



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100202** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61D 99/00
G01N 33/48 (2006.01)
A61K 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 01562	(72) Винахідник(и): Галат Владислав Федорович (UA), Мельничук Віталій Васильович (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Пругло Віра Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 23.02.2015	(73) Власник(и): Галат Владислав Федорович, вул. Бурмистенка, 12, кв. 22, м. Київ, 03040 (UA), Мельничук Віталій Васильович, пров. Бакинських Комісарів, 1-а, м. Полтава, 36009 (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна, пров. Бакинських Комісарів, 1-а, м. Полтава, 36009 (UA), Пругло Віра Олександрівна, бул. Богдана Хмельницького, 17, кв. 24, м. Полтава, 36004 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2015, Бюл.№ 13	

(54) СПОСІБ КОПРООВОСКОПІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТРИХУРОЗУ СВИНЕЙ**(57) Реферат:**

Спосіб копроовоскопічної діагностики трихуридозу свиней включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки. Як рідину використовують насичений розчин карбаміду.

UA 100202 U

Запропонована корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме - ветеринарної паразитології - трихуридозу свиней, і може бути використана при діагностичному дослідженні для своєчасного виявлення хворих тварин з метою проведення оздоровчих заходів та запобігання збиткам у тваринництві.

Зажиттєва лабораторна діагностика трихуридозу свиней, яка на сьогодні використовується ветеринарними спеціалістами, не дозволяє остаточно оцінити ступінь інвазованості свиней конкретним гельмінтозом.

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 прижиттєвої та посмертної діагностики. Для прижиттєвої діагностики нематодозів, в тому числі й трихуридозу, частіше всього користуються способи флотації (спливання). Вони ґрунтуються на тому, що як флотаційні розчини використовують рідини з питомою вагою, що перевищують питому вагу яєць гельмінтів. При цьому яйця паразитів спливають на поверхню такого розчину.

Відомі способи мають свої недоліки, пов'язані з їх трудомісткістю, високою вартістю розчинів, які використовуються, тощо. Деякі зі способів при їх використанні негативно діють на яйця паразитів, змінюючи їх форму, що, в свою чергу, утруднює діагностику паразитозів. Поряд з тим, негативним моментом є спливання разом з яйцями гельмінтів решток корму, що також знижує ефективність способів.

Так, відомий спосіб копроовоскопічної діагностики, згідно з яким фекалії досліджують шляхом їх розчинення у рідині, за яку використовують природний мінерал бішофіт (питома вага 1,27-1,31) з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки на предметному склі.

Пробу фекалій поміщають у стаканчик, заливають невеликою кількістю розчину і за ретельного розмішування паличкою додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Потім завись фільтрують через ситечко в інший стаканчик 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].

До недоліків даного способу відносять високу вартість витратних матеріалів (а саме розчину бішофіту), а також те, що розчин мало розповсюджений в торгівельній мережі. При різкому вливанні розчину в склянку з фекаліями на поверхні утворюється велика кількість пухирців повітря, що, в свою чергу, затруднює діагностику. Ще одним недоліком даного способу є те, що розчин має маслянисту основу, та при вимиванні зі склянок потребує додаткових зусиль порівняно зі способами, де використовують насичені розчини кухонної солі та аміачної селітри.

Відомий спосіб Ф. Фюллеборна, (1920) в якому для дослідження використовують насичений розчин кухонної солі, який готують наступним чином. 400 г солі розмішують в 1 л води, підігрівають до кипіння і розчинення солі, охолоджують, фільтрують через шар вати або марлі. Розчин використовують холодним. Питома вага такого розчину становить 1,2. Дослідження здійснюють наступним чином. Пробу фекалій поміщають в склянку місткістю 100-200 мл. Додають невелику кількість насиченого розчину і ретельно перемішують. Фільтрують отриману рідину через металеве ситечко або шар марлі та відстоюють 30 хвилин. Після цього гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку із 3-4-х різних місць, переносять на предметне скло та мікроскопують [див. Паразитарні хвороби м'ясоїдних тварин: навч. посіб. / Н.М. Сорока, Ю.Ю. Довгій, О.А. Дубова, Д.В. Фещенко, Т.І. Бахур; за ред. Ю.Ю. Довгія. Житомир: Полісся, 2014. - С. 193].

Недоліком даного способу є те, що флотація яєць відбувається досить тривалий час (30 хвилин), до того ж по відношенню із загальновикористовуваним насиченим розчином аміачної селітри він є недостатньо ефективним.

