

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції
тваринництва, стандартизації та біотехнології

Кафедра зоогієни та ветеринарії

ПАРАЗИТОЛОГІЯ ТА ІНВАЗІЙНІ ХВОРОБИ ТВАРИН

методичні рекомендації

для лабораторно-практичних занять та самостійної роботи
для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти
ОПП «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»
спеціальності 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»
денної форми здобуття вищої освіти

Миколаїв
2022

УДК 576.89+636.09:616-002.9

П18

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету ТВШПТСБ Миколаївського національного аграрного університету від 21.03.2022 р., протокол № 9.

Укладач:

І. Х. Лумедзе – канд. вет. наук, доцент, завідувач кафедри зоогієни та ветеринарії, Миколаївський національний аграрний університет.

Т. П. Білопольська - канд. вет. наук, доцент кафедри зоогієни та ветеринарії, Миколаївський національний аграрний університет;

Т. С. Лумедзе – асистент кафедри зоогієни та ветеринарії, Миколаївський національний аграрний університет;

Рецензенти:

І. В. Наконечний – докт. біол. наук, професор кафедри екології та природоохоронних технологій Миколаївського національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова;

С. П. Кот – канд. біол. наук, доцент, Миколаївського національного аграрного університету.

Відповідальний за випуск:

І. Х. Лумедзе – канд. вет. наук, доцент, завідувач кафедри зоогієни та ветеринарії, Миколаївський національний аграрний університет.

© Миколаївський національний аграрний університет, 2022.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ.....	4
2. ГЕЛЬМІНТОКОПРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	5
2.1. Збір та консервування проб для гельмінтологічних досліджень	5
2.2. Дослідження фекалій на наявність у них статевозрілих гельмінтів 7	
2.3. Методи гельмінтоовоскопії	8
2.3.1. Методи послідовного промивання	9
2.3.2. Флотаційні методи	11
2.4. Методи гельмінтоларвоскопії.....	14
3. ГЕЛЬМІНТОГЕМАТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	17
4. ГЕЛЬМІНТОУРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	19
5. ГЕЛЬМІНТОДЕРМАТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	20
6. ДОСЛІДЖЕННЯ М'ЯЗОВОЇ ТА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИН НА НАЯВНІСТЬ ГЕЛЬМІНТІВ	21
7. ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ КОН'ЮНКТИВАЛЬНИХ ПОРОЖНИН	22
8. СПЕЦІАЛЬНІ ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	23
8.1. Дослідження за ехінококовою інвазією.....	23
8.2. Дослідження за трихінельозом.....	24
8.3. Дослідження за бовісного та целюлозного цистицеркозів.....	25
8.4. Спеціальна діагностика філяріатозів.....	27
8.5. Діагностика шлунково-кишкових стронгілятозів.....	28
8.6. Гельмінтологічні дослідження за стронгілоїдозною інвазією	28
8.7. Дослідження зскребків з періанальних складок за оксиуратозів.....	29
9. ІМУНОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ГЕЛЬМІНТОЗІВ	29
10. ДІАГНОСТИЧНА ДЕГЕЛЬМІНТИЗАЦІЯ.....	34
11. ПОСМЕРТНА ДІАГНОСТИКА ГЕЛЬМІНТОЗІВ	35
12. ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОМІЖНИХ ТА РЕЗЕРВУАРНИХ ЖИВИТЕЛІВ ГЕЛЬМІНТІВ	39
13. ОЦІНКА РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ ГЕЛЬМІНТАМИ ДОВКІЛЛЯ	41
14. ОСОБИСТА ПРОФІЛАКТИКА ПЕРСОНАЛУ ЗА ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	46
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	50

ВСТУП

Діагностика гельмінтозів вимагає комплексного підходу. Результати епізоотологічних та клінічних досліджень за життя тварин, а також дані про патоморфологічні зміни в тканинах трупа відіграють допоміжне значення. Провідна роль у вирішенні питань діагностики належить спеціальним дослідженням. У процесі їх виконання з продуктів життєдіяльності чи безпосередньо з органів макроорганізму (як зажиттєво, так і посмертно) виділяють гельмінтів на різних стадіях їх диференціювання та ідентифікують за морфологічними ознаками (макро- чи мікроскопічно).

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Гельмінти розрізняються тривалістю розвитку, а також сезоном масової інвазії тварин. Тому для діагностики гельмінтозів потрібно вибрати не тільки найбільш ефективний метод, але і термін дослідження. Методів дослідження тварин багато, і фахівцю буває важко вибрати найбільш ефективний і практично здійснений. Раціональний час досліджень визначають з урахуванням біології збудників і епізоотологічних особливостей захворювання. Масові дослідження тварин на гельмінтози, проведені у невідповідні терміни, не дадуть позитивних результатів.

Зажиттєва діагностика гельмінтозів тварин здійснюється комплексно на підставі анамнестичних і епізоотологічних даних, клінічних ознак, лабораторних досліджень, діагностичних дегельмінтизацій та імунобіо-логічних реакцій.

У постановці діагнозу на гельмінтози провідне значення мають лабораторні дослідження, які дають змогу за життя тварин виявити в екскретах (фекаліях та ін.), секретах і тканинах статевозрілих гельмінтів, їх яйця чи личинки. Статевозрілі гельмінти, що знаходяться в організмі хазяїна, відкладають яйця або народжують личинок, які залежно від їх локалізації виділяються в довкілля, або накопичуються в крові, лімфі та інших тканинах.

Частіше за все в довкілля яйця або личинки гельмінтів виділяються з фекаліями (тих гельмінтів, які паразитують в шлунково-кишковому каналі, органах, що сполучаються з ним, або в легенях, лобних пазухах, носовій порожнині, звідки виділення потрапляють в носоглотку і можуть бути заковтнутими). Крім того, яйця можуть виділятися із сечею (від тих гельмінтів, які паразитують в сечовому каналі), а також зі слинними виділеннями (личинки тих гельмінтів, які локалізуються в кон'юнктиві ока, у слізних залозах).

У крові та лімфі знаходяться личинки гельмінтів, які паразитують у замкнених порожнинах тіла, органах чи тканинах хазяїна та не сполучаються з довкіллям. Личинки трихітел мешкають у поперечносмугастій мускулатурі хазяїна.

Залежно від цільового призначення лабораторні дослідження поділяють на гельмінтоскопічні методи (виявляють статевозрілих особин гельмінтів), гельмінтоовоскопічні (знаходять гельмінтозні яйця) і гельмінтоларвоскопічні (виявляють личинок).

2. ГЕЛЬМІНТОКОПРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Зазвичай в лабораторній діагностиці проводять гельмінтокопрологічні дослідження, оскільки яйця та личинки найбільш розповсюджених гельмінтів виділяються у докiлля з фекаліями ссавців.

2.1. Збір та консервування проб для гельмінтологічних досліджень

Досить важливо правильно вибрати час для гельмінтокопрологічних досліджень. Їх проводять з урахуванням даних щодо сезонної динаміки того чи іншого гельмінтозу, препатентного періоду розвитку паразитів та ряду інших особливостей.

Існують певні правила техніки відбору та доставки фекалій в лабораторію для копрологічного дослідження. Копропроби фекалій вагою 20-30 г краще брати рукою в гумовій рукавичці безпосередньо із прямої кишки тварини чи свіжовиділені. В останньому випадку знімають верхній шар фекалій, що не торкався підлоги чи ґрунту в нижньому шарі фекалій, які були декілька годин на землі та підлозі тваринницьких приміщень, де міститься велика кількість дрібних вільноживучих нематод, їхніх яєць та личинок, які значною мірою перешкоджають під час гельмінтологічних лабораторних досліджень.

Досліджують 10 % поголів'я комплексу, ферми, відділку, табуну чи вікової групи, але не менше 30-50 та не більше 300 тварин кожної групи. Руки після взяття кожної проби ополіскують у відрі з теплою водою, яку міняють після взяття 20-25 проб.

Копропроби для відправки в лабораторію найкраще поміщати в целофанові пакети, а якщо фекалії рідкі, то їх пересилають у баночках. Проби обов'язково нумеруються. Разом з ними в лабораторію посилають опис, в якому вказують місце і час взяття проб, за необхідності клички та номери тварин. Проби пересилати та досліджувати потрібно якомога швидше, враховувати біологію гельмінтів, на наявність яких будуть проводитись дослідження, оскільки з яєць багатьох нематод через відповідний час вибульовуються личинки. Якщо немає можливості відразу ж переслати матеріал для дослідження, то проби фекалій зберігають у холодильнику за температури не вище 10 °С.

Крім того, інколи виникає необхідність тривалого зберігання проб фекалій для подальшого їх дослідження (наприклад з навчальною метою). Існує декілька способів консервування фекалій. При цьому застосовують наступні консерванти:

- 1) 4-10%-ний розчин формаліну (для зупинки розвитку яєць анкілостоматид розчин слід попередньо підігріти до 50-60 °С);
- 2) 0,2%-ний розчин азотнокислого натрію - 1900 мл, розчин Люголя - 250 мл, формалін - 300 мл, гліцерин - 25 мл (яйця гельмінтів зберігаються в цьому розчині до 6-8 місяців);
- 3) 1-1,5%-ні розчини детергентів "Лотос", "Екстра", "Тайд", "Барф" та ін. (консерванти змішують з фекаліями у рівних об'ємах, яйця гельмінтів зберігаються до року);

4) 2-складовий консервант (Sapero, Lawless, 1953): основний розчин (настойка мертіолату № 99, 1:100 - 200 мл, формаліну - 25 мл, гліцерину - 5 мл, дистильованої води - 250 мл) та розчин Люголя (5%-ний йод в 10%-му розчині йодистого калію). У пробірку поміщають 1 г фекалій, 10 мл основного розчину і 0,6 мл розчину Люголя, перемішують і закривають корком. Такі проби зберігаються не менше 6 місяців.

Для пересилки препаратів на предметних скельцях, покривне скло окантовують воском, парафіном, лаком або клеєм.

Для пересилки та зберігання самих гельмінтів крупні нематоди заливають рідиною Барбагалло (3 мл формаліну, 0,85 г повареної солі, 100 мл дистильованої води). Дрібні нематоди, цестоди і трематоди фіксують у 70⁰-му спирті.

Паразитичних червів можна зібрати під час гельмінтоскопічних досліджень та діагностичних дегельмінтизацій тварин (зажиттєво), а також під час проведення гельмінтологічних розтинів.

Невеликих трематод, цестод і скребликів спочатку розміщують між двома предметними скельцями, які перев'язують ниткою і кладуть у посуд з 70%-ним етиловим спиртом. Через кілька годин спресованих паразитичних червів виймають і переносять у пробірки, невеликі флакони, баночки з кришкою, заповнені 70%-ним етиловим спиртом для подальшого консервування та зберігання. У посуд вкладають також етикетки, на яких зазначають тушшю або звичайним олівцем місце та дату збирання гельмінтів (їх систематичне положення) і вид тварини. Нематоди та личинки цестод (цистицерки, ехінококи тощо) промивають у воді та переносять у посуд з рідиною Барбагалло (3%-ний розчин формаліну на фізіологічному розчині).

Виготовлення постійних мікропрепаратів гельмінтів. Для детального вивчення анатомічної структури паразитичних червів і визначення їх виду готують мікропрепарати, їх широко використовують з навчальною і науковою метою.

Для виготовлення мікропрепаратів із трематод і цестод використовують різні барвники, найчастіше галуновий кармін. Методика його приготування така: у 100 мл дистильованої води розчиняють 5 г калійного галуна, додають 2-3 г карміну, і суміш кип'ятять протягом 3050 хв. Після охолодження розчин фільтрують через паперовий фільтр. Для запобігання появі плісені до розчину додають кристалик тимолу або карболової кислоти. Для забарвлення цестод приготовлений розчин розбавляють дистильованою водою у співвідношенні 1:2.

Перед забарвленням гельмінтів їх переносять із 70 %-ного етилового спирту у воду і промивають протягом 6-15 год. Після промивання дистильованою водою паразитів поміщають на 10-45 хв у розчин карміну. Потім їх споліскують дистильованою водою і диференціюють у підкисленому спирті (5-7 крапель міцної соляної кислоти на 50 мл 70%-го етилового спирту).

Надалі гельмінтів промивають у воді, а для їх зневоднення витримують від 1 до 6 год у спиртах зростаючої міцності (60°, 70°, 85° та 96°). Після цього препарати освітлюють за допомогою карболксилолу (кар- болтолуолу), пізніше - ксилолу (толуолу).

На заключному етапі кожного гельмінта розміщують на окремому предметному склі у канадському або смерековому бальзамі. З цією метою можна застосовувати також кедрову або гвоздикову олію. Препарат висихає протягом кількох діб (у смерековому бальзамі - більше трьох місяців).

Для забарвлення нефіксованих стьожкових червів можна користуватися методом Блажина. Барвник готують таким чином: 30 мл молочної кислоти розчиняють у 100 мл дистильованої води, додають 0,3 г карміну і кип'ячать протягом 20-30 хв. Розчин охолоджують і фільтрують. Попередньо паразитичних червів промивають у воді (від кількох годин до 1-3-х діб). Потім їх переносять у розчин барвника. Дрібні цестоди забарвлюють протягом 30-60 хв, великі - 4-5 год і більше. Рекомендується контролювати ступінь забарвлення паразитів за допомогою лупи або мікроскопа. У разі перебарвлення для просвітлення цестод необхідно використовувати молочну кислоту. Після промивання забарвлених гельмінтів у воді їх поміщають на предметні скельця, підсушують, заливають канадським бальзамом і накривають накривним скельцем. Скреб-лики погано забарвлюються. Для просвітлення тіла цих гельмінтів використовують гліцерин. Із 70° спирту скребликів переносять у 50%-ний розчин гліцерину, пізніше - у чистий гліцерин.

Нематоди і сколекси цестод зневоднюють у спиртах різної міцності. Потім гельмінтів просвітлюють у карболксилолі і ксилолі, переносять на предметне скло і заливають канадським або смерековим бальзамом. Нематоди не забарвлюються, тому що їх кутикула не пропускає барвник. Вид гельмінта зазначають тушшю на етикетці або безпосередньо на склі.

З метою виготовлення з паразитичних червів тимчасових мікропрепаратів, для просвітлення використовують молочну кислоту, 50 %-ний розчин гліцерину. Після цього їх переносять на предметні скельця й досліджують під мікроскопом.

Для консервування безхребетних тварин (проміжних хазяїв гельмінтів) використовують рідину Барбагалло, або 5%-ний розчин формаліну. Ракоподібних після цього промивають, переносять у 70° спирт на 20-30 хв, а потім забарвлюють галуновим карміном або галуновим гематоксиліном. На заключній стадії їх зневоднюють у спиртах і просвітлюють у ксилолі. Молюсків висушують з метою одержання сухих черепашок.

2.2. Дослідження фекалій на наявність у них статевозрілих гельмінтів

Гельмінтоскопію застосовують як для життєвого, так і для посмертного підтвердження діагнозу, а також для визначення ефективності дегельмінтизації. У цьому випадку досліджують усі фекалії, виділені після введення антигельмінтика.

Найбільш простим методом гельмінтоскопії є *поверхневий огляд* фекалій, в яких за інтенсивної інвазії можна виявити гельмінти або їх фрагменти і встановити груповий діагноз на гельмінтоз.

Зі спеціальних гельмінтоскопічних методів ефективним є метод послідовного

промивання. Для цього збирають свіжі фекалії, невелику їх кількість розводять 5-10-кратним об'ємом води в будь-якій посудині, добре розмішують, відстоюють 5-10 хвилин, надосадову рідину зливають, потім знову доливають воду і розмішують у ній осад до тих пір, поки рідина не набуде прозорості. У результаті виділяється велика кількість сторонніх речовин, в осаді залишаються гельмінти і нерозчинні важкі частини фекалій. Отриманий осад досліджують частинами макро- і мікроскопічно.

Макроскопічне дослідження. Відмитий осад фекалій знову розводять водою, невеликими порціями наливають у кювету, половина дна якої зафарбована у чорний, а інша - у білий колір, або використовують прозорі скляні кювети, розміщуючи їх на чорному і білому папері. Потім осад оглядають, похитуючи кюветою. Дана маніпуляція пов'язана з тим, що деякі форми гельмінтів краще помітні на чорному фоні, інші - на білому. Таким чином оглядають весь осад. Всі гельмінти відбирають препарувальною голкою та фіксують. Потрібно врахувати, що за макроскопічного дослідження можна не виявити дрібні форми паразитів, тому у разі потреби матеріал досліджують мікроскопічно за допомогою штативної лупи (х 6-10). Осад досліджують порціями у бактеріологічних чашках за прохідного світла. Після збору гельмінтів проводиться визначення їх видового статусу.

Гельмінтоскопічний метод. За гельмінтоскопії (огляді) фекалій тварин можна виявити гельмінтів або їх фрагменти, які виділяються під впливом антигельмінтиків або довільно. Цей метод використовують для виявлення під час огляду фекалій цестод та їх члеників, великих нематод тощо. Щоб виявити дрібніших паразитичних червів, досліджують методом послідовного промивання одночасно всю порцію фекалій, а у великих тварин - частину фекалій. Для обліку ефективності антигельмінтиків збирають і досліджують фекалії тварин, виділені протягом 2-4 днів після призначення препаратів. Зібрані фекалії після попереднього огляду кладуть у велику банку, розбавляють 10-кратною кількістю води і ретельно розмішують паличкою. Після 10-15-хвилинного відстоювання верхній шар рідини зливають, а осад знову змішують з водою і відстоюють до осідання гельмінтів, їх фрагментів і важких частинок фекалій. Періодичне промивання і відстоювання фекалій повторюють до прояснення верхнього шару. Верхній шар рідини востаннє зливають, а осад невеликими порціями переглядають у кюветах з чорним і білим дном. Виявлених гельмінтів збирають за допомогою пінцетів, препарувальних голок і пензликів, переглядають під мікроскопом, після чого переносять у консервуючу рідину. Щоб виявити дрібні нематоди, осад додатково досліджують окремими частинами за допомогою бінокулярної або штативної лупи з 10-20-кратним збільшенням.

