



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **134930** (13) **U**
(51) МПК (2019.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 21/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

| | |
|--|---|
| <p>(21) Номер заявки: u 2019 00057</p> <p>(22) Дата подання заявки: 02.01.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.06.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2019, Бюл.№ 11</p> | <p>(72) Винахідник(и): Стародуб Євген Сергійович (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Мельничук Віталій Васильович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ, вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003 (UA)</p> |
|--|---|

(54) СПОСІБ ЗАЖИТТЄВОЇ КОПРООВОСКОПІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТРИХОСТРОНГІЛЬОЗУ ГУСЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб зажиттєвої копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей включає дослідження посліду шляхом його 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 цукру та кальцієвої селітри у співвідношенні 1:1 з питомою вагою 1,30-1,33, а відстоювання проб проводять впродовж 9-11 хвилин.

UA 134930 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме до способів виявлення яєць збудників трихостронгільозу гусей, та може бути використана для своєчасного виявлення хворої птиці, визначення екстенсивності та інтенсивності інвазії, а також екстенс- та інтенсефективності антигельмінтних засобів.

5 Інвазійні хвороби гусей, зокрема й трихостронгільоз, є поширеним нематодозним захворюванням, що завдає збитків як невеликим приватним господарствам, так і в умовах промислового розведення. Внаслідок захворювання молодняк відстає в рості та розвитку, знижується вгодованість дорослої птиці, несучість та її племінна цінність.

10 Загальновідомо, що для проведення життєвої діагностики нематодозів гусей, в тому числі й трихостронгільозу, застосовують копроовоскопічні дослідження, а саме флотаційні методи діагностики, суть яких полягає у використанні розчинів з високою питомою вагою, що призводить до спливання яєць паразитів на поверхню розчину.

Нині відомо значну кількість флотаційних рідин, які мають різну діагностичну ефективність та мають свої переваги й недоліки, що істотно впливає на їх діагностичну ефективність.

15 Так загальновідомим є спосіб копроовоскопічної діагностики (Котельникова-Хренова), згідно з яким послід досліджують шляхом його розчинення у рідині у вигляді розчину аміачної селітри з питомою вагою 1,3.

20 Пробу посліду поміщають у склянку, заливають невеликою кількістю розчину аміачної селітри та за ретельного розмішування паличкою додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Потім 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 і проводять мікроскопію [див. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: Справочник. - М: Колос, 1983. - С. 47].

25 Недоліком способу є те, що внаслідок наднасичення флотаційного розчину відбувається швидке його висихання і кристалізація крапель на предметному склі, що ускладнює перегляд матеріалу. Через високу питому вагу розчину на поверхню досліджуваної проби разом з яйцями паразитів підіймаються рештки неперетравлених кормів, що також завдає труднощів при підрахунку та диференціації яєць паразита.

30 Також відомим є спосіб з використанням карбаміду (спосіб Мельничука та ін.) згідно з яким як флотант використовують насичений розчин карбаміду, питома вага якого коливається в межах 1,23-1,27.

35 Спосіб здійснюють наступним чином. З кожної проби пінцетом або паличкою беруть фекалії масою 3 г, поміщають у склянку (об'ємом 50 мл), заливають невеликою кількістю розчину карбаміду і ретельно розмішують паличкою 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 15 хв. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку із 3-5 різних місць, переносять на предметне скло і проводять мікроскопію за малого збільшення [див. Пат. на корисну модель №100202 Україна, u201501562, МПК (2015.01) А61D99/00. Спосіб копроовоскопічної діагностики трихурозу свиней / Галат В.Ф., Мельничук В.В., Євстаф'єва В.О., Пругло В.О.)

40 Недоліком вказаного способу є те, що при використанні вказаного розчину в теплому приміщенні його кристалізація на предметному склі відбувається впродовж 10-15 хвилин, що завдає труднощів при встановленні та вивченні морфологічних особливостей яєць паразита.

45 Найбільш близьким, який вибрано як найближчий аналог, є спосіб копроовоскопічної діагностики з використанням як флотанту насиченого розчину цукру (спосіб Маллорі), питома вага якого становить 1,3.

50 Спосіб по техніці виконання схожий з методом Котельникова-Хренова, але як флотаційний розчин використовують насичений розчин цукру. Метод включає дослідження посліду шляхом його розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів. Як флотаційну рідину використовують насичений розчин цукру (750 г кристалічного цукру розчиняють в 450 мл киплячої води, питома вага розчину 1,3) [див. Манойло Ю.Б., Методичні рекомендації щодо діагностики та засобів лікування за езофагостомозу свиней // Ю.Б. Манойло, В.О. Євстаф'єва, В.В. Мельничук. - Полтава, ТОВ НВП "Укрпромторгсервіс". - 2016. – С. 13].

55 Недоліки при використанні способу виражаються в тому, що насичений розчин цукру є досить густим і в'язким, що утруднює спливання яєць паразитів на поверхню розчину і значно знижує діагностичну ефективність.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення діагностичної ефективності способу та скорочення часу дослідження.