Найбільш близьким, який вибрано як прототип, є спосіб копроовоскопічної діагностики за Г.О. Котельниковим та В.М. Хреновим, (1972), згідно з яким фекалії досліджують шляхом їх розчинення у рідині, за яку використовують розчин аміачної селітри з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки.

Розчин готують з розрахунку на 1 л води 1500 г аміачної селітри. Селітру розчиняють в гарячій воді в емальованому посуді при постійному розмішуванні й підігріванні до кипіння. Охолоджують, фільтрують через шар вати або марлі. Щільність 1,3.

Пробу фекалій поміщають у стаканчик, заливають невеликою кількістю розчину аміачної селітри та за ретельного розмішування паличкою додають порціями розчин до об'єму 50 мл. Потім фільтрують через ситечко в інший стаканчик 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].

Недоліком способу є те, що через наднасичення флотаційного розчину з аміачної селітри відбувається швидке висихання і кристалізація крапель на предметному склі (протягом 8-10 хвилин), що ускладнює перегляд матеріалу. Через високу питому вагу розчину на поверхню досліджуваної проби підіймаються не лише яйця паразитів, а й рештки неперетравлених кормів, що, в свою чергу, завдає труднощів при встановленні інтенсивності інвазії чи вивченні морфологічних особливостей яєць паразита і, в кінцевому підсумку, негативно впливає на ефективність досліджень.

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

Поставлена задача вирішується в способі копроовоскопічної діагностики трихуридозу свиней, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки, в якому, згідно з заявленою корисною моделлю, як розчин використовують насичений розчин карбаміду, при наступному співвідношенні компонентів:

сечовина $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ гранульована 1400 г
вода 1000 мл.

При цьому флотаційний розчин карбаміду має питому вагу 1,23-1,27.

Спосіб здійснюють наступним чином. Готують насичений розчин карбаміду (сечовини - $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ наступним чином. В 1 л киплячої води розчиняють 1400 г карбаміду, помішуючи до повного розчинення, охолоджують, фільтрують через шар вати або марлі. Розчин використовують холодним.

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 інший стаканчик 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.

Для визначення ефективності відомих та запропонованого способу копроовоскопічної діагностики трихуридозу свиней проведено дослідження 50-ти проб фекалій від хворих свиней, які належали неблагополучним з трихуридозу господарствам, за методикою В.Н. Трача, вираховуючи кількість яєць трихурисів в 1 г фекалій (ЯГФ).

Інвазований яйцями трихурисів матеріал досліджували трьома способами з різним часом відстоювання фекальної суспензії:

1) спосіб Фюллеборна з використанням кухонної солі для виготовлення гіпертонічного розчину з часом відстоювання 5, 10, 15 і 20 хвилин;

2) спосіб Котельникова-Хренова з використанням аміачної селітри з часом відстоювання 5, 10, 15 і 20 хвилин;

3) запропонований спосіб з використанням карбаміду з часом відстоювання 5, 10, 15 і 20 хвилин.

При цьому визначали інтенсивність трихуридозної інвазії. Результати копроовоскопічних досліджень свиней відображені в таблиці.

Таблиця

Спосіб дослідження	Інтенсивність інвазії (II), ЯГФ, (M±m)			
	Час відстоювання			
	5 хв	10 хв	15 хв	20 хв
Запропонований спосіб	2,96±2,28	6,24±2,43	9,68±2,81	4,6±1,92
Спосіб Котельникова-Хренова	2,32±0,55	4,16±0,79	6,16±0,92	3,32±1,99
Спосіб Фюллеборна	1,2±0,55	1,6±0,36	2,16±0,36	1,54±1,35

При використанні з діагностичною метою способу Фюллеборна кількість виявлених яєць трихурисів коливалася від 1,2±0,55 до 2,16±0,36 ЯГФ. При відстоюванні фекальної суспензії протягом 5 хв виявляли найменшу кількість яєць паразита в пробах фекалій - 1,2±0,55 ЯГФ. При збільшенні часу відстоювання фекалій в гіпертонічному розчині кухонної солі кількість виявлених

яєць поступово збільшувалась та становила: при 10 хв - $1,6 \pm 0,36$ ЯГФ (на 25 % відносно 5 хв відстоювання), при 15 хв - $2,16 \pm 0,36$ ЯГФ (на 44,4 і 25,9 % відносно 5 і 10 хв відстоювання відповідно). При збільшенні часу відстоювання до 20-ти хвилин яйця паразита насичувалися розчином та осідали на дно склянки, про що свідчить зменшення на 28,7 % кількості виявлених яєць трихурисів ($1,54 \pm 1,35$ ЯГФ). При використанні даного способу в полі зору мікроскопа виявляється помірна кількість зайвих решток корму, що, в свою чергу, погіршує підрахунок інвазивних елементів при мікроскопії.

