



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **141225** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/50** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 09871</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>18.09.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.03.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.03.2020, Бюл.№ 6</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Сорокова Світлана Сергіївна (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Мельничук Віталій Васильович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ, вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003 (UA)</b></p>
---	---

**(54) СПОСІБ КОПРООВОСКОПІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ СТРОНГІЛОЇДОЗУ ОВЕЦЬ**

**(57) Реферат:**

Спосіб копроовоскопічної діагностики стронгілоїдозу овець включає дослідження фекалій овець шляхом їх розчинення у флотаційній рідині з наступною фільтрацією, відстоюванням та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів. При цьому як флотаційну рідину використовують комбінований розчин кальцієвої та аміачної селітри у співвідношенні 1:1,5 з питомою вагою 1,32-1,34 г/см<sup>3</sup>, а відстоювання проб проводять впродовж 10-12 хвилин.

**UA 141225 U**



Запропонована корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме ветеринарної паразитології, до способів виявлення яєць збудників стронгілоїдозу овець, та може бути використана для своєчасного виявлення хворих тварин, визначення екстенсивності та інтенсивності інвазії, а також екстенс- та інтенсефективності антигельмінтних засобів.

5 На відміну від інфекційних і незаразних хвороб, діагноз на гельмінтози може бути поставлений лише при знаходженні гельмінтів - збудників хвороби, їх фрагментів, яєць або личинок, для чого застосовують спеціальні способи діагностики. З метою зажиттєвої діагностики нематодозів, в тому числі й стронгілоїдозу, частіше використовують способи флотації. Вони ґрунтуються на тому, що як флотаційні розчини використовують рідини з питомою вагою, що 10 перевищують питому вагу яєць гельмінтів, при цьому останні спливають на поверхню такого розчину.

Відомий спосіб копроовоскопічної діагностики за І.С. Дахно (2003), з використанням як флотаційної рідини природного мінералу бішофіту (питома вага розчину 1,27-1,31 г/см<sup>3</sup>).

15 Згідно зі способом, пробу фекалій поміщають у склянку, заливають невеликою кількістю розчину і за ретельного розмішування паличкою додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Потім завись фільтрують через ситечко в іншу склянку і залишають не менше, ніж на 10 хв. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку із 3-4-х різних місць, переносять на предметне скло та мікроскопують [див. Дахно І.С. Екологічна гельмінтологія. Навчальний посібник / І.С. Дахно, Ю.І. Дахно. - Суми: Козацький вал, ВАТ "СОД", 2010. - С. 79].

20 До недоліків даного способу можна віднести те, що розчин мало розповсюджений в торгівельній мережі. При різкому вливанні розчину в склянку з фекаліями на поверхні утворюється велика кількість пухирців повітря, що негативно впливає на процес мікроскопії.

Також відомим є спосіб за І.В. Натяглою та ін., (2016) з використанням як флотаційної рідини комбінованого розчину цукру та натрію хлориду в співвідношенні 1:1,5 (питома вага розчину - 25 1,25-1,27 г/см<sup>3</sup>).

Згідно з методикою, пробу фекалій масою 1-3 г поміщають у склянку (об'ємом 50 мл), заливають невеликою кількістю розчину і ретельно розмішують паличкою. При постійному 30 помішуванні додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Отриману суміш фільтрують через сито в іншу склянку та залишають на 10 хв. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку з 3-5 різних місць, переносять на предметне скло і проводять мікроскопію за малого збільшення [Натягла І.В. Рекомендації з діагностики, лікування та профілактики капіляріозу курей / І.В. Натягла, В.О. Євстаф'єва, В.В. Мельничук. - Полтава. - 2017. - С. 15-18].

Недоліком способу є те, що комбінований розчин цукру та натрію хлориду є добрим 35 живильним середовищем для мікроорганізмів та грибів і за його тривалого зберігання на поверхні починають рости плісняві гриби, що, в свою чергу, потребує повторної фільтрації розчину та додаткових витрат часу.

