УКРАЇНА

(19) UA (11) 114052 (13) U

(51) МПК (2016.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61D 99/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09169**

(22) Дата подання заявки: **01.09.2016**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **27.02.2017**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **27.02.2017, Бюл.№ 4**

(72) Винахідник(и):
Кручиненко Олег Вікторович (UA),
Прус Михайло Петрович (UA),
Клименко Олександр Сергійович (UA),
Михайлютенко Світлана Миколаївна (UA)

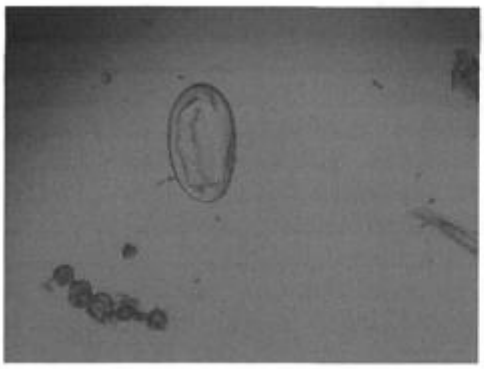
(73) Власник(и):
Кручиненко Олег Вікторович,
вул. Героїв Сталінграда, 7, кв. 90, м. Полтава, 36040 (UA),
Прус Михайло Петрович,
вул. Бурмістенка, 10, кв. 67, м. Київ, 03040 (UA),
Клименко Олександр Сергійович,
вул. Гожулівська, 26, кв. 72, м. Полтава, 36007 (UA),
Михайлютенко Світлана Миколаївна,
вул. Станіславського, 8, кв. 110, м. Полтава, 36023 (UA)

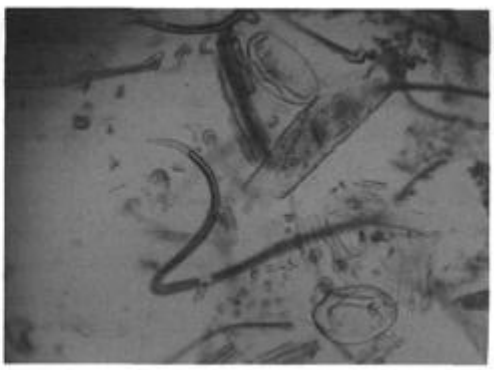
UA 114052 U

(54) СПОСІБ ЗАЖИТТЄВОЇ ДІАГНОСТИКИ ПАРАМФІСТОМАТИДОЗІВ У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

(57) Реферат:

Спосіб зажиттєвої діагностики парамфістоматидозів у великої рогатої худоби включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у воді, відстоювання, зливання, а потім центрифугування з флотаційною рідиною й мікроскопічне дослідження. Як флотаційну рідину використовують суміш із розчинів хлориду цинку, нітрату амонію та розсолу Полтавського бішофіту у співвідношенні 2:1:1.





Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме ветеринарної паразитології й може бути використана для виявлення яєць парамфістом і визначення інтенсивності інвазії при зажиттєвій діагностиці парамфістоматидозів у великої рогатої худоби.

На відміну від інфекційних і незаразних хвороб, діагноз на паразитози може бути поставлений лише у разі знаходження паразитів - збудників хвороби, їх фрагментів, яєць або личинок, для чого застосовують спеціальні способи зажиттєвої та посмертної діагностики. При цьому використовують різні модифікації способів зажиттєвої діагностики трематодозів, в тому числі й парамфістоматидозів великої рогатої худоби. Вони діляться на флотаційні, осадження й комбіновані. Суть флотаційних методів полягає в тому, що застосовують рідини з питомою вагою, що перевищують питому вагу яєць трематод. У разі застосування методів осадження використовують рідини з меншою, ніж у яєць питомою вагою. Комбіновані методи ґрунтуються на принципі осадження та подальшої флотації яєць трематод, тому вони ефективніші порівняно з вище наведеними методами досліджень.

Відомими аналогами є способи, що мають свої недоліки: трудомісткість їх виконання, висока вартість розчинів, негативна дія на яйця трематод, спливання разом з яйцями трематод решток корму, жирових включень, що також знижує ефективність способів.

Відомим аналогом є спосіб зажиттєвої діагностики за Г.А. Котельниковим та А.А. Вареничевим, що включає приготування флотаційного розчину хлориду цинку з розрахунку 2 кг на 1 л кип'яченої води (питома вага 1,82 г/л) та дослідження фекалій комбінованим методом. Для цього пробу фекалій 1 г кладуть у склянку, додають 30 мл води, ретельно перемішують паличкою зі скла і фільтрують через металеве ситечко з отворами 0,5×0,5 мм в іншу склянку та залишають у спокої на 10 хв. Потім поверхневий шар рідини зливають, а осад переносять до відцентрової пробірки й центрифугують упродовж 2 хв. за 1500 об./хв. Після цього надосадову рідину зливають, а до осаду додають флотаційний розчин і знову центрифугують також 2 хв. за 1500 об./хв. В подальшому за допомогою дротяної петлі беруть три краплі рідини з поверхневого шару, переносять на предметне скельце для мікроскопічного дослідження та виявлення яєць трематоди [Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. -М., 1984.-С. 46].

