



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **125750** (13) **U**
(51) МПК (2018.01)
G01N 1/00
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 21/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 12265	(72) Винахідник(и): Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Мельничук Віталій Васильович (UA), Єресько Вадим Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 11.12.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.05.2018	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.05.2018, Бюл.№ 10	(73) Власник(и): ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ, вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003 (UA)

(54) СПОСІБ ПОСМЕРТНОЇ ДІАГНОСТИКИ КАПІЛЯРІОЗУ ГУСЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб посмертної діагностики капіляріозу гусей включає розтин, підготовку зразка та виявлення нематод в осаді з тонкого відділу кишечника з подальшим визначенням інтенсивності капіляріозної інвазії шляхом мікроскопії у чашках Петрі. При цьому розтин птиці та дослідження тонкого відділу кишечника проводять не пізніше ніж через 6 годин після забою чи загибелі. Для підготовки зразка з одного кінця тонкий кишечник зав'язують лігатурою та заливають у просвіт кишки теплу воду (40-45 °C) до повного його заповнення та зав'язують лігатурою інший кінець, залишивши у такому стані кишечник на 20 хв. з подальшим порційним дослідженням отриманого осаду в чашках Петрі, а виявлення нематод проводять за допомогою стереоскопа за збільшення $\times 6,0$; $\times 7,5$.

UA 125750 U

Запропонований спосіб належить до галузі ветеринарної медицини, а саме ветеринарної паразитології, і може бути використаний при системному комплексному посмертному діагностичному обстеженні гусей на капіляріоз для визначення показників екстенсивності та інтенсивності інвазії з метою проведення оздоровчих заходів та запобігання збиткам у галузі гусівництва, а також для вивчення фауни та особливостей морфологічної та морфометричної будови капілярій гусей.

Відомий спосіб посмертної діагностики амідостомозу гусей, який включає виявлення нематод під кутикулою м'язового шлунка з наступним визначенням інтенсивності інвазії, при якому шлунок поміщають у теплу воду (37-40 °C) на 30-40 хвилин, гельмінтів, які вийшли на поверхню кутикули м'язового чи на залозистий шлунок, змивають водою та досліджують інтенсивність інвазії в отриманому осаді [див. Патент України на корисну модель №75591, Україна МПК (2012) u2012 05379, A61B 1/02. Спосіб посмертної діагностики амідостомозу гусей / Євстаф'єва В. О., Михайлютенко С. М.; заявл. 03.05.2012; опубл. 10.12.2012, бюл. № 23].

Недоліками вказаного способу є те, що не враховується місце локалізації капілярій, адже вони паразитують в тонкому відділі кишечника птиці. Крім цього, у зв'язку з тим, що нематоди є досить дрібними (довжина 11-18 мм, ширина 0,053-0,133 мм) та мають майже прозоре забарвлення кутикули, то неозброєним оком їх важко помітити в осаді.

Як прототип використано спосіб посмертної діагностики капіляріозу птиці [див. Патент України на корисну модель № 108684, Україна МПК (2016.01) u201601034, G01N 33/00, A61B 1/02 (2006.01). Спосіб посмертної діагностики капіляріозу птиці / Євстаф'єва В. О., Михайлютенко С. М., Клименко О. С - Заявл. 08.02.2016; опубл. 25.07.2016, бюл. № 14], який здійснюється наступним чином: після відбору шлунково-кишкового тракту єдиним органом комплексом ізолюють тонкий кишечник від товстого. Кишки розтинають по всій довжині, після чого їх разом із вмістом заливають водою, прополіскують в ній, вміст кишок фільтрують, а отриману рідину відстоюють протягом 30 хв., зливають поверхневий шар і знову додають воду. Процедуру послідовних промивань повторюють 2-3 рази, після чого надосадову рідину зливають, а до осаду додають кілька крапель 1 % спиртового розчину бриліантового зеленого з метою фарбування гельмінтів, витримують 5 хв. і досліджують під мікроскопом на наявність капілярій.

Недоліками вказаного способу є те, що фільтрація вмісту кишечника через сито призводить до втрати паразитів. Дослідження згідно з способом призводить до значних затрат часу (120-180 хв.). Фарбування ефективне лише для мертвих гельмінтів, що стосується живих - ефект забарвлення кутикули відсутній.

Задачею заявленого способу є створення методу посмертної діагностики капіляріозу гусей, який здатний підвищити ефективність, ергономічність та точність при діагностиці капіляріозу гусей. В сукупності всі ці показники дають змогу не лише встановити ступінь ураження (інтенсивності інвазії) гусей, а й отримати матеріал (особин капілярій) для вивчення особливостей морфологічної та морфометричної будови збудника і в той же час не втрачати високої діагностичної ефективності.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що розтин птиці та дослідження тонкого відділу кишечника проводять не пізніше, ніж через 5-6 годин після забою чи загибелі, для підготовки зразка з одного кінця тонкий кишечник зав'язують лігатурою та заливають у просвіт кишки теплу воду (40-45 °C) до повного його заповнення та зав'язують лігатурою інший кінець, залишивши у такому стані кишечник на 20-25 хв. з подальшим порційним дослідженням отриманого осаду в чашках Петрі. А виявлення нематод проводять за допомогою стереоскопу за збільшення $\times 6,0$; $\times 7,5$.