Поставлена задача вирішується у способі захиттевої копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей, що включає дослідження посліду шляхом його розчинення у флотаційній рідині з наступною фільтрацією, відстоюванням та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на наявність яєць паразитів, за рахунок того, що згідно з корисною моделлю, як флотаційну рідину використовують комбінований розчин цукру та кальцієвої селітри у співвідношенні 1:1 з питомою вагою 1,30-1,33, а відстоювання проб проводять впродовж 9-11 хвилин.

Спосіб захиттевої копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей проводять наступним чином. Спочатку готують комбіновану флотаційну суміш з двох інгредієнтів:

- в 1 л киплячої води розчиняють 800 г кальцієвої селітри, охолоджують та фільтрують;
- в 450 мл киплячої води розчиняють 750 г цукру, охолоджують, фільтрують.

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

Пробу посліду масою 1-3 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 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.

Для визначення ефективності відомих та запропонованого способу копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей було досліджено проби посліду від хворих на дану інвазію гусей, розраховуючи кількість яєць паразитів у 1 г.

Завідомо інвазований яйцями трихостронгільосів матеріал досліджували чотирма способами з різним терміном відстоювання фекальної суспензії (5, 10, 15 та 20 хвилин):

- 1) Котельникова-Хренова з використанням насиченого розчину нітрату амонію (найближчий аналог).
- 2) Маллорі з використанням насиченого розчину цукру (аналог 1);
- 3) Мельничука та ін. (аналог 2);
- 4) Запропонований спосіб.

Оцінювали способи за показником інтенсивності трихостронгільозної інвазії, результати отриманих даних відображені в таблиці 1.

Таблица 1

Діагностична ефективність методів копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей (n=20)

| Спосіб | Інтенсивність інвазії (M±m) | | | |
|--|-----------------------------|---------------|--------------|------------|
| | час відстоювання, хв. | | | |
| | 5 | 10 | 15 | 20 |
| Пропонований | 51,58±6,36 | 115,00±10,45 | 113,00±10,79 | 90,50±9,16 |
| Котельникова-Хренова – найближчий аналог | 33,33±3,76* | 56,00±8,99*** | 86,67±9,97 | 67,89±8,94 |
| Маллорі - аналог 1 | 34,55±4,74* | 51,76±7,29*** | 90,53±6,73 | 72,50±6,84 |
| Мельничука й ін. - аналог 2 | 46,67±5,36 | 88,42±6,72* | 107,00±8,98 | 78,50±7,82 |

Примітка: * - p<0,05, *** - p<0,001 - порівняно з показниками пропонованого способу

Встановлено, що найбільшу ефективність за копроскопічної діагностики трихостронгільозу гусей показав запропонований спосіб з використанням комбінованої флотаційної рідини за 10 хв. відстоювання проб (порівняно зі способами: Мельничука й ін. на 23,11 % (p<0,05); Котельникова-Хренова та Маллорі на 51,31 та 54,99 % (p<0,001) відповідно), що підтверджується статистично.

Приклад

З метою встановлення ефективності способу в умовах лабораторії проведено експериментальне дослідження 20-ти проб посліду, завідомо інвазованого яйцями трихостронгільосів за режимів, які виявилися найбільш ефективними. Визначали час, витрачений на підготовку проб до мікроскопії, а також на одне діагностичне дослідження. Послід від гусей досліджували за методиками способів найближчого аналога та пропонованого.

Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Порівняльна ефективність
способів копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей, n=20

| Спосіб | Показники часу, хв., M±m | |
|--|--------------------------|------------------------|
| | підготовки проби | час одного дослідження |
| Котельникова-Хренова / найближчий аналог | 18,35±0,10 | 23,29±0,16 |
| Пропонований | 12,32±0,09*** | 17,06±0,05*** |

Примітка: *** - $p < 0,001$ - порівняно з показниками способу прототипу

5 За використання способу, який вибрано як найближчий аналог, в середньому витрачено: на підготовку однієї проби до мікроскопії - 18,35±0,10 хв., на одне діагностичне дослідження - 23,29±0,16 хв. Найкращі показники отримано за використання запропонованого способу. В середньому витрачено: на підготовку однієї проби до мікроскопії - 12,32±0,09 хв., а на одне діагностичне дослідження - 17,06±0,05 хв.

10 Ефективність пропонованого способу в порівнянні зі способом, що вибрано як найближчий аналог, за показниками часу витраченого на: підготовку проб до мікроскопії, а також на одне діагностичне дослідження вища на 32,86 % та 26,75 % відповідно ($p < 0,001$).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб зажиттєвої копроовоскопічної діагностики трихостронгільозу гусей, який включає дослідження посліду шляхом його 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 цукру та кальцієвої селітри у співвідношенні 1:1 з питомою вагою 1,30-1,33, а відстоювання проб проводять впродовж 9-11 хвилин.

Комп'ютерна верстка М. Шамоніна

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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