Найбільш близьким, який вибрано як найближчий аналог, є спосіб копроовоскопічної 40 діагностики за Г.О. Котельниковим та В.М. Хреновым, (1972) з використанням як флотаційної рідини насиченого розчину аміачної селітри (питома вага розчину 1,3-1,32 г/см<sup>3</sup>).

Згідно з методикою, 3 г фекалій поміщають у склянку, заливають розчином до об'єму 50 мл, 45 перемішують. Отриману суміш фільтрують в іншу склянку та відстоюють 10 хв. За допомогою металевої петлі переносять 3-4 краплі поверхневого шару рідини на предметне скло і досліджують під мікроскопом на наявність яєць паразитів [див. Котельников Г.А. Диагностика гельмінтозов животных / Г.А. Котельников. - М.: Колос, 1974. - С. 47].

До недоліків способу можна віднести: наднасичення розчину, що сприяє швидкому висиханню та кристалізації крапель на предметному скельці; спливання значної кількості 50 решток неперетравлених кормів. В свою чергу, все це разом ускладнює перегляд матеріалу, завдає труднощів при вивченні та підрахунку яєць паразитів, а також під час проведення диференційної діагностики і вивченні морфологічних особливостей яєць. Такі недоліки суттєво знижують діагностичну ефективність способу.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення діагностичної ефективності способу та покращення процесу мікроскопії препаратів.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що як флотаційну рідину використовують 55 складний комбінований розчин кальцієвої (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) та аміачної селітри (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) у співвідношенні 1:1,5 з питомою вагою 1,32-1,34 г/см<sup>3</sup>, а відстоювання проб проводять впродовж 10-12 хвилин.

Спосіб зажиттєвої копроовоскопічної діагностики стронгілоїдозу овець проводять наступним 60 чином. Спочатку готують комбіновану флотаційну суміш з двох інгредієнтів:

- в 1 л киплячої води розчиняють 800 г кальцієвої селітри, охолоджують та фільтрують;
- в 1 л киплячої води розчиняють 1500 г аміачної селітри, охолоджують, фільтрують.

Для отримання комбінованої флотаційної рідини ці розчини змішують у співвідношенні 1:1,5 та повторно фільтрують. Розчин використовують холодним.

В основу корисної моделі поставлена також задача створення способу захиттєвої діагностики стронгілоїдозу овець, який забезпечує високу ступінь видимості яєць нематод у флотаційному розчині, що дає змогу не лише встановити діагноз та ступінь ураження тварини (інтенсивності інвазії), а й вивчити особливості морфометричної будови яєць паразита та має високу діагностичну ефективність.

Спосіб здійснюють наступним чином. З проби пінцетом відбирають фекалії вагою 3 г, поміщають у склянку (об'ємом 50 мл), заливають невеликою кількістю готового розчину і ретельно розмішують до отримання гомогенної суспензії. При постійному помішуванні додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Отриману суспензію фільтрують через сито в іншу склянку і залишають на 10-12 хв. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку із 3-5 різних місць, переносять на предметне скло і проводять мікроскопію за малого збільшення.

З метою визначення оптимального часу, за який відбувається спливання яєць стронгілоїдесів у пропонованій флотаційній рідині, проведено експериментальне дослідження. Завідомо інвазований яйцями стронгілоїдесів матеріал у кількості 20 проб досліджували з різним терміном відстоювання фекальної суспензії (5-7, 10-12, 15-17 та 20-22 хв.). Підрахунок кількості виявлених яєць паразитів проводили у 1 г фекалій (ЯГФ). Результати отриманих даних наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Порівняльна ефективність різних термінів відстоювання фекальної суспензії за стронгілоїдозу овець (n=20)

Показники	Термін відстоювання фекальної суспензії, хв.			
	5-7	10-12	15-17	20-22
Позитивних проб, екз	18	20	20	20
M±m (ЯГФ)	23,11±2,74***	62,80±4,97	48,40±4,28*	44,40±3,60**
Min-max (ЯГФ)	8-48	32-104	24-88	16-80

