



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108380** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
B03D 1/00
G01N 1/00
G01N 21/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2016 00961</p> <p>(22) Дата подання заявки: 05.02.2016</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.07.2016</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.07.2016, Бюл.№ 13</p>	<p>(72) Винахідник(и): Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Манойло Юлія Богданівна (UA), Мельничук Віталій Васильович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Євстаф'єва Валентина Олександрівна, пров. Б. Комісарів, 1-а, м. Полтава, 36009 (UA), Манойло Юлія Богданівна, вул. Жовтнева, 40-в, кв. 31-а, м. Полтава, 36003 (UA), Мельничук Віталій Васильович, пров. Б. Комісарів, 1 а, м. Полтава, 36009 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ КОПРООВОСКОПІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЕЗОФАГОСТОМОЗУ СВИНЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів. Як рідину використовують комбінований розчин натрію хлориду та цукру у співвідношенні 1:1 з питомою вагою $\rho=1,26-1,28$.

UA 108380 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме до способів виявлення яєць збудників езофагостомозу свиней, і може бути використана для своєчасного виявлення хворих тварин, визначення екстенсивності та інтенсивності інвазії, а також екстенс- та інтенсефективності нематоцидних препаратів.

5 Практично в усіх куточках світу, де в тій чи іншій мірі розвинена галузь свинарства, ветеринарні спеціалісти діагностують езофагостомоз свиней. Захворювання завдає великої шкоди галузі, оскільки хвороба постійно спричиняє зниження продуктивності тварин та негативну динаміку приростів молодняка. Вирішальне значення в комплексі лікувально-профілактичних заходів щодо даного захворювання відіграє її своєчасна і безпомилкова
10 діагностика.

Для діагностики езофагостомозу свиней, в основному, користуються способами флотації (спливання), суть яких пов'язана з високою питомою вагою розчинів, які використовуються, що призводить до спливання яєць паразитів на поверхню флотаційного розчину.

15 Проте, відомі способи мають певні недоліки. Так, деякі розчини при їх використанні деструктивно діють на яйця паразитів, змінюючи їх характерні морфологічні особливості. За використання інших, разом з інвазійними елементами на поверхню спливає велика кількість решток корму, що також знижує їх діагностичну ефективність.

Так, загальновідомим є спосіб Фюллеборна копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною
20 фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки. Спосіб виконують наступним чином. Пробу фекалій (3-5 г) поміщають у склянку та заливають рідиною - 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 в іншу склянку та залишають відстоюватися 40-60 хв, після чого дотиком металевої петлі до шару рідини знімають поверхню плівку, яку
25 мікроскопічно досліджують на наявність яєць паразитів [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].

Незважаючи на простоту виконання, цей спосіб має досить низьку ефективність, оскільки на поверхню спливає до 20 % яєць паразитів. Спосіб потребує значних витрат часу, що особливо
30 ускладнює проведення серійних досліджень.

Відомий спосіб Г.О. Котельникова та В.М. Хренова для діагностики нематодозів тварин, який також включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки. Як рідину готують флотаційний розчин 1500 г нітрату амонію на 1 л киплячої води (питома вага $\rho=1,3-1,32$). 3 г фекалій поміщають у склянку,
35 заливають виготовленим розчином до об'єму 50 мл, 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 наявність яєць паразитів [див. Котельников Г.А. Диагностика гельминтозов животных/ Г.А. Котельников. - М.: Колос, 1974. - С. 47].

40 Недоліками способу є те, що через наднасичення розчину відбувається швидке висихання і кристалізація крапель на предметному скельці (протягом 8-10 хвилин), що ускладнює перегляд матеріалу. Через високу питому вагу розчину на поверхню досліджуваної проби окрім яєць паразитів також підіймаються рештки неперетравлених кормів, що завдає труднощів при
45 підрахунку яєць чи вивченні їх морфологічних особливостей і знижує діагностичну ефективність способу.

Найбільш близьким, який вибрано як прототип, є спосіб копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней за Маллорі, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів. Як рідину використовують насичений розчин цукру (1670 г кристалічного цукру розчиняють в 1 л киплячої води, питома вага $\rho=1,3$). [див. Акбаев М.Ш. Паразитологія и
50 инвазионные болезни животных / М.Ш. Акбаев, А.А. Водянов, Н.Е. Косминков [и др.]. - М.: "Колос", 1998. - 744 с.].