2.3 Методи гельмінтооскопії

Нативний мазок - найпростіший метод виявлення яєць гельмінтів. Застосовують у домашніх тварин всіх видів. Відібрану пробу фекалій перемішують. Беруть невеликий кусок фекалій (величиною з горошину) і розтирають

скляною або дерев'яною паличкою на предметному склі у краплі 50 %-ного розчину гліцерину, фізіологічного розчину чи кип'яченої води. Після видалення твердих частин мазок накривають покривним склом і досліджують під мікроскопом. На одному предметному склі можна робити два мазки. Від однієї тварини досліджують не менше 2-3-х мазків. Бажано віддавати перевагу при цьому гліцерину, а не воді, тому що гліцерин просвітлює препарат і запобігає висиханню. Такі мазки не можна досліджувати з великим збільшенням об'єктиву, тому за необхідності використовують окуляр x15. За допомогою нативного мазку виявляють тільки інтенсивні інвазії, тому його можна застосовувати тільки як доповнення до методів збагачення. Цим методом можна досліджувати фекалії на фасціольоз, аска- роз, трихуроз, стронгілідози та інші гельмінтози.

Метод закручування. 2-3 г фекалій розмішують скляною паличкою в 3-5-кратній кількості води до отримання однорідної суміші. Потім круговими рухами швидко "закручують" суміш в одному напрямі протягом 1-2 хвилин. При цьому яйця і личинки гельмінтів накопичуються біля кінця палички. Паличку швидко виймають, краплю суміші переносять на предметне скло, накривають покривним склом та досліджують під мікроскопом.

За допомогою цього методу можна виявляти й гельмінтозні личинки. Тому ним зручно проводити діагностичні дослідження за стронгілоїдозу, за якого в досліджуваних фекаліях (залежно від часу досліджень після акту дефекації або індивідуального відбору копропроби із прямої кишки) можуть бути яйця або личинки стронгілоїд, а за тривалого зберігання - і яйця, і личинки, і дорослі особини. Останні є відносно дрібними й також концентруються в центрі штучного „водовиру“, передбаченого методом.

Значно ефективнішою є гельмінтоовоскопія, здійснена за *методами збагачення*, які забезпечують більшу концентрацію яєць гельмінтів під час мікроскопії. До них належать методи осадження (седиментації або послідовного промивання, звичайної флотації та комбіновані методи флотації).

Під час використання методів осадження проводять мікроскопію просвітленого осаду. Флотаційні методи діагностики гельмінтозів базуються на принципі спливання (флотації) яєць гельмінтів у рідинах з високою густиною та подальшій мікроскопії поверхневого шару, в якому вони концентруються.

2.3.1 Методи послідовного промивання

Метод седиментації за М.В. Демідовим (1965). Фекалії розмішують у стакані з водою (1:20), завис фільтрують через марлю чи металеве сито в стакани, відстоюють 5 хв, зливають верхній шар, доливають води, збовтують і знову фільтрують в невеликі конічні стакани ємністю 40 мл. Процедуру послідовних промивань з 5-хвилинним відстоюванням повторюють 4-5 разів до повного просвітлення рідини над осадом. Потім надосадовий шар рідини зливають, а осад продивляють під мікроскопом за малого збільшення на предметних скельцях розміром 6-7x9- 13 см, чи в чашці Петрі. Метод застосовують для дослідження фекалій на фасціольоз і дикроцеліоз. Таким же способом можна

промиту осад, отриманий після дослідження фекалій флотаційними методами. У цьому випадку одну і ту ж пробу фекалій досліджують спочатку флотаційним методом на яйця цестод і нематод, а потім, промивши водою осад, на яйця трематоди і акантоцефалів.

Метод простого центрифугування. Фекалії (5-10 г) поміщають у стаканчик, додають 100 мл дистильованої води, перемішують скляною паличкою, фільтрують через сито в центрифужну пробірку і відстоюють протягом 20 хв, надосадову рідину зливають, до осаду додають рівну кількість гліцерину і центрифугують при 2400 об/хв протягом 5 хв. Надосадову рідину зливають. Краплю осаду переносять на предметне скло, накривають покривним склом і досліджують під мікроскопом. Метод рекомендується для виявлення яєць трематоди, трихостронгілід, метастронгілід, вегетативних форм і цист простіших і спорозоїтів.

Стандартизований метод послідовного промивання. Пробу фекалій 3 г розмішують паличкою в склянці з невеликою кількістю води. Помішуючи, додають воду до об'єму 50 мл. Суміш фільтрують в другу склянку, після чого фільтрат відстоюють 5 хв. Потім зливають або відсмоктують спринцівкою верхній шар рідини до осаду, додають до останнього таку ж кількість води, перемішують і знову відстоюють 5 хв. Ці маніпуляції повторюють до прояснення верхнього шару рідини в склянці. Рідину востаннє зливають, а осад наносять порціями на предметне скло для мікроскопії. Метод застосовують для діагностики трематодозів і акантоцефальозів у тварин.

Метод осадження з целофановими плівками за Г.О. Котельніковим і В.М. Хреновим. Завчасно готують плівки з целофану товщиною 22 мкм. Нарізані шматочки плівки розміром 2х3 см поміщають у чашки Петрі з 50 %-ним розчином молочної кислоти або гліцерину і витримують 24 години. Після цього плівки готові і можуть зберігатися в цих розчинах тривалий час. У 100 мл розчину можна приготувати 500 таких плівок. Для дослідження беруть 2 г фекалій, заливають водою, розмішують паличкою, додають воду до об'єму 50 мл. Суміш фільтрують у другу склянку і відстоюють 5 хв. Потім верхній шар рідини зливають, додають до осаду таку ж кількість води. Так промивають осад і другий раз. Рідину востаннє зливають, а осад наносять на предметні скельця і накривають готовими целофановими плівками. Через 5-10 хвилин препарати готові для дослідження під мікроскопом. Метод застосовується для дослідження на нематодози, трематодози і акантоцефальози. Ефективність його вища за попередній метод в 2 рази.

Метод Горшкова. Пробу фекалій (150-300 г) від коня кладуть на металеве сито або марлю у лійку з діаметром у верхній частині 1520 см. На нижній кінець лійки натягують гумову трубку довжиною 1015 см із затискачем на кінці. Фекалії заливають теплою водою і витримують 2-4 години, після чого затискач відкривають, рідину випускають в центрифугальні пробірки і центрифугують 3 хв за 1500-2000 об/хв. Потім рідину зливають, а осад досліджують під мікроскопом.

2.3.2 Флотаційні методи

Методи звичайної флотації

Флотаційні розчини. Як флотаційні використовують насичені розчини речовин з питомою вагою, що перевищує питому вагу яєць гельмінтів:

- натрію хлориду в кількості 400-420 г на 1 л гарячої води (питома вага такого розчину - 1,18-1,2);
- нітрату свинцю (азотнокислого свинцю) в кількості 650 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,5);
- нітрату амонію (гранульованої аміачної селітри) - 1500 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,3);
- сірчаноокислої магnezії - 920 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,26-1,28);
- гіпосульфїту натрію - 1750 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,38-1,4);
- сульфату цинку (сірчаноокислого цинку) - 400 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,24);
- нітрату срібла - 1000 г на 1 л гарячої води (питома вага - 1,4).

Метод Кофойда-Барбера в модифікації Фюлеборна (1927). Близько 5 г фекалій розмішують дерев'яною чи скляною паличкою у 20-кратній кількості насиченого розчину кухонної солі (400 г кухонної солі розчиняють під час кип'ятіння в 1 л води, фільтрують через шар марлі і вати, охолоджують; питома вага розчину - 1,18). Суміш готують у високій фарфоровій чи скляній баночці об'ємом 100-200 мл. Після розмішування цією ж скляною паличкою відразу ж видаляють на поверхні частки, що спливли, або суміш фільтрують через металеве сито і відстоюють протягом 30-90 хв. За цей час яйця гельмінтів, що мають меншу питому вагу ніж насичений розчин солі, спливають у поверхневий шар рідини. Після відстоювання дротяною петлею (діаметром 0,8 см), зігнутою під кутом, знімають поверхневий шар рідини, переносять на предметне скло, накривають покривним і досліджують під мікроскопом.

Цей метод добре виявляє яйця нематод (аскарисів, стронгілат, триху-рисів та ін.), а також цестод (теній, аноплоцефалят). Важкі яйця трематоди, більшості цестод та незапліднені яйця аскарисів спливають погано, і тому потрібно досліджувати препарати, приготовлені з осаду. Для цього рідину зливають, осад розводять водою, з дна беруть петлею з дроту чи піпеткою кілька крапель на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Простіше і ефективніше знімати поверхневу плівку рідини безпосередньо предметним склом. Для цього після видалення крупних частинок або фільтрування суміші баночку до країв доливають насиченим розчином кухонної солі і накривають предметним склом так, щоб його нижня поверхня повністю торкалась рідини. Через 45-90 хв скло знімають, швидко перевертають і проводять мікроскопію (без покривного скла) плівки розчину з яйцями гельмінтів, що пристала до скла. Для запобігання висиханню та випадінню кристалів солі до препарату додають краплю гліцерину.

Метод Калантарян з насиченим розчином азотнокислого натрію (селітри). Цей метод є більш ефективним ніж метод Фюлеборна, оскільки насичений розчин азотнокислого натрію має питому вагу 1,39-1,40. Готують розчин,

розчиняючи під час кип'ятіння один об'єм селітри в рівному об'ємі води. Техніка постановки така ж, як під час використання методу Фюлебо- рна, але поверхневу плівку знімають вже через 20-30 хв. Цей метод застосовується для діагностики нематодозів та цестодозів.

Метод флотації з розчином азотнокислого свинцю Г.О. Котельникова та В.М. Хренова (1981). Розчин азотнокислого свинцю (нітрату свинцю) готують із розрахунку 650 г солі на 1 л гарячої води в емальованому посуді за постійного розмішування і підігрівання. Фільтрація розчину не обов'язкова. Густина розчину - 1,5. Розчин використовують свіжовиготовленим (через добу з нього випадає осад і флотаційна здатність розчину знижується). У разі необхідності використання його у наступні дні, розчин потрібно підігріти до розчинення осаду. Пробу фекалій (3 г) поміщають у стаканчик, заливають невеликою кількістю розчину азотнокислого свинцю і за ретельного розмішування паличкою добавляють порціями розчин до об'єму 50 мл. Потім завись фільтрують через ситечко в інший стаканчик і залишають для дослідження на трематодози на 15-20 хв, а на інші гельмінтози - 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 за малого збільшення мікроскопа (x56). Яйця фасціол і парамфістоматат у цьому розчині деформуються, набуваючи форми півмісяця або овалу з тупими кутами. Додавання краплі дистильованої води до препарату відновлює форму яєць. Під час додавання до досліджуваних крапель на предметне скло гліцерину навпіл з водою (для запобігання висиханню, кристалізації розчину та просвітлення) препарат досліджують під мікроскопом.

Метод можна застосовувати для дослідження жуйних на трематодози, метастронгільоз; свиней - на аскароз, езофагостомоз, трихуроз, метастронгільоз і макроантарінхоз; коней - на параскароз, стронгілятози; молодняку тварин різних видів - на стронгілоїдози.

Флотація з центрифугуванням. Пробу фекалій (3 г) розмішують з флотаційним розчином як у попередньому варіанті. Суміш фільтрують через фільтр із комірками 0,5x0,5 мм в центрифугальну пробірку об'ємом 50 мл і центрифугують 1-2 хв за 1000-1500 об/хв. Потім пробірку накривають предметним склом так, щоб поверхня його торкалась суміші. Якщо рівень рідини нижче від країв пробірки, необхідно долити флотаційний розчин до одержання випуклого меніска. Через 5 хв скло знімають для мікроскопії.

Метод флотації з розчином нітрату амонію за Г.О. Котельниковим та В.М. Хреновим. Техніка виконання така ж, як і у попередньому методі (звичайна флотація). Профільтровану суміш відстоюють для флотації 10 хв. Застосовують для виявлення яєць аскаридотозів, трихоцефаліозів, рабдитатозів, оксіуратозів, стронгілятозів органів травлення та дихання, аноплоцефаліозів.

Стандартизований метод флотації з насиченим розчином амонію нітрату за Г.А. Котельниковим та В.М. Хреновим. Пробу фекалій (3 г) ретельно розмішують у склянці об'ємом 50 мл, додаючи порціями воду. Суміш фільтрують крізь сітку з комірками 0,5x0,5 мм та іншу склянку і відстоюють 5 хв. Верхній шар рідини зливають, залишаючи осад з над-осадовою рідиною в такій

кількості, щоб він вміщувався у звичайну центрифужну пробірку. Осад збовтують, переливають у центрифужну пробірку і центрифугують 1-2 хв з частотою 1000-1500 об/хв. Надоса- дову рідину зливають, а до осаду доливають розчин амонію нітрату (1500 г/л води), збовтують і центрифугують за такого ж режиму. Потім з поверхні суміші петлею знімають 3 краплі, переносять на предметне скло і мікроскопують.

Застосовують для діагностики метастронгілозу, аскарозу, трихуру- зу, стронгілоїдозу.

Експрес-метод флотації на предметних скельцях за Р.В. Сковронсь- ким. Невелику грудку калу кладуть на предметне скло, за допомогою піпетки додають 8-10 крапель насиченого розчину кухонної солі або аміачної селітри, змішують скляною паличкою. Грубі частинки фекаліїв видаляють препарувальною голкою. Розчин переливають на інше предметне скло. Беруть ще одне предметне скло, дотуляють його до краплі і розглядають під мікроскопом.

Метод є ефективним за високої і середньої інтенсивності інвазії.

Метод флотації з розчином нітрату натрію. Техніка виконання як за звичайної флотації. Краплю з поверхневого шару рідини знімають на предметне скло через 10-15 хв. У разі низької інтенсивності інвазії, у зв'язку з високою флотаційною здатністю розчину важко знайти яйця гельмінтів через те, що поверхневий шар рідини значно забруднений частками фекалій.

Метод флотації з розчином гіпосульфату натрію. Під час діагностики нематодозів трав'яїдних і свиней дослідження проводять методом звичайної флотації. Високу ефективність одержують під час дослідження рекомендованим методом флотації з гіпосульфатом натрію за Г.О. Ко- тельниковим та В.М. Хреновим. Час флотації складає 10-15 хвилин.

Метод Д.З. Болховітінова. Пробу фекалій (1 г) ретельно розмішують у ступці з 15 мл розчину гіпосульфату натрію (питома вага 1,3-1,4). Суміш проціджують через марлю у пробірку і центрифугують 3 хв за 1000-1200 об/хв. Після цього знімають поверхневу плівку за допомогою дротяної петлі, переносять на предметне скло для мікроскопії.

Комбіновані методи флотації

Комбіновані методи ґрунтуються на принципі осадження та подальшої флотації яєць гельмінтів, тому вони ефективніші порівняно з методами звичайної флотації.

Флотаційно-седиментаційний метод М.В. Демідова (1963). 3-5 г фекалій поміщають у стакан і ретельно розмішують з насиченим розчином кухонної солі (питома вага 1,18), відстоюють 15-20 хв, совком чи ложкою видаляють грубі частинки, які випливали на поверхню. Надосадову рідину відсмоктують спринцівкою або зливають. До осаду доверху доливають воду і розмішують. Завись фільтрують через металеве сито чи марлю в стакан, фільтрат відстоюють 5 хв. Потім відсмоктують поверхневий шар, залишивши на дні 15-20 мл осаду. Переливають осад у конічний стаканчик (об'єм 30-40 мл, внутрішній діаметр дна - 1,5-2 см), відстоюють завись 5 хв, відсмоктують рідину і повторюють

процедуру. Осад переносять на скло і досліджують. Метод застосовують для дослідження на фасціольоз.

Комбінований метод (модифікація Г.А. Котельникова та В.М. Хрєнова, 1981). Пробу фекалій (3 г) кладуть у стаканчик і, вливши невелику кількість води, ретельно розмішують під час додавання води порціями до об'єму 50 мл. Завись фільтрують через сито в інший стаканчик і відстоюють 5 хв. Надосадовий шар зливають, а осад переносять у центрифужну пробірку, наливають розчин гранульованої аміачної селітри (щільність 1,3) та центрифугують 1-2 хв. Потім металевою петлею знімають 3 краплі поверхневого шару, переносять на предметне скло та проводять мікроскопію з метою виявлення яєць гельмінтів. Метод можна застосовувати для діагностики метастронгільозу свиней. При цьому виявляють яйця аскарисів, трихурисів та інших нематод.

Метод Щербовича із сірчаноокислим магнієм за П.А. Щербовичем (1952) використовують для виявлення яєць з більш високою питомою вагою (наприклад, яєць метастронгілід). Для цього 920,0 г сірчаноокислого магнію розчиняють в 1 л гарячої води. Розчин фільтрують і охолоджують.

Пробу фекалій розводять водою і розмішують до отримання рівномірної зависі. Потім цю завись, перемішуючи, проціджують через металеве сито чи марлю в пробірку і центрифугують за 1000 об/хв 1-2 хв. Після цього верхній шар рідини зливають, а до осаду додають отриманий розчин сірчаноокислого магнію. Завись знову центрифугують за 1000 об/хв 1-2 хв. Після цього дротяною петлею знімають поверхневу плівку рідини і досліджують під мікроскопом на покривному склі.

Метод Дарлінга. Фекалії змішують з водою до напіврідкої консистенції, а потім центрифугують за 1000 об/хв 3-5 хв. Потім рідину із пробірки зливають, а до осаду додають рідину Дарлінга (гліцерин навпіл із насиченим розчином кухонної солі). Осад розмішують і знову центрифугують при 1000 об/хв 3-5 хв, після чого яйця гельмінтів спливають у поверхневий шар. Гельмінтологічною петлею знімають поверхневу плівку, переносять на предметне скло, накривають покривним і досліджують під мікроскопом.

2.4.Методи гельмінтоларвоскопії

Ці методи застосовують для діагностики диктіокаульозів жуйних та коней, протостронгілідозів овець, стронгілятозів шлунково-кишкового тракту жуйних, коней і стронгілоїдозів молодняка тварин різних видів.