Для визначення оптимального часу для дослідження кишечника після забою чи загибелі птиці проведено експериментальне дослідження. З цією метою досліджено по 5 кишечника за різного терміну після забою чи загибелі птиці (до 60 хв., від 61 до 120 хв., від 121 до 180 хв., від 181 до 240 хв., від 241 до 300 хв., від 301 до 360 хв., від 361 до 420 хв., та від 420 до 480 хв.). Основну увагу приділяли показнику збереженості виявлених нематод. Під терміном збереженості розуміється виявлення екземплярів без порушення цілісності в їх будові відносно до загальної кількості виявлених нематод. Екземпляри, які належали до пошкоджених, мали дефекти тіла різного характеру (відсутність хвостового або головного кінців паразита, розриви кутикули в різних місцях тіла). Показник збереженості капілярій умовно поділили на високий, середній та низький рівень (95 % й вище, від 90 до 95 % та нижче 90 % відповідно). Отримані результати наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Показник збереження цілісності нематод залежно від часу дослідження (n=5), %

Термін дослідження матеріалу	До 60 хв	Від - до, хв.						
		61-120	121-180	181-240	241-300	301-360	361-420	420-480
Показник збереженості	*	*	**	**	**	***	**	**

Примітка: - *** - високий рівень збереженості; - ** - середній; - * - низький.

Встановлено, що високий показник збереженості нематод забезпечує дослідження птиці в термін від 301-360 хвилин (5-6 годин) після забою чи загибелі птиці. Середній показник збереженості капілярій отримано при дослідженні птиці в проміжок часу від 61 до 300 хв., а також від 361 до 480 хв. після забою чи загибелі птиці. Низький рівень збереженості капілярій отримано при проведенні дослідження в проміжок часу до 60 хвилин після забою чи загибелі.

Таким чином, найбільш ефективно досліджувати птицю через 5-6 годин після забою чи загибелі птиці.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Після забою птиці або її загибелі розтин необхідно проводити не пізніше, ніж через 5-6 годин. Після розтину та відбору тонкого відділу кишечника з вмістом, розрізаємо його на два-три однакових відрізки. В подальшому на один з кінців такого відрізка зав'язують лігатуру, всередину заливають теплу воду (40-45 °C) до повного його заповнення і зав'язують лігатурою. В такому стані кишечник залишають на 20-25 хв., після чого з тонкого кишечника з одного боку знімають лігатуру, вміст зливають в посуд, знову заливають всередину теплу воду, дещо прополіскуючи, та одразу зливають в посуд. Так необхідно зробити три рази. В подальшому отриманий осад відстоюють протягом 5-7 хв. та зливають поверхневий шар рідини і знову додають воду. Маніпуляцію з послідовними промиваннями проводять до максимального прояснення надосадової рідини. Потім надосадову рідину зливають, а осад невеликими порціями переносять в чашки Петрі. Аналогічні маніпуляції проводять з іншими відрізками кишечника. Виявлення нематод проводять за допомогою стереоскопа за збільшення $\times 6,0$; $\times 7,5$.

Приклад.

Було проведено дослідження 10-ти кишечника від гусей, інвазованих капіляріями, з метою визначення показників ефективності. Інвазованість птиці перед забоєм підтверджували копрологічними дослідженнями.

Завідомо інвазований матеріал досліджували за прототипом та пропонованим способом. Визначали інтенсивність капіляріозної інвазії, кількість пошкоджених капілярій при мікроскопії та час, затрачений на одне діагностичне дослідження.

Результати досліджень відображені в таблиці 2.

Таблиця 2

Порівняльна ефективність способів посмертної діагностики капіляріозу гусей, $M \pm m$ (n=10)

Спосіб дослідження	Інтенсивність інвазії, екз./птицю	Пошкоджено нематод, екз.	Час одного діагностичного дослідження, хв.
Спосіб посмертної діагностики капіляріозу птиці (прототип)	24,60 $\pm$ 1,29	2,60 $\pm$ 0,51	155,20 $\pm$ 3,03
Пропонований спосіб	35,20 $\pm$ 1,36	1,33 $\pm$ 0,26	71,60 $\pm$ 1,52

За використання способу, який вибрано як прототип, виявлено в середньому 24,60 $\pm$ 1,29 екземплярів капілярій, використовуючи пропонований спосіб, в середньому виявлено 35,20 $\pm$ 1,36 екземплярів нематод. З виявлених нематод у першому випадку в середньому 2,60 $\pm$ 0,51 екземплярів мали пошкодження різного характеру (відсутність хвостового або головного кінців паразита, розриви кутикули в різних місцях тіла), а в другому випадку - 1,33 $\pm$ 0,26 екземплярів капілярій. На одне діагностичне дослідження за використання прототипу

в середньому затрачено $155,20 \pm 3,03$ хвилин, а за використання пропонованого способу - $71,60 \pm 1,52$ хвилин.

- Ефективність пропонованого способу в порівнянні зі способом, що вибрано як прототип, за показниками інтенсивності інвазії, кількістю пошкоджених нематод вища на 30,11 %, 48,85 % відповідно. Водночас, на одне діагностичне дослідження за використання пропонованого способу затрачено в 2,2 разу менше часу в порівнянні з прототипом.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб посмертної діагностики капіляріозу гусей, який включає розтин, підготовку зразка та виявлення нематод в осаді з тонкого відділу кишечника з подальшим визначенням інтенсивності капіляріозної інвазії шляхом мікроскопії у чашках Петрі, який **відрізняється** тим, що розтин птиці та дослідження тонкого відділу кишечника проводять не пізніше ніж через 6 годин після забою чи загибелі, для підготовки зразка з одного кінця тонкий кишечник зав'язують лігатурою
- 15 та заливають у просвіт кишки теплу воду ($40-45^{\circ}\text{C}$) до повного його заповнення та зав'язують лігатурою інший кінець, залишивши у такому стані кишечник на 20 хв. з подальшим порційним дослідженням отриманого осаду в чашках Петрі, а виявлення нематод проводять за допомогою стереоскопа за збільшення $\times 6,0$; $\times 7,5$.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

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