Недоліком даного способу є те, що розчин цукру є густим, при цьому відбувається неповне спливання яєць езофагостом. Перегляд краплі на предметному склі за проведення мікроскопії
55 має певні труднощі, які також пов'язано з густиною флотаційного розчину. Це, в свою чергу, також знижує діагностичну ефективність способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб захиттевої діагностики езофагостомозу свиней, який забезпечує високий ступінь видимості яєць езофагостом у флотаційному розчині та має високу діагностичну ефективність. Це дає змогу не лише

встановити діагноз та ступінь ураження тварини (інтенсивність інвазії), а й вивчити особливості морфологічної та морфометричної будови яєць паразита.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів, згідно із заявленою корисною моделлю, як рідину використовують комбінований розчин натрію хлориду та цукру у співвідношенні 1:1. При цьому рідина (флотаційний розчин) має питому вагу $\rho=1,26-1,28$.

Спосіб діагностики езофагостомозу свиней проводять наступним чином. Спочатку готують комбіновану флотаційну суміш з двох інгредієнтів.

А.) В 1 л киплячої води розчиняють 400 г натрію хлориду, охолоджують та фільтрують.

Б.) В 1 л киплячої води розчиняють 1670 г цукру, охолоджують, фільтрують.

Для отримання комбінованої флотаційної рідини ці розчини змішують у співвідношенні 1:1. Розчин використовують холодним.

Пробу фекалій масою 3 г, поміщають у склянку (об'ємом 50 мл), заливають невеликою кількістю розчину і ретельно розмішують паличкою. При постійному помішуванні додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Отриману суспензію фільтрують через сито в інший стаканчик і залишають на 10 хв. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку із 3-5 різних місць, переносять на предметне скло і проводять мікроскопію.

Для визначення ефективності відомих та запропонованого способу копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней проведено дослідження 50-ти проб фекалій від хворих на езофагостомоз свиней, розраховуючи кількість яєць паразитів у 1 г фекалій (ЯГФ).

Завідомо інвазований яйцями езофагостом матеріал досліджували чотирма способами з різним терміном відстоювання фекальної суспензії (10, 15 і 20 хвилин):

- 1) Фюллеборна з використанням насиченого розчину кухонної солі;
- 2) Котельникова-Хренова з використанням насиченого розчину нітрату амонію;
- 3) Маллорі з використанням насиченого розчину цукру;
- 4) Удосконалений з використанням комбінованого розчину.

При цьому визначали інтенсивність езофагостомозної інвазії та враховували ступінь видимості яєць гельмінтів у процесі мікроскопії.

Результати копроовоскопічних досліджень свиней відображені в таблиці.

Таблиця

Діагностична ефективність методів копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней (n=50)

Спосіб дослідження	Склад флотаційної рідини	Кількість інгредієнтів, г/л	II, ЯГФ (M±m)		
			час відстоювання		
			10 хв	15 хв	20 хв
Фюллеборна	Розчин натрію хлориду	400	21,28±1,7	26,96±1,2	24,56±1,1
Котельникова-Хренова	Розчин аміачної селітри	1500	30,24±2,0	42,0±1,6	33,12±1,3
Маллорі	Розчин цукру	1670	29,6±1,8	31,44±1,75	40,16±1,3
Запропонований спосіб	Розчин цукру	835	42,08±1,6	37,44±1,7	36,96±1,3
	Розчин натрію хлориду	200			

При використанні з діагностичною метою способу Фюллеборна кількість виявлених яєць езофагостом коливалася від 21,28±1,7 до 26,96±1,2 ЯГФ. При відстоюванні фекальної суспензії протягом 10 хв. виявляли найменшу кількість яєць в пробах фекалій - 21,28±1,7 ЯГФ. При збільшенні часу відстоювання фекалій до 15 хв кількість виявлених яєць зростала та становила 26,96±1,2 ЯГФ (на 21,1 % відносно 10 хв відстоювання). У випадку збільшення часу відстоювання до 20-ти хвилин яйця паразита насичувалися розчином та осідали на дно склянки, про що свідчить зменшення на 8,9 % кількості виявлених яєць езофагостом (24,56±1,1 ЯГФ). При використанні даного способу в полі зору мікроскопа виявляється помірна кількість зайвих решток корму (креслення, А).

На кресленні зображено яйця збудника езофагостомозу свиней у полі зору мікроскопа (x 120) за використання: А - способу Фюллеборна; Б - способу Котельникова-Хренова; В - способу Маллорі; Г - запропонованого способу.