Метод Бермана. 5-10 г свіжовиділених фекалій поміщають на металевій сітці (чи завернутими в марлю) в скляну лійку, прикріплену до штативу. На вузький кінець лійки надіта гумова трубка із затискувачем Мора. Лійку заповнюють теплою водою (38-40⁰) так, щоб фекалії тільки торкалися до теплої води. Личинки активно виповзають у теплу воду і поступово накопичуються в нижній частині лійки над затискачем. Через 1-3 г затискач відкривають і рідину спускають у 1-2 центрифужні пробірки. Після центрифугування за 1000 об/хв протягом 2-3 хв верхній шар рідини зливають, а осад переносять на предметне скло і досліджують. Можна на кінець гумової трубки надіти центрифужну

пробірку. Таким чином личинки накопичуються на дні пробірки. У країнах із жарким кліматом, коли температура навколишнього середовища наближається до температури води в лійці, Супрунов (1950) рекомендує покласти на сітку з фекаліями шматок льоду.

Модифікація методу Бермана за В.І. Шильниковим (1983) спрощує проведення досліджень. При цьому застосовують градуйовані склянки на 30 мл з формою зрізаного конуса. Проби загортають в марлеві серветки, розкладають в склянки і заливають теплою водою. Через 810 год проби обережно виймають. Рідину відстоюють 10-15 хв. Після цього склянки поволі нахиляють, зливають воду до появи муті. Залишок відстоюють 5-10 хв. Після цього склянки поволі нахиляють і піпеткою відсмоктують верхній прозорий шар води, доки в піпетку не почне всмоктуватися осад. За акуратного відсмоктування на дні склянки залишається 0,5-1 мл рідини. Осад забирають у піпетку, краплями виливають на предметне скло і проводять мікроскопію за малого збільшення. Якщо осад густий, в склянку наливають воду, осад збовтують і відстоюють 10-15 хв, після цього воду зливають. Осад не слід наносити на всю поверхню предметного скла, бо на перегляд крапель витрачається менше часу, до того ж концентрація личинок на одиницю площі в них досить велика. Після кожної проби піпетку ретельно промивають водою в двох банках шляхом глибокого засмоктування і випускання води. (Воду в банках міняють після дослідження 50 проб.) Матеріал для дослідження кладуть у склянки в кінці робочого дня, а вранці досліджують.

Модифікація методу Бермана за Щербовичем (1952) запропонована для діагностики диктіокаульозу. Пробу (6-10 г) фекалій кладуть на квадратний шматок марлі (8 x 8 см), кути з'єднують разом, з'єднують дротом і в підвішеному стані (на дроті) занурюють у склянку, заповнену водою температурою не вище 35 °С. Проби від великої рогатої худоби витримують 12-16 год, а від овець і коней - до 3 год. По закінченні цього часу мішечок із пробною виймають, зайву воду зі склянки зливають, а рідину, необхідну для наповнення однієї центрифугальної пробірки, змішують з осадом і вливають у центрифужну пробірку. Пробірки поволі центрифугують 1 хв. Після цього надосадну рідину із пробірки зливають, а осад на предметному склі мікроскопують.

Метод Вайда. На предметне чи годинникове скло кладуть 2-3 кульки фекалій і змочують їх водою (за температури 40⁰). Через 40 хв кульки видаляють та проводять мікроскопію крапель води на наявність личинок легеневих стронгілят. Метод застосовують тільки під час дослідження щільних фекалій (вівці, кози).

Зауваження. Для диференціальної діагностики живих личинок диктіокаулюсів від личинок інших стронгілят до осаду в пробірці чи на годинниковому склі додають 1-2 краплі 0,1%-го водного розчину метиленового синього (через 20-30 с личинки диктіокаулюсів фарбуються в бузковий колір, а личинки інших нематод не фарбуються).

Метод седиментації з центрифугуванням (експрес-метод за Котельниковим, Корчагиним та Хреновим). Проби фекалій (3-5 г) від овець і кіз поміщають у пробірки з водою (за температури води 20-22⁰). Пробірки центрифугують за 1500 об/хв протягом 2 хв, потім проби видаляють пінцетом, надосадову рідину зливають, а осад, струсивши, виливають на предметне скло та

проводять мікроскопію на наявність личинок легеневих стронгілят.

Метод Данцеско. Для діагностики стронгілоїдозу Данцеско (1967, 1971) використовують закриті прозорі пластикові коробочки (типу чашок Петрі). Із суміші фекалій з тваринним вугіллям на дні коробочки формують конус, вершина якого упирається в кришку. Личинки, що вилупились, виповзають із конуса і скопичуються в краплях конденсату на нижній поверхні кришки. Мікроскопію проводять через прозору кришку.

Вибірковий метод експрес-діагностики диктіокаульозу овець і кіз за Г.О. Котельниковим та В.М. Хреновим (1983) заснований на збудженні розчином сульфату цинку рухової активності личинок диктіокаул і швидкому виділенні їх із проби, а також на одночасній флотації личинок у поверхневий шар рідини і ларвоцидній дії розчину на личинки шлунково-кишкових стронгілят і стронгілоїдів. Оскільки питома вага личинок диктіокаулюсів 1,045-1,050, то для виділення їх із проби флотацією застосовують розчин сульфату цинку (щільністю 1,24) за температури 20-22 °С.

Проби фекалій овець і кіз масою 5 г кладуть у склянки з розчином сульфату цинку. Протягом 1-2 хв проби енергійно розганяють по колу паличкою (не розтираючи і не помішуючи). Не менше, ніж через 5-10 хв проби виймають пінцетом, суспензію залишають у спокої на 10-15 хв. Після цього металеву петлею (діаметром 8 мм) знімають з поверхні рідини 6 крапель, переносять їх на предметне скельце і проводять мікроскопію.

Проби напіврідкої консистенції від овець і проби від телят також кладуть у стаканчики з розчином сульфату цинку і витримують 2030 хв без розгонки і розмішування. Після цього (за необхідності) їх видаляють через декілька хвилин, знімають 6 крапель з поверхні плівки і проводять мікроскопію. Личинки диктіокаулюсів у поверхневій плівці зберігають рухливість до 3-х год. Личинки стронгілят травного каналу і стронгілоїд протягом 1-2 хв деформуються і руйнуються.

Вибірковий експрес-метод є ефективнішим за метод Бермана для діагностики диктіокаульозу овець у 1,5-2 рази. Застосуванням експрес-методу досягається, окрім високої ефективності, швидкість діагностичної відповіді.

Вирощування личинок стронгілят жуйних проводять з метою діагностики гельмінтозів взагалі і диференційної діагностики зокрема. Вирощування полягає у створенні для яєць гельмінтів, які знаходяться у фекаліях, сприятливих умов для того, щоб личинки вирости до інвазійної стадії. За особливостями будови їх тіла визначають збудників. Видову належність яєць стронгілят травного каналу жуйних, за рідким винятком (яйця нема-тодір), визначити неможливо. Тому методами овоскопії практично ставлять загальний діагноз (стронгілятози). Диференційний (за родом гельмінтів) діагноз визначають, враховуючи будову личинок.

Вирощування личинок за А.М. Петровим і В.Г. Гагаріним (1953). Проби фекалій (10 г) кладуть у склянки або чашки Петрі, злегка зволожують. Посуд із пробами фекалій закривають марлею і ставлять у термостат за температури 25-30°С на 7-10 днів, або на 10-12 днів за кімнатної температури. За цей період фекалії періодично зволожують водою. Личинки, що сформувалися в яйцях

стронгілят, вилуплюються, ростуть, розвиваються і двічі линяють (утворюють два чохлаки). Через 7-10 днів проби ставлять в апарат Бермана на 4-6 год. Личинки виходять із фекалій і опускаються на дно пробірки.

Оскільки личинки рухомі, то перед визначенням їх знерухомлюють. Для цього до осаду в пробірку додають 1-2 краплі 0,1%-го розчину йоду, 1-2 краплі 3%-го водного розчину формаліну або 2-3 краплі розчину, який складається з двох частин рідини Барбагалло, двох частин дистильованої води і однієї частини 5%-го розчину йоду. Після знерухомлення осад з личинками стронгілят поміщають на предметне скельце і проводять мікроскопію. У личинок вивчають загальну форму, розміри тіла, форму і кількість кишкових клітин, форму і величину хвостового кінця (без чохлака і у чохлаку).

Метод вирощування личинок стронгілят, що паразитують у кишечнику коней за П.Л. Величкіним (1983). Свіжі фекалії (50 г) кладуть у склянку і поміщають у термостат за температури 22-26 °С на 6-7 днів (влітку можна культивувати в сонячній кімнаті, а взимку в добре опалюваному приміщенні). Зверху склянки щільно закривають папером і зав'язують. Личинки досягають третьої стадії розвитку за температури 25-26 °С через 6-7 днів, за 20-22 °С - через 9—10 днів, за 15-18 °С - через 14-16 днів, нижче 8 °С розвиток не відбувається, а за понад 38 °С зародки дегенерують. Фекалії, які були на морозі, не закладають: яйця за низьких температур гинуть. Занадто зволожувати фекалії не слід, оскільки вологи достатньо в самих екскрементах. Інтенсивний розвиток грибків ("плісняви") на фекаліях свідчить про нормальні умови визрівання личинок. За температури вище 25-26 °С допускається невелике періодичне зволоження проб. У випадку зайвої вологості створюються умови для гниття, що пригнічує личинки і дає можливість розвитку вільно живучим нематодам та їх личинкам.

Для виділення личинок пробу фекалій завертають в марлю і кладуть у склянку з теплою водою (до 35 °С). Заздалегідь у склянку опускають предметне скельце так, щоб воно знаходилося під кутом до стінки склянки. Загорнуту пробу кладуть на це скло, завдяки цьому вона не контактує з дном склянки. Пробу можна покласти в склянку і на металевому ситечку. Через 2-3 год пробу обережно виймають, верхній шар рідини зливають, а осад виливають в чашку Петрі і проводять мікроскопію. Для знерухомлення личинок до осаду додають 5-10 краплин розчину Люголя, який фарбує личинки стронгілят у слабозовтий, а вільноживучих нематод - в інтенсивно-жовтий колір. Личинки стронгілят покриті гофрованим чохлаком з довгими хвостовими кінцями. У личинок вільно- живучих нематод немає гофрованого чохлака і двох хвостових кінців.

3. ГЕЛЬМІНТОГЕМАТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для виявлення личинок гельмінтів (філяріат, рабдитат, рідше гельмінтів інших систематичних груп) досліджують також кров.

Метод Куликова. З яремної вени беруть 20 мл крові і додають до неї 2 мл 3,8 %-го водного розчину лимоннокислого натрію. Потім кров відстоюють 20-25 хв. У пробірці утворюється 3 шари: нижній - осілі еритроцити, середній - лейкоцити і личинки нематод та верхній - сироватка. Тонкою піпеткою беруть

середній шар, наносять краплями на предметне скло, покривають покривним і досліджують під малим збільшенням мікроскопа.

Під час дослідження свіжих препаратів на предметному склі скляною паличкою роблять квадрат із вазеліну розміром з покривне скло. У центр квадрату наносять невелику краплю периферійної (із вуха) крові та злегка притискають покривним склом так, щоб кров розмазалась тонким шаром. Під мікроскопом можна побачити мікрофілярії, що рухаються між еритроцитами.

Диференціацію мікрофілярій за видами проводять у пофарбованих препаратах - мазках і товстих краплях. Приготовлені препарати висушують, гемолізують і фарбують за Романовським-Гімзою, Лейшманом, Райтом та ін.

За слабких інвазій беруть 2 мл крові з вени у центрифужну пробірку з 10 мл 1%-ної оцтової кислоти, перемішують і центрифугують протягом 2 хв за 1500 об/хв. Зливають поверхневий шар і осад продивляються під мікроскопом на предметних скельцях. Препарати можна фарбувати за Романовським-Гімзою.

Краплю крові, пофарбовану за Романовським, досліджують під малим збільшенням мікроскопа. Виявивши мікрофілярії, проводять додаткові фарбування гематоксиліном Хансена. Через 15-60 хв препарат промивають проточною водою протягом 2 хв. У разі перефарбування його диференціюють у 0,2%-ному розчині соляної кислоти. Досліджують препарат з імерсією. При цьому чохлик мікрофілярій буває зафарбований у блідо-фіолетовий, а ядерна субстанція тіла - у темно-фіолетовий колір.

Дослідження сироватки крові. Кілька кубічних мілілітрів венозної крові беруть у пробірку. Кров у пробірці згортається і мікрофілярії мігрують у сироватку. Через кілька годин піпеткою беруть кілька крапель сироватки у місці контакту її зі згустком крові чи із дна пробірки. Ці краплі поміщають на предметне скло, накривають покривним і досліджують під малим збільшенням мікроскопа для виявлення рухливих личинок.

Примітка. Якщо кров до дослідження тримали у холодильнику, то для того, щоб мікрофілярії стали рухливими, предметне скло із краплею сироватки перед дослідженням залишають за кімнатної температури.

Метод фільтрації Белла (1967). Апарат для фільтрації складається з лійки з нержавіючої сталі із прямокутним отвором меншого розміру фільтра. Для прискорення фільтрації створюють вакуум. Застосовуються прямокутні фільтри з порами розміром 0,8-5 мкм. До 1 мл крові у центрифугальній пробірці додають 9 мл фізіологічного розчину і 1 мл детергента - типолла (teepol). Закривши корком, пробірку кілька разів перевертають до повного гемолізу, а потім фільтрують в апараті. Пробірку і апарат споліскують свіжою порцією фізіологічного розчину, яку також фільтрують. Для приготування постійних препаратів осад на фільтрі ще в апараті фіксують, заливаючи киплячою дистильованою водою. Через кілька секунд після того, як вода профільтрується, фільтр знімають і фарбують як і товсті краплі - на скельцях, наприклад за Романовським-Гімзою. Фарбований фільтр висушують в ексікаторі чи в ізопропіловому спирті (попередньо у трьох чашках). Висушений фільтр просвітлюють на склі кількома краплями імерсійного масла і досліджують під

покривним склом. Фарбовані препарати можуть зберігатися кілька тижнів.

Нативний мазок. Краплю крові ретельно змішують на предметному склі з однією або двома краплями 50%-го розчину гліцерину, накривають скельцем і досліджують під мікроскопом (окуляр x10, об'єктив x8, 9). На одному склі можна робити два мазки. Від однієї тварини досліджують не менше 2-3-х мазків (цей метод можна використовувати як додаток до інших методів).

Метод роздавленої краплі. Краплю крові із периферичних судин наносять на предметне скло, додають 1-2 краплі 0,1%-го розчину метиленової синьки, досліджують під мікроскопом.

Метод Фюлеборна. У пробірку набирають 7-10 мл венозної крові. Відстоюють 10-12 хв за температури 35 °С до утворення сироватки крові, яку переносять у центрифужну пробірку і центрифугують 10 хв за 1000-1500 об/хв. Пастерівською піпеткою відбирають краплю осаду і поміщають на предметне скло, досліджують під мікроскопом.

Метод збагаченого мазка. У центрифужну пробірку вносять 0,1 мл венозної крові (2 краплі) і додають 1,5 мл 5 %-ної оцтової кислоти. Розмішують скляною паличкою. Центрифугують 5 хв за 3000 об/хв. Пастерівською піпеткою переносять краплю осаду на предметне скло і готують мазок. Фарбують за Папенгеймом, досліджують під мікроскопом.

Модифікований метод Кнотта. У центрифужну пробірку вносять 1 мл венозної крові, додають 10 мл 2 %-го розчину формаліну. Розмішують скляною паличкою і центрифугують 5 хв за 1500-3000 об/хв. Над- осадову рідину зливають, а до осаду додають 1 краплю 0,1 %-го розчину метиленової синьки. Відстоюють 5 хв. Краплю осаду переносять пастерівською піпеткою на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Метод Попової-1. У мірну колбу (на 50 мл) вносять 20 мл венозної крові і додають дистильовану воду (у співвідношенні 1:7). Розмішують скляною паличкою. Вміст колби переносять у центрифужну пробірку і центрифугують 3 хв за 5000 об/хв. Потім краплю осаду переносять пастерівською піпеткою на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Метод Попової-2. У центрифужну пробірку вносять 2 мл консервованої (водним розчином лимоннокислого натрію) крові і центрифугують 5 хв за 6000 об/хв. Надосадову рідину зливають, а до осаду додають 0,5 мл ізотонічного розчину. Вміст переносять піпеткою на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

4.ГЕЛЬМІНТОУРОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

У сечі можуть знаходитися паразитуючі у сечостатевої системі шисто- соми, їх яйця, личинки, а у разі великих уражень сечового міхура та супутніх інфекцій - еритроцити, кров'яні згустки, епітелій, гній та різноманітні солі. За значного забруднення сечу слід профільтрувати через дрібнопори- сте металеве сито. Якщо у сечі є кров і кров'яні згустки, до неї потрібно додати холодну дистильовану воду для гемолізу еритроцитів. Після цього сечу досліджують методами осадження чи центрифугування.

Метод осадження. Сечу в кількості не менше 50 мл відстоюють у конічному стакані протягом 30 хв. Відстояну сечу зливають, а краплю з осаду піпеткою наносять на предметне скло і досліджують під малим збільшенням мікроскопа. Якщо кількість яєць шистосом невелика, то їх можна виявити тільки за багаторазового мікроскопічного дослідження осаду сечі, зібраному протягом доби. Додавання до осаду 1-2 крапель 50%-го розчину гліцерину просвітляє осад і полегшує його дослідження.

Метод центрифугування (застосовують за низької інтенсивності інвазії). Пробу свіжої сечі поміщають у дві центрифужні пробірки по 10 мл і центрифугують за 1000 об./хв протягом 5-10 хв. Досліджують осад під мікроскопом. Рекомендується до препарату додати 1-2 краплі фарбника (розчину Люголя чи 1-2%-го водного розчину метиленового синього), що забезпечить кольоровий фон і полегшить виявлення яєць шистосом.

Метод Белла. 10 мл сечі фільтрують через паперовий фільтр в апараті Белла. Для прискорення процесу можна використовувати вакуумний насос. Після закінчення фільтрації на фільтр наносять кілька крапель розчину нин-гідрину для фарбування яєць, висушують його у сушильній шафі за температури 50 °С і підраховують кількість яєць за малого збільшення мікроскопа. Результат визначають за кількістю яєць в 1 мл сечі.

За методом Бредлі сечу фільтрують за допомогою шприца і спеціальної пластмасової насадки до нього, в яку поміщають паперовий фільтр.