Використання способу Котельникова-Хренова характеризувалося збільшенням кількості виявлених яєць трихурисів (від $2,32 \pm 0,55$ до $6,16 \pm 0,92$ ЯГФ) відносно способу Фюллеборна (на 48,3-64,9 %). Так, при відстоюванні фекальної суспензії протягом 5 хв виявляли $2,32 \pm 0,55$ ЯГФ, 10 хв - $4,16 \pm 0,79$ (на 44,2 % відносно 5 хв відстоювання), 15 хв - $6,16 \pm 0,92$ ЯГФ (на 62,3 та 32,5 % відносно 5 і 10 хв відстоювання відповідно). Проте на 20-ту хвилину відстоювання кількість яєць паразитів зменшувалася майже на 46,1 % порівняно з терміном відстоювання протягом 15 хв та становила $3,32 \pm 1,99$ ЯГФ. В той же час, у порівнянні з попереднім способом (Фюллеборна) використовуваний спосіб був ефективнішим на 53,6 %. За використання способу Котельникова-Хренова в полі зору мікроскопа виявляється велика кількість зайвих решток, які, в свою чергу, ускладнюють виявлення яєць збудника трихуридозу та знижують чіткість видимості при мікроскопії.

Найбільшу ефективність при копроовоскопічній діагностиці трихуридозу свиней виявив запропонований спосіб (на 77,7 і 36,4 % відносно способів Фюллеборна та Котельникова-Хренова відповідно). Кількість виявлених яєць залежно від часу відстоювання фекальної суспензії складало: за 5 хв - $2,96 \pm 2,28$ ЯГФ, за 10 хв - $6,24 \pm 2,43$ (на 52,6 % більше відносно 5 хв відстоювання), 15 хв - $9,68 \pm 2,81$ ЯГФ (більше на 92,4 і 35,5 % відносно 5 та 10 хв відстоювання відповідно). При відстоюванні проб 20 хв інтенсивність трихуридозної інвазії зменшувалась до $4,6 \pm 1,92$ ЯГФ, (на 52,5 %) за рахунок осідання яєць трихурисів. Проте, навіть при зменшенні кількості виявлених яєць трихурисів запропонований спосіб на 20-ту хвилину відстоювання виявився ефективнішим (на 66,5 та 27,8 % по відношенню до способів Фюллеборна та Котельникова-Хренова відповідно). При цьому поле зору в дослідних зразках було більш світлим по відношенню до попередніх. Яйця паразита чітко проглядаються, в полі зору мікроскопа практично відсутні сторонні рештки корму. Яйця паразита легко виявляти та проводити підрахунок.

Таким чином, позитивний ефект заявленої корисної моделі полягає у тому, що:

- спосіб має високу діагностичну ефективність (на 36,4-77,7 % вище у порівнянні зі способами Котельникова-Хренова та Фюллеборна відповідно);
- прижиттєвий спосіб діагностики трихуридозу належить до копроскопічних флотаційних способів та забезпечує високий 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, що свідчить про високу коагуляційну спроможність запропонованого флотаційного розчину;
- оптимальний час для відстоювання проб при використанні способу для діагностики трихуридозної інвазії свиней складає 15 хвилин;
- спосіб дозволяє не лише встановити діагноз та ступінь ураження тварини (інтенсивності інвазії), а й вивчити особливості морфологічної та морфометричної будови яєць вищезазначених паразитів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб копроовоскопічної діагностики трихуридозу свиней, який включає дослідження фекалій шляхом їх розчинення у рідині з наступною фільтрацією та мікроскопією крапель з поверхневої плівки, який **відрізняється** тим, що як рідину використовують насичений розчин карбаміду при наступному співвідношенні компонентів:

сечовина $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ гранульована 1400 г
вода 1000 мл.

2. Спосіб копроовоскопічної діагностики трихуридозу свиней за п. 1, який **відрізняється** тим, що насичений розчин карбаміду має питомою вагою 1,23-1,27.

Комп'ютерна верстка М. Шамоніна

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