За даними авторів ефективність даного способу не перевищує 18,3 %.

Недоліком аналога є те, що в зв'язку з високою флотаційною здатністю, важко виявити яйця трематод, а поверхневий шар рідини забруднений частками фекалій, неперетравленими рештками.

Відомим аналогом є комбінований спосіб зажиттєвої діагностики фасціольозу жуйних тварин за І.С. Дахном та ін., що включає приготування флотаційної суміші із трьох компонентів: насиченого розчину хлориду цинку (на 1 л води 2 кг $ZnCL_2$, питома вага 1,82 г/л) і бішофіту (питома вага 1,29 г/л) у співвідношенні 1:1. За температури 20 °С питома вага флотаційної суміші становить 1,55 г/л.

Для цього 3 г фекалій переносять в склянку додають 50 мл води, розмішують й фільтрують через один шар марлі у відцентрову пробірку. Після центрифугування (1 хв. при 1000 об./хв.) воду зливають, а до осаду додають флотаційну суміш (розчин хлориду цинку й бішофіту) і знову центрифугують за тих же показників. Після цього знімають три краплі поверхневої рідини й переносять на предметне скельце для мікроскопії [див. патент України № A61D 99/00; заявл. 31.03.08. // Бюл. № 21 від 2008 р.].

Недолік аналога полягає в тому, що необхідно мати центрифужні пробірки об'ємом 75 мл (мало розповсюджені в торгівельній мережі) та два рази проводити центрифугування, що подовжує термін проведення досліджень.

Найближчим аналогом до корисної моделі є комбінований спосіб зажиттєвої діагностики фасціольозу жуйних, що включає приготування флотаційної суміші із трьох компонентів: розчину хлориду цинку (на 1 л води 2 кг, питома вага 1,82 г/л) 2 частини; розчину хлориду натрію (на 1 л води 420 г, питома вага 1,19 г/л) 1 частини і цукру - 1 частина (питома вага флотаційної суміші 1,53 г/л) та дослідження фекалій.

Для цього пробу фекалій 1 г кладуть у склянку, додають воду до об'єму 30 мл, ретельно перемішують і фільтрують через металеве ситечко з отворами 0,5×0,5 мм в іншу склянку. Відстоюють 10 хв, надосадову рідину зливають, а осад переносять до відцнетрової пробірки і центрифугують упродовж 2 хв. при 1500 об./хв. Потім надосадову рідину зливають, а до осаду додають флотаційну суміш із трьох компонентів і знову центрифугують також 2 хв. при 1500 об./хв. Після центрифугування за допомогою дротяної петлі беруть три краплі рідини з поверхневого шару і переносять на предметне скельце для мікроскопічного дослідження та виявлення яєць фасціол [Латыпов Д.Г., Лутфуллин М.Х., Горшкова Г.Г., Тимербаева Р.Р.

Модифицированный гельминтоовоскопический метод для диагностики трематодозов крупного рогатого скота // Тр. Всерос. Ин-та гельминтол. М., 2003. - Т. 39. - С. 136-145].

Недоліком найближчого аналога є швидка кристалізація крапель флотаційної рідини на предметному скельці (дослідження можна проводити протягом трьох годин), що знижує достовірність виявлення яєць фасціол. Спосіб не забезпечує точного визначення інтенсивності інвазії, так як поверхневий шар рідини в пробірці після центрифугування забруднений рештками корму, фекалій.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу зажиттєвої діагностики парамфістоматидозів у жуйних тварин, який забезпечує високий ступінь видимості яєць парамфістом у флотаційному розчині, що дає змогу не лише встановити діагноз та ступінь ураження тварини (інтенсивність інвазії).

Поставлена задача вирішується в комбінованому способі зажиттєвої діагностики парамфістоматидозів у великої рогатої худоби, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у воді, відстоювання, зливання, а потім центрифугування з флотаційною рідиною й мікроскопічне дослідження, в якому, згідно з корисною моделлю, як флотаційну рідину використовують суміш із розчинів хлориду цинку $ZnCL_2$, (2 кг на 1 л води, питома вага 1,82 г/л) 2 частини, 1 частину розчину нітрату амонію NH_4NO_3 (1,5 кг на 1 л води, питома вага 1,3 г/л) та 1 частину розсолу Полтавського бішофіту (питома вага 1,29 г/л). За температури 20 °С питома вага флотаційної суміші становить 1,53 г/л.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Пробу фекалій 3 г кладуть у склянку, додають воду до об'єму 50 мл, ретельно перемішують і фільтрують через металеве ситечко з отворами 0,5×0,5 мм в іншу склянку. Відстоюють 10 хв, надосадову рідину зливають, а осад переносять у відцентрову пробірку, до осаду додають флотаційну суміш із трьох компонентів й центрифугують 1 хв. при 1000 об./хв. За допомогою дротяної петлі беруть три краплі рідини з поверхневого шару на предметне скельце для проведення мікроскопії та визначення інтенсивності інвазії яєць парамфістом.