Для виявлення мірацидіїв свіжовиділену порцію сечі центрифугують 5 хв. Осад переливають у колбу і додають воду 1:5-1:10. Мірацидії вилуплюються через 2 год, і вони видимі у вигляді крапок, що рухаються біля меніску рідини.

5.ГЕЛЬМІНТОДЕРМАТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження шкіри дозволяє виявити личинки філяріат, а також гельмінтів, що спричиняють дерматити (стронгілоїд).

Метод Стюарда (із доповненнями Гнедіної). На черевній стінці тварини виголюють волосся, дезінфікують шкіру, потім пінцетом відтягують її і ножицями, зігнутими по площині, вирізають поверхневий шар шкіри розміром 3x3x2 мм. Вирізаний шматочок поміщають на предметне скло у краплю фізіологічного розчину і ретельно розщепляють препарувальними голками. Потім частини шкіри видаляють, а рідину досліджують під мікроскопом.

Метод Чоботарьова. На холці, плечі чи передніх кінцівках виголюють ділянку шкіри розміром 5 см², дезінфікують, захоплюють у складку пінцетом і бритвою чи ножицями зрізають шматочок товщиною 3-4 мм та площею 2-3 см². Зрізи поміщають у пробірку, заливають 2-3 мл фізіологічного розчину (можна змішаного навпіл із сироваткою крові) і залишають на кілька годин у термостаті за температури 36-37 °С чи за кімнатної температури, після чого досліджують вміст пробірки на годинниковому склі під мікроскопом з метою виявлення личинок онхоцерків.

Можна взяти кілька зрізів (4-5), сильно здавити їх та із крові, що виділилась, і тканинної рідини готувати препарати товстої краплі, фарбуючи потім фарбою

Майора, Романовського-Гімзи чи гематоксиліном Делафільда.

Проводять цитологічне дослідження пунктатів із псевдопухлин і виразок на шкірі та м'яких тканинах на наявність гельмінтозних личинок.

Метод дослідження зскрібків шкіри. Виголюють уражену ділянку шкіри, дезінфікують і скальпелем роблять зскрібок. Переносять зскрібок на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Метод дослідження сукровиці зі зскрібків шкіри. Виголюють ділянку шкіри, дезінфікують і збирають пінцетом (пальцями) у складку. Ножицями Купера зрізають верхній шар. Щільно стискають кілька зрізів шкіри. Виділену сукровицю наносять на предметне скло. Готують препарат товстої краплі. Мазки фарбують (фарбою Майера, Романовського або гематоксиліном Делафільда) і досліджують під мікроскопом.

Метод дослідження виділень з уражених ділянок шкіри. Свіжу краплю крові, що витікає з горбків, наносять на предметне скло. Додають 2-3 краплі дистильованої води і змішують препарувальною голкою. Досліджують під мікроскопом.

6. ДОСЛІДЖЕННЯ М'ЯЗОВОЇ ТА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИН НА НАЯВНІСТЬ ГЕЛЬМІНТІВ

Для життєвої діагностики деяких гельмінтозів (трихінельоз, цистицеркози, ехінококоз, шистосомози, ценуроз, гетерофіоз і ряду інших) досліджують шматочки уражених органів чи тканин, отриманих методом біопсії.

Личинок трихінел життєво можна виявити методами компресорної трихінелоскопії та перетравлення в штучному шлунковому соці, в гістологічних зрізах, мацерацією чи експериментальним зараженням тварин (метод ксенодіагностики).

У свиней вирізають шматок вуха в передній його частині, ближче до основи вушної раковини, намагаючись провести біопсію скроневого м'яза. При цьому використовують спеціальні щипці, оснащені ріжучою коронкою діаметром 3-3,5 см. Біоптованого шматочка зазвичай досить для отримання 24 зрізів, які потім досліджують методом компресорної трихінелоскопії. Личинки можна виявити з 7-11-го дня після зараження. Цей метод виявляє від третини до половини заражених трихінелами свиней, які досліджується методом компресорної трихінелоскопії 24-х зрізів ніжок діафрагми. Він недостатньо ефективний, але у господарствах, неблагополучних щодо трихінельозу, може застосовуватись, зважаючи на простоту виконання.

Метод перетравлення м'язів у штучному шлунковому соці часто застосовується для дослідження туш свиней та диких хижих тварин. Це найбільш точний метод посмертної діагностики трихінельозу. У медичній практиці він застосовується і для життєвої діагностики трихінельозу людей. Метод описаний у розділі діагностики трихінельозу.

Для зараження лабораторних тварин (білих мишей, щурів, мурчаків та кроликів) їм згодовують досліджуване м'ясо. Через 2-3 дні в тонкому відділі кишечника експериментально заражених тварин можна виявити статевозрілих паразитів, а через 3-4 тижні - личинки трихінел у м'язах.

Гістозрізи для дослідження на личинки трихінел готують зі шматочків м'язів, фіксують у 10 %-ному розчині нейтрального формаліну, рідинах Буе- на, Зенкера, Карнуа та ін. Фарбують гістозрізи гематоксином Делафільда.

Для діагностики цистицеркозів підозрілий шматочок екстерпованих м'язів чи сполучної тканини спочатку обережно оглядають неозброєним оком, а потім, у разі виявлення цистицерка (білуватий, напівпрозорий міхурець розміром з горошину), його обережно відділяють, роздавлюють і під мікроскопом відшуковують сколекс. Для визначення життєздатності виділений цистицерк поміщають у суміш жовчі та фізіологічного розчину та ставлять у термостат за температури 37 °С на 10-60 хв. У живих цистицерків головка за цей час вивертається назовні. Обвапнених цистицерків попередньо декальцинують 4 %-ним розчином азотної кислоти протягом 1 години.

Біопсія слизової оболонки прямої кишки для діагностики кишкового шистосомозу. Для цього за допомогою пінцета виводять назовні слизову прямої кишки і вирізають з неї невеликий (розміром з рисове зернятко) шматочок. Останній роздавлюють між двома предметними скельцями і досліджують під малим збільшенням мікроскопа. За умов інвазії виявляють яйця шистосом.

Дослідження носових витоків. На перших стадіях розвитку шистосомозу перевіряють носові витоки шляхом нанесення кількох їх крапель на предметне скло та дослідження під малим збільшенням мікроскопа. Типові яйця *S' masale* мають форму бумеранга.

7. ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ КОН'ЮНКТИВАЛЬНИХ ПОРОЖНИН

Вміст кон'юнктивальних порожнин досліджують за телязіозу великої рогатої худоби та коней. Цей метод гельмінтоскопії заснований на принципі вимивання, збору та дослідження статевозрілих телязій виду родезія. Помічник фіксує голову тварини. Лікар або фельдшер двома пальцями лівої руки відкриває верхнє та нижнє повіки, а правою рукою вводить за третє повіко наконечник гумової груші, що містить 3 %-ний розчин борної кислоти, і під значним тиском рідини промиває порожнину кон'юнктивального мішка. Рідину, що витікає, збирають у підставлений кювет або тазик. Вимиті телязії збирають пензликом та проводять мікроскопію для уточнення виду (в окремих випадках вимиваються й телязії видів гульозу та скрябіні).

Методи гельмінтоларвоскопії застосовують для діагностики телязіозу великої рогатої худоби, що спричинюється видами телязії гульозу, скрябіні та телязіозу коней. Телязії, які локалізуються в протоках слізних залоз, виділяють личинки, які зі сльозом потрапляють до кон'юнктивального мішка. Для збору личинок у великої рогатої худоби, як і в попередньому випадку, за допомогою груші промивають кон'юнктивальний мішок фізіологічним розчином. На іригацію однієї кон'юнктивальної порожнини витрачають 75-100 мл розчину. Зібраний розчин відстоюють, верхній шар зливають, а нижній центрифугують. Осад мікроскопують на наявність личинок телязій. Ефективність методу - 30 %. Личинки телязій виявляють у всі сезони, але частіше навесні та влітку.

Коней досліджують таким же чином, як і велику рогату худобу, а також промиванням слъозно-носового каналу фізіологічним розчином. При цьому рідину, що витікає з очей за іригації, збирають в очну ванночку, центрифугують 2-3 хв, осад мікроскопують на наявність личинок телязій.

Змив зі слъозно-носового каналу одержують так. Через носовий отвір каналу, розташований на межі нижньої та медіальної стінок носової порожнини, місці переходу шкіри в слизову оболонку, вводять молочний катетер або спеціально сточену ін'єкційну голку, з'єднану гумовим шлангом зі шприцом Жане. Останній можна замінити гумовим балончиком. Шприц або балончик наповнюють фізіологічним розчином і промивають слъозно-носовий канал. Рідину, що витікає з медіального кута ока, збирають у посудину та досліджують як описано вище.

8. СПЕЦІАЛЬНІ ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

8.1 Дослідження за ехінококозної інвазії

Діагностика ехінококозу гранульозного. Для життєвої діагностики ехінококозу ларвального у сільськогосподарських тварин використовують імуноферментну реакцію (ІФР) та реакцію непрямой гемаглютинації (РНГА). Постановка реакцій здійснюється за відповідними настановами.

Діагностику ехінококозу імагінального (у хижаків) проводять за методами гельмінтооовоскопії або діагностичної дегельмінтизації.

Посмертний діагноз на ларвальний ехінококоз встановлюють під час експертизи туш та розтину трупів сільськогосподарських тварин, в яких знаходять ларвоцисти ехінокока. Ехінококозна ларвоциста - однокомірчастий міхур розміром від декількох міліметрів до 30-40 см, заповнений прозорою рідиною. Стінка міхурів складається з поверхневої (кутикулярної) та внутрішньої (зародкової або гермінативної) оболонок. На останній формуються сколекси (зародки). Кількість сколексів в одній цисті буває від декількох до 500 тис. Є міхурі без сколексів (ацефалоцисти).

Для визначення продуктивності ехінококозного міхура його вміст виливають у центрифужні пробірки, центрифугують. Отриманий осад досліджують під мікроскопом на наявність сколексів та гачків. Гачки ехінокока добре помітні в рідині міхура або в тканинних зрізах за умов фарбування за Цілю-Нільсеном.

Діагностика ехінококозу мультилокулярного. Діагноз на ехінококоз мультилокулярний ларвальний (у гризунів та сільськогосподарських тварин) ставлять посмертно: під час розтину черевної та грудної порожнин і виявлення в печінці та інших паренхіматозних органах багатоко-мірчастих ларвоцист (їх ще називають „альвеолярними пухлинами“). Останні в своїй структурі мають безліч міхурців (комірок) різного розміру та форми, заповнених рідиною. Більшість комірок мають сколекси, розміщені як на гермінативній оболонці, так і в ехінококозній рідині (як 30

і в однокомірчастого (гранульозного) ехінокока). „Пухлина“ ехінокока мультилокулярного має інфільтраційний ріст і заміщує своєю масою тканину ураженого органа.

У песців, норок, сріблясто-чорних лисиць, а також собак зажиттєвий діагноз ставлять методами гельмінтоовоскопії, посмертно - під час розтину тонкого відділу кишечника.

8.2 Дослідження за трихінельозу

Кожна туша сприйнятливих до трихінельозу тварин, яка використовується для споживання людиною, повинна бути досліджена на трихінельоз.

Діагностика трихінельозу тварин здійснюється зажиттєво та після забою.

Зажиттєво трихінельоз діагностують способом виявлення в сироватках крові тварин протитрихінельозних антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА). Після забою - способом виявлення личинок трихінел методами компресорної трихінелоскопії та перетравлення проб м'язів у штучному шлунковому соці.

Для дослідження методом ІФА від тварин відбирають сироватку чи плазму крові та досліджують їх згідно з настановами з використання діагностичних наборів.

Для післязабійної діагностики на трихінельоз відбирають дві проби м'язів по 80 г кожна від туш свиней - з ніжок діафрагми на місці переходу їх у сухожилля, від туш коней - м'язів кореня язика та жувальних м'язів. Від туш промислових тварин для дослідження відбирають зразки таких м'язів: від кабанів - передпліччя або діафрагми; від ведмедів - м'язову частину діафрагми, масетери або язик; від моржів - язик; від борсуків - м'язи ніжок діафрагми. У разі відсутності зазначених м'язів проби беруть із м'язової реберної частини діафрагми, м'язів стравоходу, міжреберних чи шийних м'язів у такій же кількості.

Для проведення компресорної трихінелоскопії беруть 2 проби м'язів, роблять по 24 зрізи з кожної розміром з вівсяне зернятко (всього 48 зрізів), із туш коней - роблять 120 зрізів. Зрізи поміщають у вічка нижньої пластини компресоріуму, покривають верхньою пластиною, притискаючи її гвинтами так, щоб через зрізи можна було читати газетний текст. Зрізи досліджують під малим збільшенням мікроскопа чи під проекційним трихінелоскопом.

Інкапсульовані личинки трихінел мають лимоноподібну або овальну форму. Довжина капсули - 0,5-0,7 мм, ширина - 0,2-0,3 мм. За вапняного переродження личинки в капсулі побачити важко. У такому випадку для уточнення діагнозу проводять перетравлення проб м'язів у штучному шлунковому соці.

Личинки трихінел під час проведення компресорної трихінелоскопії слід диференціювати від саркоцист та цистицерків. Саркоцисти (мікроцисти) на відміну від личинок трихінел не мають сполучнотканинної капсули, вкриті тонкою, прозорою оболонкою, бувають різної форми - круглі, овальні, веретеноподібні. Макроцисти виявляють візуально. Цистицерки на відміну від личинок трихінел розміщені між м'язовими волокнами, являють собою напівпрозорі еліпсоподібної форми розмірами від 6-10 мм до 815 мм і більше

міхурці, заповнені злегка опалесціючою рідиною, в якій міститься протосколекс. Їх виявляють під час візуальної оцінки туші.

За компресорної трихінелоскопії важко знайти личинок інкапсулюючих видів на ранніх строках інвазії, навколо яких ще не сформована капсула, та личинок неінкапсулюючих видів трихінел, таких, наприклад, як *T. pseudospiralis*.

Методом штучного перетравлення досліджують проби м'язів, відібрані з туш однієї або кількох тварин (2-50 туш). Маса проби м'язів від кожної туші свиней повинна бути не менше 5 г, від туш коней та промислових тварин - не менше 10 г. Якщо рекомендовані м'язи відсутні, відбирають альтернативні в кількості 10-20 г від туші. Перед дослідженням відібраних проб, шматочки м'язів звільняють від жиру, фасцій, крові і готують фарш на м'ясорубці з діаметром вічок решітки 3 мм. Штучний шлунковий сік готують безпосередньо перед дослідженням, використовуючи готові набори. За виняткових обставин штучний шлунковий сік готують за прописом: 25 %-ний розчин соляної кислоти - 16 мл, пепсин, призначений для перетравлення м'язів - 5-7 г, вода водопровідна (температура 45 ± 2 °C) - 1000 мл. Виготовлений штучний шлунковий сік виливають у хімічну склянку із плоским дном об'ємом 1-2 л і додають фарш. На 1 л штучного шлункового соку беруть 50 г фаршу. Склянку із сумішшю ставлять на магнітну мішалку з підігрівом і проводять перетравлення за температури 45 ± 2 °C з експозицією 30-60 хвилин. Після закінчення перетравлення, яке визначається візуально (від м'язового фаршу залишається легкий осад бурого кольору), перевар фільтрують через сито з діаметром вічок 300-400 мкм, зафіксоване у розділювальній лійці. Фільтрат у лійці відстоюють 30 хв для осаду личинок. Потім відбирають 40 мл осаду в мірний стакан і відстоюють 15 хв, 30 мл надосадової рідини обережно зливають або відбирають піпеткою, а осад виливають у бактеріологічну чашку та досліджують під малим збільшенням мікроскопа. У позитивних пробах знаходять декапсульовані личинки трихінел. За дослідження зразків м'язів даним методом відпадає необхідність проведення диференційної діагностики.

8.3 Дослідження за бовісного та целюлозного цистицеркозів

У зв'язку з тим, що клінічні ознаки теніозу сагінатного є нехарактерними, а за цистицеркозу у великої рогатої худоби вони відсутні взагалі, діагностика цих захворювань базується на результатах лабораторних досліджень. Останні передбачають для людей гельмінтооскопію: зскрібок з періанальних складок, методи Като, Гейна та ін. (а також опитування).

Зажиттєва діагностика цистицеркозу великої рогатої худоби не проводиться. Постановка посмертного діагнозу за цистицеркозу базується на огляді розрізів жувальних та інших скелетних м'язів, а також серця, та знаходженні в них живих чи мертвих цистицерків.

Бовісні цистицерки - міхурці поперечноовальної форми, сірувато - білого кольору, наповнені рідиною. Довжина цистицерка - від 5 до 15 мм, ширина - 3-8 мм. На внутрішній оболонці його є протосколекс. Із поверхні ця ларвоциста вкрита сполучнотканинною оболонкою.

Експертизу туші проводять в такій послідовності: оглядають і пальпують

губи, язик, масетери, потім серце, внутрішні органи та скелетну мускулатуру.

Поверхневі масетери досліджують, роблячи два розрізи, які проходять на глибині 2-3 та 8-11 мм по всій ширині м'язів, від нижнього краю нижньої щелепи до виличної кістки. Внутрішні масетери досліджують, роблячи один поздовжній розріз, що проходить паралельно поверхні нижньої щелепи по всій ширині м'яза - від краю щелепи до крилоподібної кістки.

Під час дослідження серця звертають увагу на стан епікарду. Потім роблять 1-2 поздовжніх та 2-3 поперечних ненаскрізних розрізи серцевого м'яза. Відкривають правий і лівий відділи серця, оглядають міокард та ендокард шлуночків і передсердь.

У разі виявлення розрізняють цистицерки живі (з вираженою структурою, містять прозору рідину та сколекс) та мертві (з порушеною структурою, слизоподібною масою в середині, або у стані організації та петрифікації).

Для посмертної діагностики можна використовувати люмінесцентні апарати (люміноскопи), які є джерелом ультрафіолетових променів. За наявності у м'язах чи органах живих цистицерків у місцях їх локалізації спостерігають яскраво-червоне світіння у вигляді круглих чи овальних утворень розміром від 1 до 9 мм.

