагностичних помилок;

- час фарбування в середньому складає 30–60 хв, а при деяких лабораторних дослідженнях таке зволікання недопустиме.

Щодо фарбування мазків крові в модифікації Паппенгейма (Май-Грюнвальда-Гімза), то перевагою є те, що не потрібно здійснювати попередньої фіксації, так як перша фарба – Май-Грюнвальд має у своєму складі метиловий спирт, але даний метод також потребує наявності свіжоприготованої дистильованої води та час фарбування складає 15–20 хв.

Фарбування мазків крові експрес-методом фарбування Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200 не вимагає особливих технічних навиків, тривалого очікування та лабораторного посуду. За даними дослідників-гематологів у разі застосування цього методу фарбування гранули гетерофілів, базофілів та еозинофілів диференціюються гірше, ніж у разі фарбуванні за традиційними методиками. Також потрібно зазначити, що морфологічні структури внутрішньоеритроцитарних та міжеритроцитарних форм бабезій візуалізуються чіткіше, ніж за інших методів пофарбування та є підставою для постановки остаточного діагнозу (рис. 2).

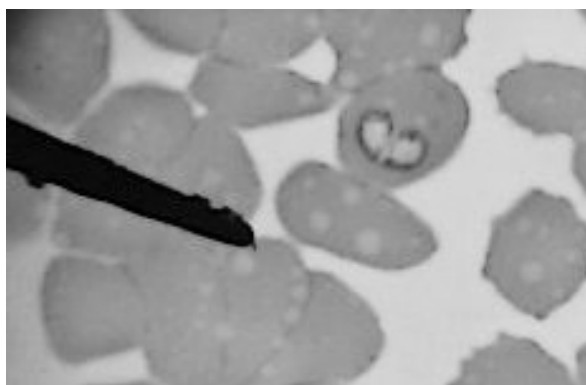


Рис. 2 Характерні форми *Babesia bigemina* (фарбування експрес-методом Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200), x1000

Даний експрес-метод порівняно з іншими методиками має наступні переваги:

- скорочує час фарбування, який становить 25 с;

- дозволяє отримувати мазки високої якості пофарбування;
- дає можливість багаторазового використання робочих розчинів барвників;
- не потребує спеціального лабораторного обладнання;
- дозволяє працівникам ветеринарних лабораторій економити час та зменшити матеріальні затрати;
- є швидким та ефективним у разі масових досліджень великої кількості проб крові від поголів'я великої рогатої худоби на бабезіоз.

Аналіз отриманих даних дозволяє зробити висновки, що альтернативний експрес-метод фарбування мазків Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200 є специфічним та ефективним за діагностики бабезіозу великої рогатої худоби та має бути впровадженим в практику паразитологічних відділів Державних лабораторій ветеринарної медицини України.

Висновки

1. За мікроскопічних досліджень мазків крові пофарбованих традиційними методами і експрес-методом Diff-Quik виявлено практично однаковий ступінь паразитемії, який становить близько 3 %, та чітко видно морфологічні структури бабезій.

2. Експрес-методу Diff-Quik за допомогою набору Лейкодиф®200 має ряд переваг перед найбільш уживаними методами (Романовського-Гімза та Папенгейма) і дозволяє отримувати якісно пофарбовані мазки за короткий час і за можливості багаторазового використання розчинів фарб.

Список літератури

1. Діагностика та заходи боротьби за бабезіозу великої рогатої худоби: метод. рекомендації / уклад.: В. В. Лець та ін.. – Київ: ДНДІЛДВСЕ, 2015. – 25 с.
2. Заблоцкий В. Т. Бабезиоз (пироплазмоз) крупного рогатого скота / В. Т. Заблоцкий, В. В. Белименко, Н. А. Ахмадов // Росийский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2012. – № 1. – С. 43 – 44.
3. Казаков Н. А. Приготовление и окраска мазков крови для микроскопической диагностики протозойных и других кровепаразитарных болезней крупного рогатого скота / Н. А. Казаков, М. Ф. Идина // Ветеринарная патология. – 2010. – № 2. – С. 61–65.
4. Bock R. Babesiosis of cattle / L. Jackson, A. de Vos, W. Jorgensen // Parasitology. – 2004. – Suppl 129 – P. 247–269.
5. Krause P. J. Babesiosis diagnosis and treatment / P. J. Krause // Vector Borne Zoonotic Disease. – 2003. – Vol. 3. – № 1. – P. 45–41.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛАССИЧЕСКИХ МЕТОДОВ И ЭКСПРЕСС-МЕТОДА DIFF-QUIK ОКРАСКИ МАЗКОВ КРОВИ ПРИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ БАБЕЗИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В. В. Лець, М. П. Прус

Проведен сравнительный анализ традиционных методов окрашивания мазков крови для исследования на бабезиоз крупного рогатого скота и

альтернативного експресс-метода окраски мазков Diff-Quik с помощью набора Лейкодиф®200. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспресс-метод по лабораторной диагностике бабезиоза крупного рогатого скота является специфическим, эффективным и позволяет получать качественно окрашенные мазки за короткое время. Обоснована необходимость внедрения экспресс-метода в лабораторную практику паразитологических отделов государственных лабораторий ветеринарной медицины Украины.

Ключевые слова: бабезиоз, методы окрашивания, экспресс-метод Diff-Quik

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF CLASSICAL METHODS AND DIFF-QUIK EXPRESS METHOD OF STAINING A BLOOD SMEAR IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF BABESIOSIS IN CATTLES

V. Lets, M. Prus

A comparative analysis of traditional methods of staining of blood smears for research of babesiosis in cattle and alternative rapid method of staining smears Diff-Quik with a set Leykodif®200. The results suggest that a rapid method for the laboratory diagnosis of babesiosis in cattle is a specific, effective, and produces high quality painted brush strokes in a short time. The necessity of introduction of a rapid method in laboratory practice parasitology department of the State Laboratory of Veterinary Medicine of Ukraine.

Key words: babesiosis, staining methods, Diff-Quik express method

УДК:639.215.2.043:612.12

БІОХІМІЧНИЙ ТА КЛІТИННИЙ СКЛАД КРОВІ КОРОПА ЗВИЧАЙНОГО ЗА ВПЛИВУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРОБІОТИКА НА ОСНОВІ BACILLUS SUBTILIS ТА LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Т. В. Мазур, доктор ветеринарних наук, професор

*І. Є. Гаркуша, аспірант**

Національний університет біоресурсів

і природокористування України

florindo.aretuzi@yandex.ru

У статті викладені результати застосування експериментального пробіотичного препарату на основі Bacillus subtilis та Lactobacillus acidophilus на поголів'ї коропи звичайного. Досліджено вплив

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор Т. В. Мазур

© Т. В. Мазур, І. Є. Гаркуша, 2015