



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66145 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61D 99/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КОПРОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГЕЛЬМІНТОЗІВ І ЕЙМЕРІОЗІВ

1

2

(21) u201106852

(22) 31.05.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.

(72) ДОВГІЙ ЮРІЙ ЮРІЙОВИЧ, ФЕЩЕНКО ДІАНА ВАЛЕРІЇВНА, КОРЯЧКОВ ВІКТОР АНАТОЛІЙОВИЧ, ЗГОЗІНСЬКА ОКСАНА АНАТОЛІЇВНА, БАХУР ТЕТЯНА ІВАНІВНА, ДРАГАЛЬЧУК АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, СТАХІВСЬКИЙ ОЛЕКСАНДР ВАСИЛЬОВИЧ

(73) ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) 1. Спосіб копрологічної діагностики гельмінтозів і еймеріозів, при якому проводять дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступними фільтрацією, центрифугуванням та мікроскопією крапель із поверхневої плівки, який **відрізняється** тим, що розчинення фекалій проводять в

розчині сахарози та Люголя, а одержану суміш фільтрують через 1-3 шари марлі та центрифугують протягом 3-7 хв. при 1000-2000 об/хв., причому розчин сахарози та Люголя отримують при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

сахароза	30-40
Люголь	10-15
вода	решта.

2. Спосіб копрологічної діагностики гельмінтозів і еймеріозів за п. 1, який **відрізняється** тим, що суміш фільтрують та центрифугують протягом 5 хв. при 1500 об/хв., а розчин сахарози та Люголя отримують при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

сахароза	35
Люголь	10
вода	решта.

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, а саме до ветеринарної паразитології, до способів виявлення яєць гельмінтів (класу Nematoda, підрядів Strongylata і Ascaridata) та ооцист найпростіших (родини Coccidia) у організмі жуйних тварин, свиней, коней, кролів і м'ясоїдних тварин. Може бути використана при визначенні інтенсивності інвазії, а також екстенсивності й ентенсефективності антигельмінтиків і антипротозойних препаратів, які застосовуються для лікування паразитарних захворювань тварин.

У гельмінтології відомий спосіб Фюллеборна (1920), згідно з яким, пробу фекалій (3-5 г) поміщають у склянку та заливають флотаційним розчином (400-420 г повареної солі на 1 л окропу, питома вага $\rho=1,18-1,2$), співвідношення фекалій та розчину 1:15-20. Пробу розмішують, фільтрують крізь металеве сито чи марлю в іншу склянку й залишають відстоюватися 40-60 хв., після чого дотиком металевої петлі до шару рідини знімають поверхню плівку, яку мікроскопічно досліджують на вміст яєць гельмінтів і ооцист (див. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин. Практикум: [навч. посібник] / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, М.П. Прус, Н.М. Сорока. - К.: Вища освіта, 2004. - С. 10-11).

Однак цей спосіб відрізняється низькою ефективністю (незважаючи на простоту виконання), оскільки на поверхню спливає до 20 % яєць паразитів. Проведенню ретельної мікроскопії зразку заважає швидка кристалізація крапель флотаційної рідини. Методика потребує значних часових затрат, що особливо ускладнює проведення серійних досліджень.

Відомий метод Г.О. Котельникова і В.М. Хренова (1972) для діагностики нематодозів тварин. Послідовність виконання методу наступна: готується флотаційний розчин (1500 г нітрату амонію на 1 л кип'яченої води, питома вага $\rho=1,3$), 3 г фекалій поміщають у склянку, заливають підготовленим розчином до об'єму 50 мл, перемішують. Отриману суміш фільтрують в іншу склянку та відстоюють 10 хв. За допомогою дротяної петлі беруть 3-4 краплі поверхневого шару рідини на предметне скло і досліджують під мікроскопом (див. Котельников Г.А. Діагностика гельмінтозов животнох / Г.А. Котельников. - М.: Колос, 1974. - С. 74).