Для виявлення живих цистицерків у м'ясному фарші досліджують його проби вагою 1 кг. Останні розкладають шаром до 1,5 см на темному фоні під ультрафіолетовими променями. Фрагменти пошкоджених цистицерків світяться яскраво-червоним світлом на темному фоні фаршу.

Діагностика теніозу-цистицеркозу целюлозного. Розроблена та використовується в практиці ветеринарної медицини післязабійна діагностика. Досліджують у тушах тварин на розрізах м'язи голови, язика, поверхневі та внутрішні жувальні, поперекові, лопатково-ліктьові, потиличні та м'язи серця.

За ветеринарно-санітарної експертизи туш великої рогатої худоби та свиней дослідження на цистицеркози проводять наступним чином. У разі виявлення на розрізах м'язів голови, язика або серця цистицерків роблять додатково по два паралельних розрізи шийних м'язів (у потиличній ділянці), грудних, лопатково-ліктьових, спинних, поперекових, м'язів тазових кінцівок та діафрагми.

Ветеринарно-санітарну оцінку туші й органів проводять залежно від ступеня ураження цистицерками. У разі виявлення на розрізах м'язів голови, язика або серця чи на одному з розрізів м'язів туші та субпродуктів чотирьох і більше живих або мертвих цистицерків, тушу, голову та внутрішні органи (крім кишечника) направляють на утилізацію. Внутрішній і зовнішній жир (шпик) знімають і направляють на витопку для харчових цілей.

У випадку виявлення на розрізах м'язів голови, язика або серця, чи на одному з розрізів м'язів туші та субпродуктів трьох і менше живих або мертвих цистицерків, голову, язик і внутрішні органи (крім кишечника) утилізують, а тушу піддають знешкодженню (проварюванням, заморожуванням або солінням). Внутрішній жир і сало знезаражують заморожуванням або перетоплюють.

Знешкоджені туші та субпродукти великої рогатої худоби, овець та свиней направляють на виготовлення варених виробів, паштетів або консервів (фаршевих), а м'ясо-кісткові та шерстні субпродукти - на промпереробку.

Кишки і шкури незалежно від ступеня ураження туші цистицерками після технологічної переробки випускають без обмежень.

8.4 Спеціальна діагностика філяріатозів

Відбір та пересилка проб крові. Матеріал для лабораторних досліджень відбирають з урахуванням сезонної динаміки, циклу розвитку відповідного філяріатозу та ін. Наприклад, зважають на те, що мікросетарії акумулюють в легенях, і збільшення їх кількості в цьому органі відповідає тій кількості личинок, які вийшли із периферичної крові. Висока інтенсивність інвазії спостерігається з 23-ї до 0 години, що збігається з часом живлення комарів, адже має місце синхронізація максимальної активності кровосисних членистоногих із максимальним числом мікросетарій у крові. Для дослідження відбирають кров у 10 % поголів'я тварин, але не менше ніж 30-50 і не більше 300 голів із кожної групи. Гемопроби доцільно зберігати в холодильнику (за температури не вище 10 °С).

У лабораторію можуть бути направлені препарати філяріат на предметному склі. Їх вкривають воском або парафіном, лаком чи клеєм. Великі гельмінти зберігають у рідині Барбагалло (3 мл формаліну, 0,85 г кухонної солі, 100 мл дистильованої води), невеликі - у 70 %-ному спирті.

Кров досліджують на наявність мікрофілярій за методами нативного мазку, збагаченого мазку, роздавленої краплі, за модифікованим методом Кнотта, методом Куликова, а також за 1-м та 2-м методами Попової, як описано вище (див. гельмінтогематологічні дослідження).

Метод дослідження сироватки крові за Фюлеборном базується на виявленні личинок нематод під час мікроскопічного дослідження центрифугованої сироватки крові. 7-10 мл венозної крові відстоюють в серологічній пробірці 10-12 хв за температури 35 °С до утворення сироватки крові. Останню переносять у центрифугальну пробірку. Центрифугують 10 хв за 1000-1500 об/хв. Пастерівською піпеткою краплину осаду наносять на предметне скло і мікроскопують.

Дослідження сироваток крові. За цього методу личинки філяріат виявляють під час мікроскопічного дослідження осаду сироватки крові. У серологічну пробірку вносять 7-10 мл венозної крові. Її відстоюють 10-12 хв за температури 35 °С до утворення сироватки крові. Краплю осаду піпеткою переносять на предметне скло, накривають покривним та мікроскопують.

Метод підрахунку мікрофілярій у стабілізованій крові за допомогою камери Горяєва (модифікація методу Попової). До осаду, отриманого за методом Попової (1), додають дистильовану воду (50:50). Відбирають 0,1 мл зависі, якою заправляють камеру Горяєва. В ній під мікроскопом підраховують кількість мікрофілярій.

Дослідження шкіри також дозволяє виявити в ній мікрофілярії. При цьому проводять цитологічне дослідження пунктатів із псевдопухлин і виразок на шкірі.

Гельмінтологічні дослідження шкіри за методами Чоботарьова, Стюарда (з доповненням Гнедіної), мікроскопії зскрібків шкіри та сукровиці зі зскребків, дослідження виділень із уражених ділянок шкіри, які викладені вище (див. гельмінтодерматологічні дослідження), також дозволяють виявляти (чи виключати) в ній наявність личинок філяріат.

8.5. Діагностика шлунково-кишкових стронгілятозів

Метод диференціювання кишкових стронгілят за інвазійними личинками. Яйця кишкових стронгілят жуйних і коней за розмірами та морфологією дуже схожі, і тому за ними можна поставити діагноз тільки груповий. Диференціювання стронгілят проводять за інвазійними личинками.

Для культивування личинок беруть невелику кількість свіжих фекалій і поміщають у стакан, чашку Петрі чи консервну банку. Посуд з пробами фекалій закривають марлею чи склом і ставлять у тепле місце чи термостат за температури 25-27 °С на 7 днів чи залишають на 10-12 днів за кімнатної температури, періодично зволожуючи водою. Після культивування фекалії досліджують за методом Бермана. Виділених інвазійних личинок стронгілят диференціюють до виду.

8.6. Гельмінтологічні дослідження за стронгілоїдозної інвазії

За Д.І. Панасюком та Т.П. Максінюю (1987) діагноз на стронгілоїдоз ставлять зажиттєво на основі виявлення яєць та личинок у фекаліях, личинок у молозиві та молоці підсисних свиноматок, крові поросят-сисунів і свиноматок; посмертно - у разі виявлення самок стронгілоїд у тонкому відділі кишечника (у дванадцятипалій кишці між ворсинками слизової оболонки), а також вилучення личинок з органів тварин після їх смерті.

У неблагополучних з цього захворювання господарствах для ранньої зажиттєвої діагностики стронгілоїдозу проводять дослідження молозива та молока підсисних свиноматок у перші дні після опоросу.

Молоко і молозиво для дослідження зціджують з вільного соска під час годівлі поросят-сисунів, обробивши попередньо соски 1%-ним розчином однохлористого йоду. Досліджують тільки свіже молозиво.

У мірний стакан відміряють 10 мл молозива, додають 10 мл чистої води кімнатної температури і обережно перемішують, не допускаючи утворення піни. На лійку з азбестовим фільтром надівають грушу і здавлюють до повного об'єму, в лійку повільно виливають вміст мірного стакана і трохи розжимають грушу, на фільтр доливають 10 мл чистої води, грушу розтискають до повного об'єму. Потім грушу від'єднують від лійки, видаляють її вміст і у стиснутому положенні знову з'єднують з лійкою. Злегка розтискають грушу, створюють вакуум між фільтром та грушею, а потім різко натискають на грушу. При цьому личинки стронгілоїд разом з міхурцями повітря та залишками води з пор фільтра підіймаються на поверхню до лійки. Додають 2 мл води і зливають уміст лійки на годинникове скельце. Для уточнення структури личинок готують препарат: із дна годинникового скла очною піпеткою беруть краплю рідини, поміщають на предметне скло, додають 10%-ний розчин Люголя або йодистого калію,

накривають покривним скельцем і мікроскопують.

Молоко, сечу, навколоплідну рідину, вміст грудної та черевної порожнин досліджують так. 10 мл досліджуваної рідини поміщають у лійку, додають 10 мл чистої водопровідної води і надалі досліджують як молозиво.

Кров для досліджень, дотримуючись правил асептики та антисептики, беруть у поросят і свиноматок із хвоста, вуха чи очного синуса. До 90 мл ізотонічного розчину натрію хлориду додають 50 крапель насиченого розчину сапоніну і ретельно змішують. До отриманого розчину шприцом поступово вводять 10 мл взятої крові і ретельно змішують. Червонувату прозору рідину, що утворилась, надалі досліджують як і молозиво.

Посмертний діагноз на стронгілоїдоз встановлюють у перші години смерті за гельмінтологічного розтину та збору статевозрілих гельмінтів зі слизової оболонки тонкого кишечника. У поросят-сисунів до 10-денного віку досліджують змиви з тонкого відділу кишечника, проби легеневої та печінкової тканин на наявність мігруючих личинок стронгілоїд.

Проби легень, печінки, а також частину тонкого відділу кишечника (дванадцятипалої кишки) подрібнюють, поміщають у лійку і до половини її об'єму доливають розчином штучного шлункового соку за температури 37 °С в нахиленому положенні так, щоб шматочки органів були повністю занурені в рідину. Лійку поміщають у термостат з температурою 37 °С, через 5 год виймають, ставлять у вертикальному положенні у штатив і відстоюють 10 хв. З лійки зливають 2-5 мл рідини і мікроскопують.

8.7 Дослідження зскребків з періанальних складок за оксиуратозів

Дослідження зскребків з періанальних складок проводять за діагностикою оксиурозу коней, ослів, мулів, пасалурозу кролів, оскільки самки оксиур відкладають яйця навколо ануса тварин. Маленькою дерев'яною лопаткою чи ватним тампоном, змоченим у 50 %-му розчині гліцерину, роблять зскрібок із періанальних складок, внутрішньої сторони кореня хвоста та ділянки промежини, який переносять на предметне скло в 2-3 краплі гліцерину, накривають покривним склом і досліджують під мікроскопом на наявність яєць оксиур.

Ефективність дослідження підвищується, якщо кінець лопаточки або сірника обгорнути шаром вати, який потім змочують розчином гліцерину, як зазначено вище.

9. ІМУНОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ГЕЛЬМІНТОЗІВ

Імунодіагностика важлива для розпізнавання ранніх стадій захворювання, виявлення тканинних гельмінтів, коли не можна використати ко- прологічні дослідження. За трихінельозу, а також ларвальних тенідозів (ехінококозу, ценурозу, цистицеркозів) імунологічні реакції є основним методом діагностики. Однак імунологічна діагностика гельмінтозів як у ветеринарній, так і в медичній практиці не має широкого застосування.

Заслужують на увагу імунологічні реакції за наступних гельмінтозів.

Для діагностики трихінельозу запропоновано декілька імунологічних реакцій: шкіряна алергічна (внутрішньошкірна), преципітаційні (кільце-преципітації, мікропреципітації на живих личинках трихінел, преципітації в капілярі, подвійній дифузії в гелі та урореципітації, реакція зв'язування комплекменту, непряма реакція імуофлуоресценції), ІФА (іму-ноферментний аналіз).

Імуоферментний аналіз для виявлення специфічних проти-трихінельозних антитіл є методом, за якого досліджують сироватку крові, відібрану до чи після забою тварин. ІФА дає змогу виявляти хворих тварин з дуже низьким рівнем інвазії (одна личинка на 100 г тканини). Така висока чутливість методу доводить його діагностичну цінність у дослідженні тварин на трихінельоз. Під час випробування ІФА було отримано менше ніж 0,3 % хибно-негативних результатів та майже 100 %-на чутливість під час виявлення заражених свиней з інтенсивністю інвазії більше ніж одна личинка на 100 г тканини.

Специфічність і чутливість ІФА значною мірою залежать від типу і якості антигену, який використовується для тесту. Як антигени для ІФА використовують соматичні та екскреторно-секреторні антигени (ЕС) стіхоцитів личинок (L1) *Tr. Spiralis*, які є глікопротеїдами з молекулярною масою 45-55 kDa і мають TSL-1-антигенну детермінанту.

ЕС-антигени *T. spiralis*, які використовуються в ІФА, присутні в усіх генотипах трихінел, тому інвазія може бути діагностована у свиней чи інших тварин, у сироватці крові яких присутні антитіла до будь-якого з 8 варієтетів. З метою стандартизації для приготування антигену рекомендується використовувати варієтет *T. spiralis*. Однак, показано, що антиген, виготовлений з будь-якої трихінели роду *Trichinella*, може використовуватись для виявлення антитіл у тварин незалежно від виду, яким вони були уражені.

Інші серологічні методи (наприклад, пряма імуофлуоресценція) недостатньо специфічні і є непридатними для діагностики трихінельозної інвазії.

Трихінельозна інвазія у тварин діагностується методом ІФА на 23-й тиждень після зараження. Гуморальна відповідь у свиней зберігається без зниження протягом щонайменше 6 місяців. Окрім того, серологічне тестування за допомогою ІФА має перевагу в порівнянні з методом перетравлення за рахунок більшої чутливості і дає змогу визначити трихінельозну інвазію в тварин з низьким рівнем ураження.

Принцип методу полягає в наступному. Під час внесення в лунки планшету зразків досліджуваних сироваток, антитіла, специфічні до *Trichinella spiralis*, зв'язуються з антигенами на твердій фазі, утворюючи комплекси антиген-антитіло. Утворені комплекси виявляють за допомогою імуоферментного кон'югату. Після відмивання незв'язаних компонентів у лунки додають розчин проявника - субстрат пероксидази та хромоген. Пероксидазну реакцію зупиняють, додаючи стоп-реагент та вимірюють оптичну густину (ОГ) суміші в лунках, яка за довжини хвилі 450 нм пропорційна концентрації специфічних антитіл у зразках сироватки крові.

Зразки сироваток крові отримують так: пробірку зі зразком крові ставлять у

термостат на 30 хв за температури 37 °С для швидкого формування фібринового згустку, після чого обводять останній від стінок пробірки стерильною пастерівською піпеткою та ставлять на 1 год в холодильник за температури 2-8 °С. Після цього проби центрифугують 510 хв при 3000 об/хв. Такі сироватки можна зберігати 72 год у холодильнику за температури 2-8 °С.

Якщо проби не вдається проаналізувати протягом терміну, вказаного вище, їх слід заморозити за температури мінус 20 °С або за нижчої температури. Не слід допускати більше двох разів заморожування та розморожування проб. Розморожені сироватки, які потребують повторного аналізу, не потрібно знову заморожувати.

Зразки сироваток крові мають бути прозорими, без ознак гемолізу, вираженої гіперліпідемії (хільозу) та бактеріємії.

Необхідно виключити можливість потрапляння навіть мікрокількос-тей однієї проби до іншої, проводити будь-які маніпуляції із сироваткою над штативом з пробірками та над робочим планшетом; для кожної проби слід використовувати окремий наконечник для піпетки.

Схема проведення аналізу залежить від тест-системи, яку використовують. Зокрема, якщо використовується діагностичний набір „Trichineliso test АВ“ (розроблений співробітниками кафедри паразитології та фармакології Білоцерківського національного аграрного університету та кафедри вірусології, мікробіології та біотехнології Національного аграрного університету), призначений для виявлення антитіл до *Trichinella spiralis* у сироватці крові свиней, коней, м'ясоїдних (ТУУ 24.4-23524007-729:2005), то аналіз проводять так.

Перед початком роботи компоненти набору витримують за температури 18-20 °С протягом 30 хв.

Готують розчин № 1 для промивання планшету. Для цього вміст флакону концентрату розчину № 1 інтенсивно струшують і розводять у 350 мл очищеної води та перемішують. Якщо концентрат розчину кристалізований, його нагрівають перед застосуванням за температури 35-37 °С до повного розчинення кристалів. Розчин можна зберігати за температури 2-8 °С не довше 5 діб.

Готуючи розчин кон'югату, в ампулу з кон'югатом вносять 0,30,4 мл розчину № 4 для розведення кон'югату. Вміст ампули переносять у флакон з розчином № 4 для його розведення кон'югату. Вміст флакону ретельно перемішують, не допускаючи піноутворення. Цю процедуру повторюють тричі з метою повного вилучення кон'югату з ампули. Розчин кон'югату готують безпосередньо перед використанням.

Для проведення аналізу виймають імуносорбент із пакувального пакету. У кожну лунку вносять по 0,095 мл розчину № 3 для розведення сироваток. В лунки імуносорбенту, крім 5 лунок першого ряду (лунки для контролів), вносять по 0,005 мл досліджуваних зразків. У лунки А1, В1 вносять по 0,005 мл позитивного контролю (К+), а в лунки D1-E1 - по 0,005 мл негативного контролю (К-). Під час внесення контрольних та досліджуваних зразків необхідно обережно піпетувати суміш. Накривають планшет клейкою плівкою та інкубують за температури 37 °С 60 хв. Після цього промивають лунки за

допомогою промивача чотири рази по 0,3 мл на лунку розчином №1, після чого звільняють від зайвої вологи, постукуючи по фільтрувальному паперу. В кожную лунку планшету вносять по 0,1 мл приготовленого розчину кон'югату. Накривають планшет клейкою плівкою та інкубують у термостаті за температури 37 °С протягом 20 хв. Після закінчення інкубації промивають лунки за допомогою промивача шість разів по 0,3 мл розчином № 1, після чого звільняють від зайвої вологи шляхом постукування планшетом по фільтрувальному паперу, як і у попередньому випадку.

Вносять у лунки планшету по 0,1 мл розчину хромогену ТМВ (розчин № 5). Накривають планшет клейкою плівкою та інкубують за температури 18-22 °С 20 хв у темному місці. Зупиняють кольорову реакцію внесенням до всіх лунок по 0,05 мл розчину № 2 (стоп-реагенту). Не більше як через 1 хв після зупинення кольорової реакції визначають оптичну густину (ОГ) в лунках за довжини хвилі 450 нм.