Використання способу Котельникова-Хренова характеризувалося збільшенням кількості виявлених яєць езофагостом (від $30,24 \pm 2,0$ до $42,0 \pm 1,6$ ЯГФ) по відношенню до способу Фюллеборна (на 29,6-35,8 %). Так, при відстоюванні фекальної суспензії протягом 10 хв виявлено $30,24 \pm 2,0$ ЯГФ, 15хв - $42,0 \pm 1,6$ (на 28 % відносно 10 хв відстоювання). Проте, на 20-ту хвилину відстоювання кількість яєць паразитів зменшувалася майже на 21,2 % порівняно з терміном відстоювання протягом 15 хв та становила $33,12 \pm 1,3$ ЯГФ. В той же час, у порівнянні з попереднім способом (Фюллеборна) використовуваний спосіб був ефективнішим на 35,8 %. За використання способу Котельникова-Хренова в полі зору мікроскопа виявляється велика кількість зайвих решток (креслення, Б), які, в свою чергу, ускладнюють виявлення яєць збудника езофагостомозу та знижують чіткість видимості при мікроскопії.

При дослідженні фекалій за методом Маллорі кількість виявлених яєць езофагостом коливалася від $29,6 \pm 1,8$ до $40,16 \pm 1,3$ ЯГФ, що більше в порівнянні зі способом Фюллеборна (на 28,1-32,9 %), проте менше за використання способу Котельникова-Хренова (2,1-4,4 %). При відстоюванні фекальної суспензії протягом 10 хв виявляли найменшу кількість яєць паразита в пробах фекалій - $29,6 \pm 1,8$ ЯГФ. При збільшенні часу відстоювання фекалій в насиченому розчині цукру кількість виявлених яєць зростала та становила при 15-ти хв - $31,44 \pm 1,75$ ЯГФ та сягала максимального значення при 20-ти хв відстоювання - $40,16 \pm 1,3$ ЯГФ (на 5,9 % та 26,3 % відповідно відносно 10 хв). При використанні даного способу в полі зору мікроскопа виявляється помірна кількість зайвих решток корму (креслення, В), проте відзначається недостатня чіткість.

Найбільш ефективним при копроовоскопічній діагностиці езофагостомозу свиней виявився запропонований спосіб (на 36,0, 4,6 і 0,2 % по відношенню до способів Фюллеборна, Маллорі та Котельникова-Хренова відповідно). При дослідженні фекалій свиней за даним способом виявляється найбільша кількість яєць - $42,08 \pm 1,6$ ЯГФ за найкоротший термін відстоювання (10 хв). Зі збільшенням часу відстоювання кількість виявлених яєць поступово зменшувалася. Так, при 15-хвилинному відстоюванні виявляли $37,44 \pm 1,7$ ЯГФ (що на 11 % менше порівняно з 10-хвилинним відстоюванням), при 20 хв виявляли - $36,96 \pm 1,3$ ЯГФ (що відповідно на 12,2 і 1,3 % менше порівняно із 10- та 15-хвилинним відстоюванням). Яйця паразита чітко проглядаються в полі зору мікроскопа та практично відсутні сторонні рештки корму (креслення, Г). Яйця паразита легко виявляти та проводити їх підрахунок.

Таким чином, позитивний ефект заявленої корисної моделі полягає у тому, що: спосіб має високу діагностичну ефективність (на 36,0, 4,6 і 0,2 % по відношенню до способів Фюллеборна, Маллорі та Котельникова-Хренова відповідно);

зажиттєвий спосіб діагностики езофагостомозу забезпечує високу ступінь видимості яєць паразитів при мікроскопії;

при використанні даного способу не встановлено деформації яйцевих елементів, а поле зору стає більш світлим і вільним від сторонніх домішок;

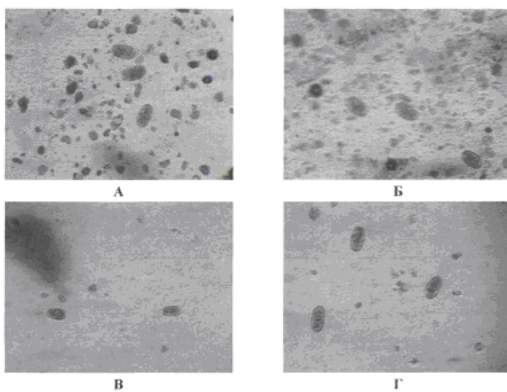
оптимальний час для відстоювання проб при використанні удосконаленого способу складає 10 хвилин;

спосіб дозволяє не лише встановити діагноз та ступінь ураження тварини (інтенсивність інвазії), а й вивчити особливості морфологічної та морфометричної будови яєць вищезазначених паразитів;

для здійснення способу не потрібні дефіцитні та дорогі прилади й матеріали.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб копроовоскопічної діагностики езофагостомозу свиней, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів, який **відрізняється** тим, що як рідину використовують комбінований розчин натрію хлориду та цукру у співвідношенні 1:1 з питомою вагою $\rho = 1,26-1,28$.



Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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