Однак, цей метод має ряд недоліків: швидка кристалізація крапель розчину на предметному склі, деформація яєць гельмінтів та їхня агрегація з кристалами флотаційної рідини, в результаті чого вони швидко осідають на дно склянки. Указані

(19) UA (11) 66145 (13) U

дефекти методики значно знижують діагностичну достовірність способу.

Прототипом до запропонованого способу є метод флотації в розчині цукру, що запропонований для прижиттєвої діагностики еймеріозів. Для виконання цього методу спочатку 3-5 г фекалій змішують з 15-20 мл води, потім отриману суспензію центрифугують впродовж 3-5 хв. за 2500 об/хв., надосадову рідину зливають, а до осаду додають розчин цукру (50 г сахарози розчиняють у 320 мл води та додають 6,5 г фенолу кристалічного). Осад ресуспензують скляною паличкою та повторно центрифугують впродовж 3-5 хв. за 1500-2000 об/хв. Металічною петлею знімають з поверхні рідини пробу, переносять її на предметне скло та мікроскопують (див. Ятусевич А.И. Паразитарные болезни кроликов: монография / А.И. Ятусевич, И.Н. Дубина. - Витебск: УОВГАМ, 2006. - С. 106.).

Однак, питома вага описаного флотаційного розчину цукру є недостатньою ($\rho=1,02$), наслідком цього є високий відсоток недостовірності, а також непридатність цього методу для діагностики гельмінтозів. Також слід відмітити громіздкість способу - дворазове центрифугування проби створює додаткові складності під час проведення серійних досліджень. Використання фенолу кристалічного під час приготування флотаційної рідини невиправдане. Ця речовина не здатна підвищити результативність методу, але належить до токсичних сполук і здатна чинити негативний вплив на здоров'я дослідника.

В основу створення корисної моделі поставлена задача створити спосіб копрологічної діагностики гельмінтозів і еймеріозів, що дозволить розширити спектр захворювань, які діагностуються, досягти диференціації ооцист найпростіших і яєць гельмінтів від рослинних та ін. сторонніх клітин з одночасним спрощенням схеми виконання способу.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що при здійсненні способу копрологічної діагностики гельмінтозів і еймеріозів, при якому проводять дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступними фільтрацією, центрифугуванням та мікроскопією крапель із поверхневої плівки, відповідно до корисної моделі розчинення фекалій проводять в розчині сахарози та Люголя, а одержану суміш фільтрують через 1-3 шари марлі та центрифугують протягом 3-7 хв. при 1000-2000 об/хв., причому розчин сахарози та Люголя отримують при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

сахароза	30-40
Люголь	10-15
вода	решта.

При цьому, в особому виконанні способу, суміш фільтрують та центрифугують протягом 5 хв. при 1500 об/хв., а розчин сахарози та Люголя отримують при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

сахароза	35
Люголь	10
вода	решта.

Розчинення фекалій в розчині сахарози та Люголя, фільтрування одержаної суміші через 1-3 шари марлі та центрифугування протягом 3-7 хв. при 1000-2000 об/хв., причому отримання розчину сахарози та Люголя при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

сахароза	30-40
Люголь	10-15
вода	решта,

дозволяє створити умови для спливу більш важких яєць гельмінтів з одночасним забезпеченням спливу яєць ооцист, а також забарвити рослинні клітини у рожевий та червоний кольори, що дозволяє розширити спектр діагностики захворювань, досягти диференціації ооцист найпростіших і яєць гельмінтів від рослинних та ін. сторонніх клітин з одночасним спрощенням схеми виконання способу.

Застосування запропонованого способу копрологічної діагностики гельмінтозів і еймеріозів дозволяє забезпечити наступний технічний результат:

- спрощується схема виконання способу;
- з'являється можливість виявляти як збудників протозойних хвороб тварин, так і гельмінтозів, оскільки з підвищенням питомої ваги флотаційного розчину до щільності яєць гельмінтів, останні спливатимуть на його поверхню;
- створюються умови досліднику для більш ефективної диференціації ооцист найпростіших та яєць гельмінтів від рослинних та ін. сторонніх клітин: паразитичні клітини залишаються безбарвними або природного кольору, а рослинні клітини розчин Люголя забарвлює у рожевий та червоний кольори.