Для обліку результатів аналізу розраховують середнє значення оптичної густини (ОГ) для лунок негативного контролю (ОГ К-) і для позитивного контролю (ОГ К+). Проведення аналізу вважають коректним, якщо ОГ К- не вище 0,1 оптичної одиниці (ОО), а ОГ К+ не нижче 0,5 ОО. Якщо одне з трьох значень ОГ К- більше 0,1 ОО, або більше ніж в два рази перевищує середнє значення ОГ К-, його відкидають, а середнє значення ОГ К- розраховують за рештою значень ОГ К-. Граничне значення ОГ (ГЗ) розраховують, додаючи константну для кожної серії наборів величину, яка вказана в настанові з використання тест-системи. Результати аналізу вважаються негативними, якщо значення ОГ досліджуваного зразка менше рівня ОГ „сірої зони“. „Сіра зона“ - зона значень ОГ, яка простягається від ГЗ до значень, менших ГЗ на 10 %.

Результати аналізу вважаються позитивними, якщо значення ОГ досліджуваного зразка більше ГЗ. Зразки з величинами ОГ, що лежать у межах „сірої зони“, вважають невизначеними. Таких тварин рекомендується повторно дослідити цим методом через 3 тижні.

Алергічна діагностика трихінельозу. Методи постановки і врахування внутрішньошкірної алергічної реакції за трихінельозу не мають принципових відмінностей від загальноприйнятих. Клінічний прояв реакції характеризується місцевою гіперемією, набряком, місцевим підвищенням температури та інколи болем. Для визначення ступеня реакції вимірюють ширину і висоту набряку, а також товщину шкіряної складки до та після введення антигену. Ефективність шкіряної реакції визначається двома основними критеріями - чутливістю та специфічністю. Ці показники можуть істотно варіювати під час застосування різних антигенів і за різної інтенсивності інвазії. Так, однією з причин неспецифічних шкіряних реакцій з антигенами трихінел є сенсibilізація тварин гетерологічними гелмінтоантигенами, особливо антигенами з ехінококів. Неспецифічна реактивність підвищується також у разі патології печінки (цироз). Зважаючи на таке положення, цей метод імунодіагностики слід вважати допоміжним.

Для діагностики цистицеркозу великої рогатої худоби запропонований метод - *алергічна реакція М.П. Гнедіної*. Антиген готують наступним чином. Промитих

фізіологічним розчином цистицерків підсушують на фільтрувальному папері та сушать у термостаті за температури 37 °С три доби. Після цього їх розтирають у порцеляновій ступці, додатково підсушують в ексикаторі під сірчаною кислотою та розбавляють фізіологічним розчином у співвідношенні 1:100. Суспензію витримують 18 год за кімнатної температури та двічі фільтрують через паперовий фільтр Зейтца. Розлитий в ампули антиген дробно стерилізують на водяній бані за температури 58-59 °С. Його вводять внутрішньошкірно в ділянці шиї, у шкіру повіки або під хвостову складку. У тварин, уражених цистицерками, через 10-30 хв після введення антигену розвивається реакція: складка шкіри потовщується не менше ніж на 0,5 см. Реакція найбільш виражена через 2,5-3 год після введення антигену.

Для діагностики ларвального ехінококозу ставлять *алергічну реакцію Казоні*. Для цього застосовують спеціально приготовлений алерген, який перед використанням розводять фізіологічним розчином 1:750. Отриману суспензію вводять внутрішньошкірно в повіку, під хвостову складку або в іншу ділянку тіла в дозах: вівцям - 0,2 мл, великій рогатій худобі - 0,5-0,75 мл. У разі правильного введення алергену на місці ін'єкції утворюється припухлість величиною з маленьку горошину - в овець та з більшу горошину - у великої рогатої худоби. Під час введення алергену в шкіру повіки результати враховують через 3 год - у овець і 2 год - у великої рогатої худоби. Встановлений стандарт оцінки реакції в овець такий: за розміру набряку до 2 см - реакція негативна, від 2,1 до 2,4 - сумнівна (або слабопозитивна), від 2,5 см і вище - позитивна. Для великої рогатої худоби стандарт інший: за ширини пухлини до 3,5 см - реакція негативна, від 3,6 до 4,5 см - сумнівна (або слабопозитивна), від 4,6 см і вище - позитивна.

За внутрішньошкірного введення алергену під хвостову складку позитивна реакція виявляється вже через 10-20 хв і досягає максимуму через 1-2 год. Реакція супроводжується припуханням, почервонінням шкіри, місцевим підвищенням температури.

Як алерген можна використовувати також рідину, стерильно взяту зі свіжих ехінококових міхурів, яку профільтрували. Слід брати рідину тих міхурів, де були сколекси.

Р.С. Шульц та Р.Г. Ісмагілова (1962) для діагностики ехінококозу запропонували високоспецифічну *реакцію сколексопреципітації*. На предметне скло з луночкою наносять краплю стерильного фізіологічного розчину із суспензією зародкових сколексів. Сюди ж додають краплю досліджуваної сироватки. У контрольних препаратах до такої краплі з сколексами додають сироватку крові від заздалегідь здорової тварини і до іншої - фізіологічний розчин. У всіх трьох препаратах сколекси розгортаються, оголюючи хоботок. Подальші зміни відбуваються через добу, коли преципітати видимі чіткіше.

Метод алергічної реакції шкіри базується на алергічній реакції організму до специфічного антигену (ефективність реакції - понад 80 %).

Антигени для алергічних реакцій готують за різними методиками з гельмінтів, суспензій, екстрактів. При цьому статевозрілих гельмінтів висушують, розтирають у ступці. До отриманого порошку додають ізотонічний розчин

натрію хлориду (1:100). Розмішують скляною паличкою і витримують 30 хв у водяній бані за температури 56 °С. Потім суміш охолоджують, екстрагують у холодильнику за температури 3 °С протягом 6-8 діб. Фільтрують через фільтрувальний папір, розливають в ампули. Повторно нагрівають. Термін придатності - 3-4 місяці за умов зберігання в холодильнику.

Реакцію ставлять наступним чином. У місці ін'єкції вистригають ділянку шкіри розміром 10-12 см. Її обробляють 3 %-ним розчином карболової кислоти, а потім - 96 ° спиртом. Вводять підшкірно 1 мл антигену.

Через 10-12 хв відмічається припухлість блідо-рожевого кольору з червоно-фіолетовим відтінком по периферії. За 30-45 хв припухлість збільшується до 5 см у діаметрі. За пальпації вона гаряча, болюча і набрякла. Протягом 1-1,5 год реакція спадає, набряк зменшується, а протягом 3-5 год набряк, почервоніння і болючість шкіри зникають.

Алергічна внутрішньошкірна проба за ценурозу овець та великої рогатої худоби проводиться спеціально виготовленим (за методом КазНІВІ) антигеном або рідиною з міхура. Алерген перед використанням розводять у фізіологічному розчині 1:750. Вводять його в товщу шкіри верхньої повіки після попередньої обробки шкіри дезінфікуючим розчином. Доза алергену для овець - 0,2, для великої рогатої худоби - 0,5-0,75 мл. У овець реакцію вважають негативною, якщо складка шкіри має товщину до 2 см, сумнівною - від 2,1 до 2,5 см і позитивною - від 2,6 см і більше. У великої рогатої худоби у разі негативної реакції складка шкіри до 3,5 см, за сумнівної - від 3,6 до 4,5 см і позитивної - від 4,6 і вище. Результати реакції враховують у овець через 3 год після введення алергену, у великої рогатої худоби - через 2 год. Алерген не втрачає своєї активності більше року. Необхідно мати на увазі, що алергічна реакція зберігається у овець та телят навіть після оперативного вилучення цену- ра протягом року. Цей алерген виявляє ценурів з 12-го дня після зараження на всіх стадіях ценурозу, незалежно від подальшої долі ценурів (їх розвитку або загибелі в організмі тварин).

Як алерген можна також використовувати свіжу або консервовану (з додаванням 1 %-ного фенолу) рідину міхура.

Методи імунодіагностики гельмінтозів набувають все більшого застосування у практиці ветеринарної медицини. Найбільш перспективні з них - реакція непрямой гемаглютинації і ферментний імуносорбентний метод (ELISA), які є досить чутливими. Ефективними є також реакція імунофлуоресценції (РІФ), реакція зв'язування комплементу (РЗК) та ін.

Для діагностики дирофіляріозу в Україні розробляється діагностикум *D. repens*, спрямований на визначення залишкової кількості ДНК паразита в організмі тварини за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Позитивні результати вже отримані під час застосування цієї реакції за диктіокаульозу жуйних.

10. ДІАГНОСТИЧНА ДЕГЕЛЬМІНТИЗАЦІЯ

Діагностична дегельмінтизація є методом макрогельмінтологічного дослідження. Використовують її у разі підозри на монієзіоз, тизанієзіоз і

авітеліноз жуйних, аноплоцефалідози коней, теніїдози м'ясоїдних, гіменолепідозах водоплавних птахів, аскарози свиней, аскаридіози курей та інших гельмінтозів.

Для проведення дегельмінтизації невеликій групі тварин (3-5 голів), підозрілих у захворюванні, вводять відповідний антигельмінтик в лікувальній дозі. За тваринами встановлюють спостереження (досліджують всі виділені екскременти для виявлення гельмінтів). Зібраних паразитів ретельно досліджують, визначаючи їх родову та видову належність.

Діагностичною дегельмінтизацією можна встановити гельмінтоз на ранній стадії його розвитку, коли в організмі тварин паразитують статевонезрілі гельмінти, а гельмінтоовоскопія та ларвоскопія не дозволяють виявити паразитів.

11. ПОСМЕРТНА ДІАГНОСТИКА ГЕЛЬМІНТОЗІВ

Принцип посмертної діагностики гельмінтозів полягає у виявленні гельмінтів різних стадій розвитку в органах тварин. Гельмінти паразитують в усіх органах і тканинах тваринного організму, тому збір і подальше їх визначення забезпечується методами розтинів, що відрізняються від звичайного патолого-анатомічного розтину трупів. У практиці бувають випадки, коли під час розтину трупа знаходять явища гострого гастриту, ентериту або гепатиту. Виявлені в організмі гельмінти далеко не завжди бувають причиною смерті тварин. Щоб визначати гельмінтологічний чинник загибелі тварин, треба враховувати інтенсивність інвазії, вік і загальний стан тварин. Не можна, наприклад, вважати, що 2-3 аскаридії, знайдені в кишечнику курки, є причиною її смерті. Навпаки, інколи буває достатнім паразитування 2-3-х сингамусів трахеї курчати, щоб спричинити його загибель.

Специфічна посмертна діагностика гельмінтозів розроблена академіком К.І. Скрябіним. Розрізняють повний гельмінтологічний розтин, повне гельмінтологічне дослідження окремих органів і неповний гельмінтологічний розтин.

Метод повних гельмінтологічних розтинів за К.І. Скрябіним - найточніший, але трудомісткий, бо передбачає дослідження тканин і органів. Даний метод в основному застосовують з науковою метою. Перший прийом дослідження - огляд і зняття шкіри. На поверхні шкіри уважно розглядають всі новоутворення, нарости, горбки. Після цього за звичайними правилами патолого-анатомічного розтину знімають з трупа шкіру, ретельно оглядають підшкірну клітковину на наявність паразитуючих гельмінтів. Після цього розрізають грудну і черевну порожнини і витягують всі органи травної, дихальної, кров'яної, сечостатевої системи та ін. тканини. Їх поміщають у кювети, відра, тази та ін. посуд. Після цього ретельно оглядають черевну і грудну порожнини. Кров з цих порожнин збирають в кювети для наступного промивання, витягують спинний і головний мозок, досліджують вміст кон'юнктивальних порожнин, вилущують очі, розкривають синовіальні порожнини суглобів і досліджують їх вміст, розкривають лобні пазухи і носову порожнину, роблять зскрібки зі слизових

оболонок носових ходів, оглядають слизову оболонку ротової порожнини і т. д. Досліджують окремі групи м'язів на наявність личинок трихітел.

Після цього розтинають внутрішні органи і досліджують двома методами: „мокрим“ і „сухим“.

„Мокрий“ метод полягає в проведенні ряду наступних процедур:

а) багаторазове послідовне промивання водою або фізіологічним розчином порожнин внутрішніх органів, у результаті чого гельмінти відмиваються від слизу;

б) дослідження зливу в серії циліндрів, що зручно для дослідження шлунково-кишкового каналу великих тварин;

в) компресорне дослідження зскрібків проводять для виявлення гельмінтів, які знаходяться в слизовій оболонці внутрішніх органів;

г) роздавлювання шматочків тканин паренхіматозних органів між скельцями;

д) дослідження матрикса (відмитого вмісту порожнин різних органів) почергово на чорному і білому фоні;

е) дослідження матрикса, зскрібків і подрібнених тканин за допомогою лупи (заключна стадія кожної процедури).

„Сухий“ метод полягає в роздавлюванні органів між двома скельцями до прозорості і перегляді їх під лупою. Цей метод застосовують під час дослідженні невеликих об'єктів - дрібних рептилій, молюсків та інше. Інколи доцільно застосовувати комбінацію „сухого“ та „мокрого“ методів.

Органи травлення обережно ізолюють від інших органів, щоб не пролити їх вміст, а також не пошкодити великих гельмінтів, що можуть бути в їх порожнині.

Стравохід розтинають ножицями, розглядають внутрішню і зовнішню оболонки, знімають слизову оболонку і досліджують її під лупою.

Шлунок розтинають по великій кривизні, вміст поміщають в окрему посудину і досліджують за методикою послідовного промивання. Рідину, якою промивають шлунок, досліджують окремо, а зі слизової оболонки беруть зскрібок.

Тонкі і товсті кишки розтинають окремо. Розріз роблять ножицями по стороні, протилежній прикріпленню брижі, заливають їх разом з вмістом водою і відмивають водою. Вміст кожного відділу кишечника досліджують за методикою послідовного промивання. Зі слизової оболонки роблять глибокий зскрібок. Для дослідження кишок травоядних тварин застосовують методику зливів у циліндрах: розведений водою вміст кишечника виливають у 5-6 циліндрів, закріплених на одному штативі, декілька раз почергово промивають водою.

Печінку поміщають у посуд білого кольору, відділяють жовчний міхур і кладуть його в окремий посуд. Після цього печінку розрізають ножицями по ходу жовчних ходів, а після цього заливають водою і розминають руками. Отриманий детрит послідовно промивають, осад досліджують мікроскопічно під лупою.

Жовчний міхур розтинають і заливають водою в такій кількості, щоб вона стала прозорою. Отриману суспензію відстоюють, осад ретельно оглядають на

білому фоні.

Підшлункову залозу досліджують таким же чином, як і печінку.

Гортань, трахею, великі бронхи (по можливості і легені) розрізають, оглядають і досліджують зскрібок зі слизової оболонки компресорним методом, а паренхіму легень (розім'яту руками) заливають водою, досліджують методом послідовного промивання.

Нирки розрізають, оглядають ниркову лоханку, а паренхіму роздавлюють і досліджують під лупою. Сечовий міхур з сечоводами розтинають, оглядають і роблять глибокий зскрібок зі слизової оболонки. Сечу досліджують промиванням.

Статеві органи досліджують методами зскрібання, послідовного промивання і роздавлювання тканин.

Очі розтинають, проглядають внутрішні середовища, повіки, кон'юнктивальний мішок і досліджують методом послідовного промивання.

Мозок (головний і спинний) розрізають на шматочки, роздавлюють і проглядають під лупою.

Серце і великі кров'яні судини розтинають у фізіологічному розчині, досліджують методом послідовного промивання. М'язи серця розрізають на пластинки і проглядають на наявність личинок цистицерків, ларвоцист ехінококів.

Вміст грудної і черевної порожнини також досліджують методом послідовного промивання.

Усі трубчасті органи розтинають по довжині, вміст поміщають в кювет, відро, банку (залежно від об'єму органу) і досліджують методом послідовного промивання.

За допомогою методу повного гельмінтологічного дослідження окремих органів з'ясовують деякі питання щодо того або іншого гельмінтозу. Наприклад, за фасціольозу досліджують тільки печінку, диктіокаульозу - легені, дрепанідотеніозу - тонкий кишечник. Цей метод є практичним, більш простим і достатньо точним.

Метод неповних гельмінтологічних розтинів відрізняється своєю спрощеністю. Він полягає в зборі гельмінтів, випадково виявлених у тих чи інших органах тварин. Велике значення цього методу полягає в тому, що за його допомогою легко визначити наявність, екстенсивність та інтенсивність інвазії у разі вимушеного забою тварин, при огляді органів на бойнях або на конвеєрі м'ясокомбінату. Отримані таким чином дані про розповсюдження гельмінтозів тварин є більш об'єктивними, ніж статистичні відомості ветеринарної звітності, основані на гельмінтоко-проскопічних дослідженнях.

Виявлених під час розтину тварин гельмінтів записують у спеціальний журнал або складають протокол гельмінтологічного розтину трупа тварини.

Метод повних гельмінтологічних розтинів окремих органів застосовують для обліку інвазування окремих органів (наприклад за фасціольозу печінки, диктіокаульозу легень і т.д.). За цим методом уточнюють гельмінтологічний діагноз та визначають ефективність проведеної анти-гельмінтної терапії.

Метод неповних гельмінтологічних розтинів не відрізняється від звичайного

патолого-анатомічного розтину і дозволяє виявити середніх і крупних гельмінтів.

Метод посмертної діагностики дикроцеліозу в овець за І.С. Дахном (1996). Після забою тварини та зняття шкіри, витягують печінку і кладуть разом із жовчним міхуром на шкіру з боку міздри. Печінку щільно загортають у шкіру і витримують 1,5-2 години.

Потім шкіру розгортають, а печінку переносять у посудину для змивання з її поверхні гельмінтів. Трематод, які знаходяться на поверхні шкіри, знімають препарувальною голкою і переносять у посудину з водою. Рідину відстоюють 10 хв, верхній шар зливають, а осад порціями досліджують і підраховують кількість гельмінтів. Ефективність виявлення молодих трематод - 76,5, статевозрілих - 97,6 %.

Метод визначення мігруючих личинок аскарисів із легень і печінки. Легені і печінку поросят окремо ріжуть на дрібні шматочки, загортають у марлеві серветки і закладають в апарат Бермана. Заливають теплою водою температурою 38-40 °С і відстоюють протягом 3-6 годин. Далі з пробірок зливають надосадову рідину, а осад досліджують під мікроскопом з метою виявлення личинок аскарисів.