Лабораторне обладнання, яке використовувалось для досліджень пройшло метрологічну експертизу. У роботі використовували: ідентичний посуд, відцентрові пробірки об'ємом 10 мл, гельмінтологічні петлі діаметром 5 мм.

Виділені з матки трематод яйця парамфістом закладали в кількості 100 екземплярів у стандартні проби фекалій великої рогатої худоби масою 3 г, які були вільні від яєць парамфістом. Визначали діагностичну ефективність флотаційних сумішей при різних способах, а саме за способом І.С. Дахна та ін., Д.Г. Латипова та ін. та заявленим. За кожним способом фекалії досліджували у трьох повтореннях з експериментально закладеними яйцями парамфістом.

Таблиця

Ефективність комбінованих способів зажиттєвої діагностики парамфістоматидозів зі штучною закладкою яєць парамфістом

Яйця парамфістом	Виявлено відсоток яєць парамфістом у досліджуваних пробах		
	Заявлений спосіб	Спосіб І.С. Дахна та ін.	Спосіб Д.Г. Латипова та ін.
деформовані	36,2±0,11	29,1±0,52	28,9±0,81
недеформовані	5,4±0,3	9,3±0,41	5,8±0,26
Всього	41,6±0,31	38,4±0,93	34,7±1,07

Як випливає з даних таблиці, ефективність згідно з заявленим способом виявлення яєць парамфістом становить 41,6±0,31 %, із них недеформованих -5,4±0,3 %, а деформованих - 36,2±0,11 %.

Разом з тим заявлений спосіб ефективніше від способу І.С. Дахна на 7,7 %, а від Д.Г. Латипова - на 16,59 %, відповідно.

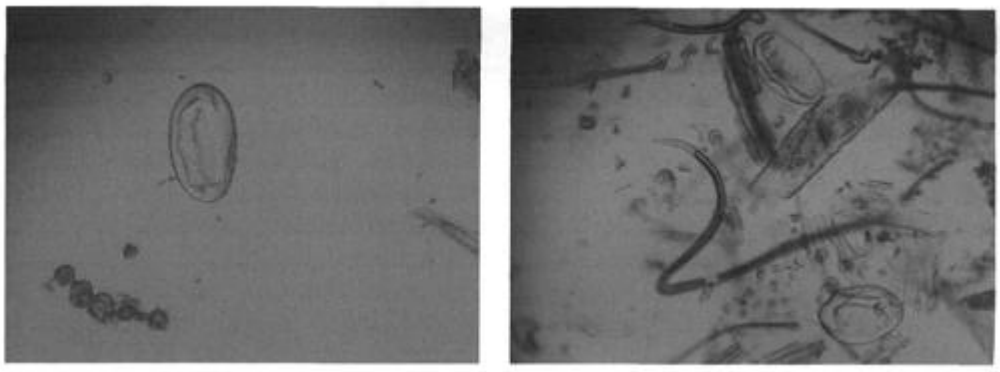
Використання бішофіту - екологічно чистого природного мінералу, хлориду цинку та нітрату амонію, що входять до складу флотаційної суміші дозволяє отримати після центрифугування чисту поверхневу плівку та продовжити тривалість мікроскопічного дослідження до 12 годин за температури від 10 до 25 °С, що дає змогу визначити інтенсивність інвазії за парамфістоматидозів.

Корисна модель пояснюється кресленням на фото зображена поверхнева плівка незабруднена й забруднена.

Таким чином, позитивний ефект корисної моделі полягає у тому, що спосіб має високу діагностичну ефективність (на 7,7-16,59 % вище у порівнянні зі способами І.С. Дахна та ін. та Д.Г. Латипова та ін. відповідно); зажиттєвий спосіб діагностики парамфістоматидозів великої рогатої худоби належить до копроскопічних комбінованих способів та забезпечує високий ступінь видимості яєць парамфістом під час мікроскопії; у разі використання заявленого способу поле зору стає більш світлим і вільним від сторонніх домішок, що свідчить про високу коагуляційну спроможність запропонованого розчину; спосіб дозволяє встановити діагноз та визначити інтенсивність парамфістоматидозної інвазії.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб зажиттєвої діагностики парамфістоматидозів у великої рогатої худоби, що включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у воді, відстоювання, зливання, а потім центрифугування з флотаційною рідиною й мікроскопічне дослідження, який **відрізняється** тим, що як флотаційну рідину використовують суміш із розчинів хлориду цинку, нітрату амонію та розсолу Полтавського бішофіту у співвідношенні 2:1:1.



Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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

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