Примітка: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001 - порівняно з показником 10-12 хвилинного відстоювання фекальної суспензії

Встановлено, що найбільшу діагностичну ефективність пропонований розчин має за відстоювання фекальної суспензії в проміжок часу від 10 до 12 хв. Так за вказаного проміжку часу виявляли більшу кількість яєць нематод порівняно з терміном відстоювання фекальної суспензії: 5-7 хв. - на 63,20 % (p<0,001); 15-17 та 20-22 хв. - на 29,93 та 29,30 % (p<0,05 та p<0,01 відповідно), що підтверджується статистично.

Приклад конкретного виконання.

З метою встановлення ефективності способу в умовах лабораторії проведено експериментальне дослідження 20-ти проб фекалій, завідомо інвазованих яйцями стронгілоїдесів. Одну й ту ж саму пробу фекалії від овець досліджували за способами:

- Дахно (аналог 1);
- Натяглої й ін. (аналог 2);
- Котельникова - Хренова (найближчий аналог);
- пропонованого.

Час відстоювання проб після фільтрації проводили згідно з описом до методик.

Оцінювання способів проводили за показниками: кількості позитивних проб, середньої кількості виявлених яєць стронгілоїдесів (їх мінімального та максимального значення), а також наявності сторонніх решток та пухирців повітря різного розміру при мікроскопії препарату (• - незначна кількість дрібних сторонніх решток / пухирців повітря; •• - одночасне виявлення великої кількості дрібних та незначної кількості великих за розмірами решток / пухирців повітря; ••• - велика кількість як дрібних, так й значних за розмірами сторонніх решток / пухирців повітря). Результати отриманих даних відображені в таблиці 2.

Порівняльна ефективність методів  
копроовоскопічної діагностики стронгілоїдозу овець (n=20)

Спосіб дослідження	Позитивних проб, екз.	Виявлено яєць, ЯГФ		Наявність сторонніх решток
		M±m	min-max	
Пропонований спосіб	20	84,40±5,27	56-120	•
За Котельниковим - Хреновим, (прототип)	16	44,50±5,41***	16-88	••
За Дахно, (аналог 1)	19	57,68±5,21**	24-96	•••
За Натяглою й ін., (аналог 2)	20	64,80±5,38*	24-104	••

Примітка: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001 - відносно показнику пропонованого способу

5 Встановлено, що найбільшу діагностичну ефективність за копроскопічної діагностики стронгілоїдозу овець має запропонований спосіб копроовоскопічної діагностики з використанням комбінованої флотаційної рідини. За показниками кількості виявлених яєць стронгілоїдесів у 1 г фекалій запропонований спосіб виявився ефективнішим за способи: Котельникова - Хренова - на 47,27 % (p<0,001); Дахно - на 31,66 % (0,01), Натяглої й ін., - на 23,22 % (p<0,05), що підтверджується статистично. За показниками кількості позитивних проб - на 5 та 20 % порівняно зі способами Дахно та Котельникова - Хренова відповідно. Слід

10 зазначити, що за проведення мікроскопії у препаратах, виготовлених за запропонованим методом, виявляли найменшу кількість сторонніх решток та пухирців повітря, які не завдавали суттєвих складностей при виявленні та підрахунку яєць стронгілоїдесів.

15 Таким чином, за комплексною оцінкою порівнюваних у досліді способів встановлено, що найбільшу ефективність при виявленні яєць нематод має запропонований новий спосіб копроовоскопічної діагностики стронгілоїдозу овець.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб копроовоскопічної діагностики стронгілоїдозу овець, що включає дослідження фекалій овець шляхом їх розчинення у флотаційній рідині з наступною фільтрацією, відстоюванням та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів, який **відрізняється** тим, що як флотаційну рідину використовують комбінований розчин кальцієвої та аміачної селітри у співвідношенні 1:1,5 з питомою вагою 1,32-1,34 г/см<sup>3</sup>, а відстоювання проб проводять

25 впродовж 10-12 хвилин.

---

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601