У разі виявлення поодиноких личинок аскарисів та стронгілоїд захворювання міграційною стадією аскарозу та стронгілоїдозу вважають як вторинний фактор, який не відіграє головної ролі в загибелі поросят. У разі виявлення значного числа личинок у легенях і печінці та виключення інших інфекційних захворювань, аскароз чи стронгілоїдоз, спричинених міграційною стадією інвазії, вважають причиною загибелі поросят.

Методи досліджень трупів тварин. Їх суть полягає у виявленні характерних патолого-анатомічних змін і самих нематод в органах свиней під час патолого-анатомічного розтину тварин. При цьому у тварин досліджують паренхіматозні органи і шлунково-кишковий канал, звертаючи увагу на характер змін, локалізацію, кількість і розмір нематод.

За аскарозу на розрізі слизова оболонка тонкого кишечника запалена. Аскарисів виявляють у тонкому кишечнику, іноді у протоках печінки і підшлункової залози. За великого скупчення аскарисів реєструють закупорку або розрив кишечника, протоків печінки і підшлункової залози. Аскариси - великі нематоди білого кольору, довжиною 10-50 см. У легенях і печінці знаходять крапкові і плямисті крововиливи, в легенях відмічають пневмонію. Печінка на розрізі - повнокровна, вкрита множинними білими плямами величиною 1-5 мм.

За трихурузу на поздовжньому розрізі товстого кишечника в поросят реєструють катарально-дистрофічний коліт, проктит. Іноді спостерігають дистрофію паренхіматозних органів, набряк легень та катаральний лімфаденіт. Трихуриси - білого кольору, довжиною 20-53 мм, мають тонкий довгий головний кінець, задній кінець тіла товстий і короткий. Трихурисів знаходять у просвіті товстого кишечника, частіше в сліпій кишці, прикріпленими головним кінцем до слизової оболонки кишок.

За езофагостомозу на слизовій сліпій та ободовій кишок з'являються дрібні,

щільні на дотик вузлики розміром 0,2-0,5 мм, які мають жовтуваті плями в центрі. Слизова в цих місцях потовщена, гіперемійована, нерідко вузлики наповнені зеленувато-сірою гнійною масою. Пізніше на місці вузликів залишається рубцева тканина у вигляді білих щільних плям. Реєструють набряк кишкової стінки, відкладання густого ексудату чи гнійно-некротичних мас. Дорослі езофагостоми - сіро-білого кольору, довжиною 7-14 мм. Дорослих гельмінтів під час розтину знаходять у просвіті товстого кишечника, а езофагостомозні вузлики - на слизовій оболонці.

За стронгілоїдозу труп поросят нижче середньої вгодованості або виснажені. Шкіра складчаста, місцями ущільнена, гіперемійована, нерідко екзематозна та пронизана крововиливами. Легені в період міграції личинок збільшені, повнокровні. Місцями спостерігаються лобулярні пневмонічні осередки, катаральний бронхіт. Кишечник у стані гострого катарального запалення, плямисті крововиливи, ерозії і виразки. Брижові лімфовузли в стані набряку, червоні, іноді з крапковими крововиливами. У печінці і нирках за гострого перебігу спостерігається зерниста дистрофія.

Стронгілоїди - дрібні нематоди, сіро-білого кольору, довжиною 2,16 мм. Статевозрілих стронгілоїд знаходять у просвіті тонкого кишечника.

12. ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОМІЖНИХ ТА РЕЗЕРВУАРНИХ ЖИВИТЕЛІВ ГЕЛЬМІНТІВ

Для з'ясування гельмінтологічної обстановки на певній території важливе значення має дослідження водних і наземних безхребетних тварин з метою виявлення в їх тілах личинок паразитичних червів. Проміжними, додатковими й резервуарними хазяями для гельмінтів є різні представники безхребетних: молюски, ракоподібні, малощетинкові черви, комахи, орибатидні кліщі.

Молюски - проміжні хазяї трематод та деяких видів нематод, їх досліджують компресорним методом під мікроскопом. Великих молюсків (ставковики, живородки) спочатку необхідно звільнити від черепашки. Під час розтину малого ставковика відрізають верхівку черепашки, де розміщується печінка - місце паразитування церкарій фасціол, які рухаються і за формою нагадують пуголовків жаб.

Ракоподібні для багатьох видів гельмінтів (цестод, нематод, скреб-ликів та деяких трематод) є проміжними хазяями.

Циклопів і дафній (водяні блохи) за допомогою піпетки поміщають у краплю води на предметне скло, накривають накривним скельцем і розглядають під мікроскопом. У личинок цестод водоплавної птиці під середнім збільшенням мікроскопа можна побачити присоски і корону гачків.

Бокоплавів (гамаруси, горбунці) і водяних осликів досліджують компресорним методом під малим збільшенням мікроскопа.

Комахи є проміжними і додатковими хазяями деяких видів трематод, цестод, нематод та скребликів.

Мурашки - проміжні хазяї цестод птиці й додаткові - дикроцеліїв. Під мікроскопом компресорним методом досліджують черевце комахи, де може

паразитувати до 100 і більше метацеркарій дикроцелій.

Жук-носоріг є проміжним хазяїном скреблика-велетня (паразита свиней). Личинки (акантели) білого кольору розміром до 5 мм помітні навіть неозброєним оком під час розтину цих комах.

Польові мухи - проміжні хазяї телязій великої рогатої худоби і пара- філярій коней. Личинки (кілька мм завдовжки) виявляють під мікроскопом під час компресорного дослідження голови мухи.

Довговусі комахи - проміжні хазяї онхоцерків (мошки, мокреці), септарій і диروفілярій (комарі), їх поміщають на предметне скло у краплю води, накривають накривним скельцем і розглядають під мікроскопом.

Бабки та їх личинки - додаткові хазяї збудників простогонімозу та інших трематодозів птиці. Їх розтинають у невеликій кількості води і компресорним методом досліджують під мікроскопом. Метацеркарії мають округлу форму розміром близько 0,5 мм.

Орибати́дні кліщі - проміжні хазяї монієзій жуйних тварин, аноплцефал коней. Для виявлення цистицеркоїдів паразитичних цестод орибати́дних кліщів розщеплюють препарувальною голкою у краплі води на предметному склі. Після цього препарат накривають накривним скельцем і досліджують під мікроскопом. Личинки гельмінтів мають округлу форму тіла.

Малоцетинкові (дощові) черви - проміжні та резервуарні хазяї нематод. Зібраних черв'яків промивають водою і убивають, додаючи в пробірку декілька краплин 1%-го розчину формаліну. Дощового черв'яка кладуть на предметне скло, розрізають ножицями кутикулу в передній частині тіла, відділяють стравохід, зуб, м'язовий шлунок з оточуючими його кров'яними судинами і кладуть на предметне скло, потім накривають другим предметним склом, їх здавлюють і досліджують в роздавленому препараті під бінокулярною лупою або мікроскопом.

Органи черв'яків можна досліджувати і біохімічним методом - шляхом перетравлення у штучному шлунковому соці (пепсин - 5 г, соляна кислота концентрована - 10 см³, теплий фізіологічний розчин (43 °С) - 1000 см³). Органи черв'яків подрібнюють на предметному склі, завертають у марлеву салфетку, кладуть у воронку апарата Бермана, заливають теплим штучним шлунковим соком у співвідношенні 1:15 і ставлять у термостат за температури 43 °С на 1,5-2 години. Потім пробірку апарату Бермана від'єднують, відстоюють 5-10 хв. Надосадову рідину зливають, а краплину осаду на предметному або годинниковому скельці досліджують під мікроскопом.

У інвазійної личинки метастронгіл задній кінець гострий, передній - тупий, недалеко від хвостового кінця є маленький кутикулярний шип; личинка аскарисів - білого кольору, має стравохід, кишечник у вигляді трубки.

Результати дослідження вважають позитивними у разі виявлення в обстежуваних препаратах личинок нематод. Наявність в одній пробі 10 і більше личинок свідчить про високу інтенсивність інвазії у проміжних і додаткових жителів нематод, обумовлену високою ураженістю свиней метастронгілами та аскарами.

13. ОЦІНКА РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ ГЕЛЬМІНТАМИ ДОВКІЛЛЯ

З метою визначення ступеня забруднення об'єктів довкілля гельмінтами, відібрані проби досліджують за гельмінтоскопічними, гельмінто-овоскопічними та гельмінтоларвоскопічними методами, у тому числі й стандартизованими, зокрема тими, що передбачають застосування лічильних пристроїв: камер Горяєва, Мак Мастера, ВІГІС та БДАУ, а також копрогельмінтоларвоскопічних кілець (як викладено вище в гельмінто- копрологічних методах).

Метод дослідження зскребків з об'єктів навколишнього середовища на наявність яєць нематод. Суть методу полягає у виявленні та підрахунку кількості яєць нематод в 1 г досліджуваної проби, визначенні ступеня забруднення об'єктів довкілля інвазійними елементами.

Взяту для дослідження пробу (зскрібок) ретельно перемішують і зважують 3 г проби з похибкою не більш 0,02 г. Потім перекладають в стакан з 30 см³ води, ставлять у холодильник, витримують протягом 12 год і гомогенізують 2 хв в електричному гомогенізаторі в режимі 2000 об/хв. Отриману суспензію фільтрують протягом 5 хв. Після цього надосадну рідину зливають, до осаду додають 10 см³ флотаційного розчину і ретельно перемішують шляхом струшування. Отриманою суспензією заповнюють лічильну камеру або 0,15 см³ суспензії, поміщають на предметне скельце, накривають її покривним склом, витримують протягом 2 хв і підраховують кількість яєць нематод. Отримане число множать на коефіцієнт 67; воно визначає кількість яєць нематод в 1 г досліджуваного зскрібка.

Для визначення видів нематод під мікроскопом користуються атласом яєць гельмінтів.

За наявності до 500 яєць нематод в 1 г досліджуваного зскребка відмічають низьку забрудненість об'єктів зовнішнього середовища, а це свідчить про низький та середній ступені ураження свиней аскарисами, езофагостомами, трихоцефалами, стронгілоїдами і метастронгілами.

Наявність до 1000 яєць нематод в 1 г зскребка свідчить про середню забрудненість об'єктів довкілля та про середню і високу інвазованість свиней указаними нематодами.

Наявність більше 1000 яєць нематод в 1 г зскребка вказує на високу забрудненість об'єктів довкілля інвазійними елементами, досить високу ураженість свиней нематодами і недостатню ефективність проти-гельмінтозних заходів.

Метод дослідження ґрунту на наявність яєць нематод. Суть методу полягає у виявленні рівня забруднення яйцями нематод ґрунту за різного віддалення від тваринницьких приміщень, на пасовищі та інших місцях на поверхні та різній глибині.

Проби з поверхні ґрунту (з глибини 1-3 см) беруть із затемнених та освітлених сонцем ділянок шпателем, а з глибини до 20 см - лопаткою чи буром. З кожної досліджуваної ділянки беруть одночасно декілька проб (35) на 10-20 г кожна по діагоналі. Взяті проби кладуть у банки з кришкою або целофанові пакети. На

кожну пробу клеять етикетку, на якій вказують місце відбору, дату, глибину, характер досліджуваної ділянки (затінок чи під сонцем, склад ґрунту, наявність рослинності та ін.). У лабораторії проби кладуть у холодильник чи кожну з них пересипають в кристалізатор, заливають 3%-ним розчином формаліну на ізотонічному розчині натрію хлориду (рідина Барбагалло). У холодильнику ґрунт можна зберігати не більше місяця, час від часу провітрюючи та зволожуючи його.

Для дослідження за методом Романенко і Гуджабідзе проби ґрунту 25 г поміщають у центрифужні пробірки на 80-100 см³ і заливають 3 %-ним розчином їдкого натрію чи калію у співвідношенні 1:1. Вміст пробірок ретельно розмішують за допомогою електрозмішувачки, відстоюють 2030 хв, потім центрифугують 5 хв при 800 об/хв. Надосадову рідину зливають, а ґрунт промивають водою від 1 до 5 разів залежно від типу ґрунту (для піщаних і супіщаних ґрунтів досить однієї промивки, а для глинистих, суглинистих, чорноземних - від 2-х до 5-ти разів - до отримання прозорої надосадової рідини. Після промивання до ґрунту додають 45 см³ насиченого розчину натрію нітрату, ретельно розмішують і центрифугують 3 хв. У разі відсутності натрію нітрату можна використовувати розчин магнію сульфату. Після центрифугування пробірки із сумішшю ставлять у штатив і обережно доливають розчин натрію нітрату до утворення випуклого меніска, а потім накривають предметними скельцями розміром 10х6 см, попередньо знежиреними сумішшю спирту з ефіром (у співвідношенні 1:2) чи після кип'ятіння у воді з лугом або пральним порошком. Суміш у пробірках відстоюють 30 хв. Під час відстоювання яйця нематод спливають на поверхню і прилипають до скла. Скельця знімають, на їх місце ставлять чисті. На зняті скельця наносять декілька краплин 50 %-ного водного розчину гліцерину. Краплини накривають покривними скельцями і мікроскопують. Потім досліджують другі скельця.

Для виявлення яєць нематод предметні скельця проглядають за збільшення у 80 разів (окуляр х10, об'єктив х8), а для визначення рівня розвитку, життєздатності і ступеня деформації - збільшення в 400 разів (10х40). Підрахована у 2-х предметних скельцях кількість яєць нематод (по видах гельмінтів) дає характеристику рівня забруднення чи контамінації різних проб ґрунту яйцями нематод свиней.

Гельмінтологічне обстеження пасовищ на забруднення личинками стронгілят та стронгілоїд. Гельмінтологічне дослідження пасовищ проводять з метою визначення їх придатності для використання твари- нами (особливо молодняком), а також для розробки заходів пасовищної профілактики стронгілятозів та рабдитадозів тварин. При цьому враховують тип пасовищ, рельєф місцевості, відстань до водоймищ, лісових масивів, характер трав'яного покриву, сезон року, щільність випасу та деякі інші особливості.

Обстеження пасовищ проводять з урахуванням строків розвитку личинок у різні періоди пасовищного утримання тварин. Весною, на початку випасання, виявляють личинок, що перезимували. Частіше їх знаходять в минулорічних фекаліях та траві, що до них прилягає.

Дослідження пасовищ проводять у різні сезони випасання.

Джерелом личинок стронгілят на пасовищі є фекалії заражених тварин. Личинки стронгілят, досягнувши інвазійної стадії диференціювання, мігрують із фекалій у траву та ґрунт, здебільшого на відстань до 15 см. Розсіювання личинок на пасовищі на значніші відстані відбувається під впливом різних причин: тварини розносять личинок разом з фекаліями на ногах, птахи - під час розгрібання фекалій у процесі шукання комах та черв'яків, випадіння опадів, боронування, зрошення і т. ін.

Місця відбору проб трави повинні відображати найбільш характерні особливості пасовищ.

Відбір проб бур'яну. У загоні, який обстежують, бур'ян для дослідження беруть з п'яти різних ділянок за схемою конверту, враховуючи при цьому конфігурацію та розміри загону. На кожній з ділянок проводять повне скошування бур'яну у вершинах трикутників, віддалених один від одного на відстань 5-10 м. Майданчики для відбору проб визначають шаблоном, зробленим з м'якого дроту (площею 400 см²). Весь бур'ян, скошений у трьох місцях ділянки, перемішують на поліетиленовій плівці - для дослідження залишають третю частину. З усіх п'яти ділянок загону проби бур'яну збирають у поліетиленові мішки, відправляють до лабораторії, зважують та досліджують на наявність личинок стронгілят.

Виділення личинок стронгілят із бур'яну за допомогою сит. При цьому використовують сита діаметром 31 см, висота бокової стінки 12 см. Сітки (з площею кожної з комірок 1 мм²), закріплені на 2 см вище нижнього краю обода сита, тазика (діаметром 36 см по верхньому краю, висота 15 см, в них поміщають сита так, щоб їх нижній край упирався у звуження тазика, відстань між сіткою сита і дном тазика 5 см, скляні лійки (діаметром 1820 см по верхньому краю з гумовими трубками та пробірками на кінцях). Тазики із ситечками заповнюють водою кімнатної температури. Рівень води не повинен доходити до верхнього краю тазика на 1,5-2 см. Міхурці повітря, що утворюються під сіткою, видаляють різкими рухами сита вверх та вниз. До кожного сита з водою вносять 100-120 г бур'яну. Тривалість виділення личинок - одна доба. Для збору личинок, що осіли на дно тазика, обережно прибирають сито з бур'яну. Через 15-20 хв надосадову рідину зливають, залишаючи на дні тазика близько 1 л. Цю рідину перемішують і разом з осадом переливають у великі лійки з пробірками на кінцях. Відстоюють 1-2 год. Личинок підраховують за малого збільшення мікроскопа. Для знерухомлення личинок в краплю води додають одну краплю розчину Люголя. За наявності великої кількості личинок в осаді, для їх підрахунку застосовують методику розведення. Ідентифікацію личинок здійснюють за допомогою відповідних таблиць.

Виділення личинок стронгілят із бур'яну методом промивання. Проби бур'яну масою 300-500 г поміщають у відро і заливають 5-6 л теплої води (25-30 °С), в яку додають 5-10 мг прального порошку. Бур'ян у воді перемішують та залишають на 5-6 год. Потім воду зціджують за допомогою сита чи марлі, і траву промивають над цим же відром потужним струменем води. Бур'ян вилучають, а змиви у відрі відстоюють 1-2 год. Надосадову рідину зливають, а осад переносять у посудину об'ємом 1-2 л. Через 2030 хв надосадову рідину знову

зливають, а осад переносять до апарата Бермана-Орлова та досліджують за загальноприйнятою методикою.

Личинок, виділених з бур'яну всіх обстежених ділянок загону, сумують та множать на коефіцієнт 5. Отриманий добуток буде відповідати чисельності личинок стронгілят у бур'яні досліджуваного загону на площі 1 м². Поряд з визначенням числа личинок на одиниці площі, враховують також масу досліджуваної трави, що дозволяє визначити кількість личинок, які тварина ковтає разом з травою.

Для детальнішого обстеження пасовищ досліджують ґрунт, воду та фекалії тварин, що знаходяться на пасовищі, за загальноприйнятими методиками.