Крім того:

- з'являється можливість більш достовірно оцінювати інтенсивність інвазії ооцист еймерій та яєць нематод за рахунок підвищення концентрації флотаційного розчину до 35 %, оскільки більший їх відсоток (порівняно з 15 %-м розчином у прототипі) спливає на поверхню;
- скорочується термін проведення досліджень;
- для здійснення способу не потрібні дефіцитні та дорогі прилади і матеріали.

На фото 1 представлений зовнішній вигляд яйця стронгілят; фото 2 представлений зовнішній вигляд ооцисти еймерій та рослинних клітин.

Графічні матеріали ілюструють зовнішній вигляд паразитарних клітин: 1 - яйце стронгілят, 2 - ооциста еймерій, 3 - рослинні клітини.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Пробу фекалій (1-3 г, залежно від виду тварини) кладуть у стаканчик, до неї доливають 10-30 мл (1:10) флотаційного розчину (35 %-й розчин цукру та Люголю 1:10) питомою вагою 1,15. Суспензію фекалій перемішують і фільтрують крізь два шари марлі або металеве ситечко у центрифужну пробірку. Отриманий розчин центрифугують 5 хв. при 1500 об/хв. З поверхні розчину мікропіпеткою або мікробіологічною петлею на предметне скло наносяться 3 краплі, які досліджуються на предмет виявлення ооцист еймерій чи яєць гельмінтів під мікроскопом.

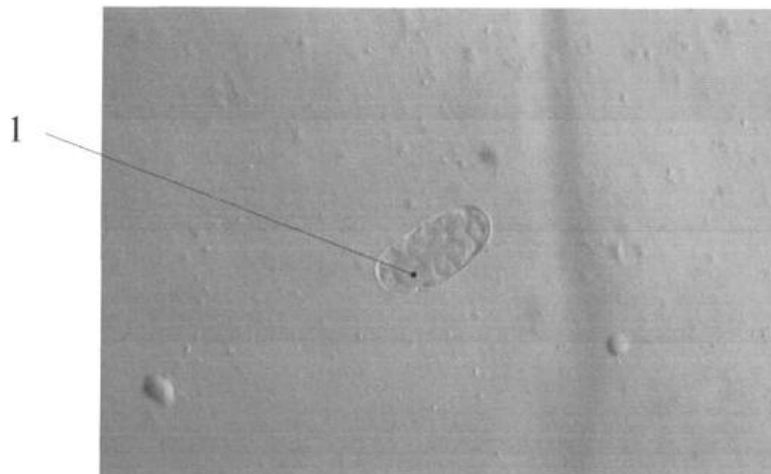


Фото 1.

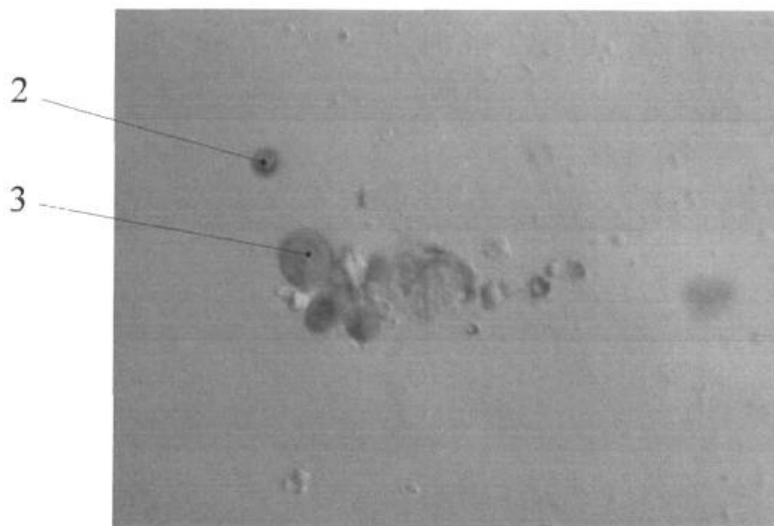


Фото 2.