Гельмінтологічні дослідження гною та стічних вод тваринницьких підприємств. З метою попередження забруднення об'єктів довкілля яйцями та личинками гельмінтів, що містяться у гної та стічних водах тваринницьких ферм, необхідне проведення періодичного санітарно-гельмінтологічного контролю за роботою систем та споруд з видалення, обробки та використання гною. Мета контролю - визначення ступеня забруднення гною та його фракцій яйцями та личинками гельмінтів, їх життєздатності та ефективності знезараження гною за різних технологій його обробки, зберігання та використання. Результати контролю є основою для проведення відповідних ветеринарно-санітарних заходів з попередження забруднення довкілля та профілактики інвазійних хвороб.

Проби гною відбирають у такій послідовності. Вихідний (той, що надходить з виробничої зони) рідкий гній, рідка і тверда фракції, які отримують після розведення, залишковий мул і просвітлена рідка фракція після біологічної очистки. На підприємствах, де використовують витримування рідкого гною в резервуарах-накопичувачах або відстійниках, обладнаних системою зневоднення, а також під решітчастими долівками тваринницьких приміщень, відбирають проби з цих споруд. Проби вихідного рідкого гною відбирають або з колектора, по якому він надходить з виробничої зони у приймальний резервуар, або безпосередньо з приймального резервуара в момент його наповнення. Проби гною та стоків із резервуарів-накопичувачів, відстійників та місць зберігання, а також з бортів твердої фракції відбирають з 3-5 місць поверхневого, середнього та нижнього шарів. Разовий об'єм однієї середньої проби рідкого гною (вологість 96-98 %) складає 10 л, напіврідкого (вологість 85-87 %) - 1 л, твердої фракції - 1 кг, рідкої фракції, яка пройшла біологічну очистку, - не менше 10 л, у разі високого ступеня її очистки - 20-30 л, мулу - 1-2 л. Проби рідкого, напіврідкого гною, його рідкої і твердої фракції з різних споруд та бортів можна відбирати спеціальним пробовідбірником.

Відібрані з бортів та інших споруд проби твердої фракції поміщають у поліетиленові пакети, що герметично закриваються. Проби кожної консистенції, об'єм яких не перебільшує 1 л, після відбору зливають у скляні чи поліетиленові банки, які закривають кришками та нумерують. Проби великого об'єму (10 л та більші) рідкої фракції чи рідкого гною попередньо обробляють у цеху механічного розподілу гною, на місці відбору чи в допоміжному приміщенні очисних споруд підприємства: відстоюють у відрах не менше 30 хв, після чого

рідину зливають, а осад, що містить велику кількість грубих включень, переносять на подвійний марлевий фільтр, закріплений на поверхні другого відра, та промивають водою. Кращий ефект промивання осаду досягають за подачі та регулювання тиску води по гумовому шлангу з водопровідної системи. Фільтрат відстоюють, після чого рідину зливають, а осад збирають для досліджень. Для попередження загублення яєць гельмінтів спочатку зливають дві третини верхнього шару рідини, що відстоялась, а потім після повторного відстоювання - ту частину, яка залишилась. Таким же методом зменшують об'єм проб твердої фракції. Номери проб заносять в опис, де зазначають дату, місце та технологічне місце відбору, об'єм проби (первинний та той, що доставляється на дослідження). З очисних споруд відбирають 6-8 проб. Ємкості з пробами транспортують в ящику з обладнаними в ньому гніздами для посуду. У теплий період року для попередження збродження проби додають 3-4 краплі толуолу. Зберігають проби за температури 3-4 °С. Для стандартизації проб їх об'єм вимірюють під час відбору. Для правильного урахування яєць, що містяться в пробах напіврідкого гною та в твердій фракції, визначають вологість маси. Для цього беруть невеликі (об'ємом 200-300 см³) середні зразки. Визначення вологості проб здійснюють за допомогою агрохімічного аналізу.

Для гельмінтологічного дослідження разові проби вихідного гною та фракцій відбирають у першій половині дня, оскільки цей період відповідає евакуації з приміщень основної маси гною та стоків. Проби для санітарно-гельмінтологічного контролю зі споруд з механічним розподілом гною і біологічну очистку відбирають один раз на квартал, твердої фракції з буртів - не рідше одного разу на місяць, відлічуючи від дня їх закладки. Для визначення добового коливання кількості яєць гельмінтів у вихідному гної і його фракціях проби відбирають триразово протягом дня, через однакові проміжки часу, враховуючи прийняту технологію видалення і обробки гною. Точніші середні дані кількісного забруднення гною яйцями та личинками гельмінтів отримують за триразового відбору проб протягом двох-трьох діб.

Доставлені в лабораторію проби рідкого гною і рідкої фракції відстоюють. Потім зливають надосадовий шар рідини, а осад промивають для видалення грубих включень через подвійний шар марлі, покладений на сітчастий металевий каркас (або через капронове сито). Якщо таке промивання осаду проводили на місці відбору проб, то його відразу переносять у центрифужні пробірки. Сюди додають чисту воду і центрифугують за 1000 об/хв протягом 2-3 хв. Тверду фракцію обробляють і досліджують так, як і осад. Після центрифугування супернатант зливають, а осад досліджують з використанням центрифужного флотаційного методу (або флотаційних методів з використанням камер БДАУ та ВІГІС). При цьому використовують центрифугу ЦЛС-31. Разовий об'єм однієї проби з розрахунку на центрифужну пробірку ємкістю 250 мл складає 100 см³ для твердої фракції і 25-50 мл - для осаду. Після центрифугування осаду проби воду зливають, а до осаду додають 150 мл насиченого розчину кухонної солі і знову центрифугують. Після цього пробірки накривають великими предметними скельцями (70x 70 мм), попередньо ставлячи ці пробірки в штатив. У разі утворення міхурців повітря між меніском

насиченого розчину і поверхнею скла в пробірку додатково додають розчин кухонної солі. Через 20 хв скельця знімають і мікроскопують плівку рідини, яка утворилась на їх поверхні під час доторкання до розчину.

Число виявлених у пробах яєць та личинок гельмінтів перераховують на відповідний об'єм досліджуваної маси: на 1-10 л рідкого гною, рідкої фракції, мулу; на 100-1000 см³, 1 кг або 1 м³ маси твердої фракції даної вологості. Визначають кількість життєздатних яєць та личинок гельмінтів.

Личинок, головним чином стронгілат, виділяють за методом Бермана-Орлова. Для дослідження на наявність личинок беруть проби напіврідкого гною з вологістю 83-87 % і твердої фракції від 50 до 200 см³, загортають їх у марлеву салфетку, вносять у конусний стакан на металеву чи капронову сітку так, щоб між нею та дном стакана залишався вільний проміжок.

Описаний центрифужний флотаційний метод дозволяє виділяти з гною і його фракцій яйця нематод, цестод, личинок нематод, а також ооцисти кокцидій, яйця кліщів, статевозрілих нематод.

Кількість виявлених у пробах яєць та личинок гельмінтів, у тому числі й тих, що загинули, характеризує, з однієї сторони, гельмінтологічну ситуацію на фермах, з іншої - ефективність заходів, спрямованих на знезараження гною та його фракцій за різної технології їх збереження та обробки.

Експрес-метод використовують для прискореного визначення рівня забруднення гною та його фракцій яйцями та личинками гельмінтів у польових умовах, під час роботи в господарствах та лабораторіях. Його точність дещо нижче ніж описаного вище центрифужного флотаційного методу. Але він простіший, не вимагає складного обладнання і супроводжується меншими затратами часу на дослідження. При цьому беруть 25-50 мл осаду рідини гною або його фракцій, отриманих після первинного відстоювання середніх проб і видалення з них грубих включень шляхом промивання над фільтром. Переносять його на марлевий чи капроновий фільтр, закріплений на поверхні стакана, промивають 100-200 мл насиченого розчину кухонної солі. Вологу, що залишилась на фільтрі та в самій пробі, віджимають в ємкість для фільтрату. Фільтрат витримують 15-20 хв, після чого його поверхневу плівку переносять гельмінтологічною петлею на предметне скло і мікроскопують. В інших випадках використовують предметні скельця, покриваючи ними меніск флотаційного розчину. З метою експрес-аналізу напіврідкого гною і твердої фракції беруть із середнього зразка 25 см³, розмішують в хімічному стакані з насиченим розчином кухонної солі у співвідношенні 1:31:4. Суміш фільтрують в інший стакан, ретельно віджимаючи вологу розчину з проби. Подальші маніпуляції аналогічні описаним вище.

14. ОСОБИСТА ПРОФІЛАКТИКА ПЕРСОНАЛУ ЗА ГЕЛЬМІНТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Інвазовані тварини забруднюють довкілля яйцями і личинками гельмінтів. Останні різними шляхами потрапляють до своїх господарів, в яких завершують розвиток і можуть проникати в організм людини. Часто з інвазійним матеріалом

контактують ветеринарні фахівці, робітники тваринництва і власники собак, котів та інших тварин. При цьому небезпеку представляють інвазійні яйця і личинки гельмінтів.

Вплив зародків неспецифічних для людини гельмінтів, що проникли в його організм, різний. Одні з них не сприймаються організмом, інші тимчасово приживаються, здійснюють міграцію, спричиняють патологічні зміни і хворобу, треті розвиваються в організмі, завдаючи значної шкоди здоров'ю. Люди важко переносять ураження, якщо організм був сенсibiliзований інвазією. В цьому випадку хвороба перебігає за типом алергії і важко діагностується.

Мігруючи по організму неспецифічного господаря, личинки гельмінтів здатні спричинювати патологічний стан, відомий як феномен „*Larva visceral migrans*“ (стронгілоїди, аскариди та ін.).

Небезпечними для організму людини є, передусім, збудники відомих зоонозів: опісторхозу, фасціольозу, ехінококозу, цистицеркозу бичачого та свинячого, гіменолепідозу, дифілоботріозу, дипілідіозу та інших цестодозів, трихінельозу, стронгілоїдозу, токсокарозу собак та ін.

Крім відмічених, потенційну небезпеку представляють: трематоди (*Dicrocoelium lanceatum*, *Euritrema pancreaticum*, різноманітні види ехіностоматид птахів, шистозомати ссавців і водоплавних птахів), цестоди (*Multiceps multiceps*, *Taenia hydatigena*, *Dypilidium caninum*, *Hydatigena teaniiiformis*), скреблики (*Macracanthorinchus hirudinaceus*).

Зараження трематодами та скребликами зазначених видів *Dypilidium caninum* за безпосереднього контакту з тваринами або фекаліями не відбувається. Воно можливе у разі поїдання проміжних хазяїв або через брудні руки.

Онкосфери теніїд собак надзвичайно небезпечні. Зараження відбувається через контакт з м'ясоїдними, фекаліями та інвазованим середовищем. Людина через брудні руки заносить до роту.

Нематоди. З них до статевозрілої стадії в організмі людини розвиваються *Trichostrongylus columbitormis* (стронгіляти жуйних), *Metastrongylus elongatus* (нематода свині), нематоди роду *Strongyloides*.

Деякі нематоди не розвиваються в організмі людини до статевозрілої стадії, а здійснюють міграцію і гинуть. Це *Toxocara canis*, *T. mystax*, *Toxascaris leonina* (нематоди собачих і котячих), *Ascaris suum* (нематода свині), *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala* (паразити собаки), види роду *Bunostomum* (нематоди жуйних).

Шляхи ураження: а) через руки, забруднені під час роботи на фермі, догляду за свійськими тваринами, ветеринарного обслуговування тварин, збору і дослідження матеріалу від тварин і об'єктів навколишнього середовища; інвазійний матеріал заноситься до роту з їжею, під час паління;

б) за активного нападу проміжних хазяїв (кровосисних комах);

в) за активного нападу у водоймищі фуркоцеркарій шистозомат, а на суші - личинок стронгілоїд різних тварин і анкілостоматид собак і жуйних;

г) у разі вживання в їжу сирих або недостатньо оброблених термічно продуктів, що містять яйця і личинки гельмінтів;

д) у разі пиття сирої води з водоймища, в якому є стоки ферм, де мешкають

дрібні рачки - проміжні хазяї гельмінтів, у разі споживання снігової і талої води, забрудненої фекаліями собак.

Профілактики дотримуються під час взяття матеріалу від тварини для копроскопічної діагностики, лабораторному дослідженні, а також дослідженні об'єктів навколишнього середовища, взяття проб фекалій з прямої кишки жуйних, коней, свиней або свіжо виділених фекалій і дослідження їх в найближчий час.

Несвіжі фекалії, які знаходились в приміщенні або на пасовищі в теплу пору року представляють небезпеку, тому збирають і упаковують такий матеріал в гумових рукавичках. Свіжі фекалії, які лежали, від собак, лисиць, песців та інших м'ясоїдних, є небезпечними в плані зараження персоналу ехінококами і цистицерками. Тому проби беруть і упаковують у гумових рукавичках. Останні після роботи ретельно промивають, не знімаючи з рук, в гарячому 10 %-ному розчині хлорного вапна, що містить 2,73 % активного хлору.

Проби фекалій на місці взяття упаковують в целофанові пакети або скляні баночки, щоб в дорозі не було забруднення транспорту і навколишніх предметів. У лабораторії після дослідження матеріалу мішечки і баночки промивають і стерилізують кип'ятінням.

Підготовку матеріалу для дослідження і мікроскопію препаратів проводять на окремих столах, що покривають целофановими плівками, при цьому стіл для обробки проб ставлять поруч з водопровідним краном. Проби фекалій для дослідження готують у великих кюветах: їх легко мити і дезінфікувати (кип'ятінням води в них).

Проби фекалій відбирають пінцетом, руками не доторкаються до них. Особливо ретельно застережних заходів дотримуються під час дослідження фекалій від собак, лисиць, песців та інших м'ясоїдних в районах, неблагополучних з ехінококозу та інших тенідозів, незалежно від часу взяття проб. Роботу виконують в гумових рукавичках. Розтинають і досліджують кишечник цих тварин теж у гумових рукавичках.

У несвіжих пробах від жуйних, свиней і коней (особливо молодняку) в теплий час (за температури 25-30°C) через півтори доби розвиваються інвазійні личинки стронгілоїд, створюючи небезпеку для людини. Якщо дослідити проби в день взяття матеріалу неможливо, їх кладуть в холодильник, щоб затримати розвиток личинок.

Під час вирощування личинок стронгілоїд, а також стронгілят (особливо анкілостоматид) враховують можливість забруднення рук і зараження. Працюють в гумових рукавичках, не допускаючи забруднення столів і приміщень.

Під час дослідження м'язів свиней, кабанів, ведмедів та інших ссавців у випадку виявлення личинок трихітел дотримуються особливої обережності, щоб не занести до роту цих личинок. Інструментарій, стіл і все, що контактувало з інвазійним матеріалом, після роботи протирають шматком марлі, змоченим спиртом. Такої ж обережності для профілактики дотримуються і під час дослідження риб, раків в районах, неблагополучних з опісторхозу. У разі дослідження матеріалу методом перетравлення в штучному шлунковому соці

працюють в гумових рукавичках. Матеріал засмоктують піпеткою з гумовим балончиком.

Після закінчення роботи гарячою водою ретельно промивають інструментарій, целофанові покриття столів, регулятори подачі води. Якщо досліджували матеріал від собак та інших м'ясоїдних, кип'ятінням дезінвазують посуд, кювети, інструментарій, а целофанові покриття столів обробляють 10 %-ним розчином хлорного вапна. Металеві частини мікроскопа протирають шматочком марлі, змоченим спиртом. Після закінчення дослідження руки миють з милом під струменем води, особливо ретельно під нігтями, використовуючи для цього щітку. Після дослідження матеріалу від собак та інших м'ясоїдних всі відходи (залишки проб фекалій, змиви з проб, вода після змиву обладнання) перед спуском в загальну каналізаційну систему кип'ятять протягом 10-15 хв. Під час збору і дослідженні проб ґрунту, осаду стічних вод, гною дотримуються профілактики, як і під час дослідження фекалій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зажиттєва та посмертна діагностика гельмінтозів тварин : методичні рекомендації для студентів факультету ветеринарної медицини та слухачів Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини / С. І. Пономар та ін. Біла Церква, 2003. 54 с.
2. Сорока Н. М., Березовський А. В., Галат В. Ф. Методичні вказівки для діагностики філяріатозів тварин та стратегія основних лікувально-профілактичних заходів при них. Київ : Ветінформ, 2002. -26 с.
3. Галат В. Ф., Березовський А. В., Сорока Н. М. Методичні вказівки з діагностики гельмінтозів тварин. Київ : Ветінформ, 2004. 54 с.
4. Методичні вказівки з діагностики і профілактики дирофіляріозу собак та основних методів лікування / А. Й. Мазуркевич та ін. Київ, 2005. 26 с.
5. Методичні рекомендації з діагностики трихінельозу тварин / В. М. Горжеєв та ін. Київ, 2006. 31 с.
6. Галат В. Ф., Березовський А. В., Прус М. П., Сорока Н. М. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин / за ред. В. Ф. Галата. Київ : Вища освіта, 2003. 464 с.
7. Правила передзабійного ветеринарного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса та м'ясних продуктів / Мін. аграрної політики України, Держ. департамент вет. медицини. Київ, 2002. 130 с.
8. Рекомендації з попередження та ліквідації нематодозів свиней / уклад. В. М. Горжеєв та ін. ; Білоцерків. держ. аграр. ун-т. Біла Церква, 2001. 22 с.
9. Рекомендації з прижиттєвої діагностики олуланозу свиней / В. М. Горжеєв та ін. Біла Церква, 2001. 9 с.
10. Пономар С. І. Рекомендації щодо застосування камери для підрахунку яєць гельмінтів. Біла Церква, 2001 12 с.
11. Стибель В. В. Гельмінтози свиней. Львів : Сполох, 2004. 157 с.

ПАРАЗИТОЛОГІЯ ТА ІНВАЗІЙНІ ХВОРОБИ ТВАРИН

Методичні рекомендації

Укладачі: **Лумедзе Імін Халідович**
Білопольська Таміла Петрівна
Лумедзе Татяна Семенівна

Формат 60x84 1/16 Ум. друк. арк. 3,2

Тираж 20 прим. Зам. № ____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №4490 від 20.02.2013р.