



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112387** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61B 10/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

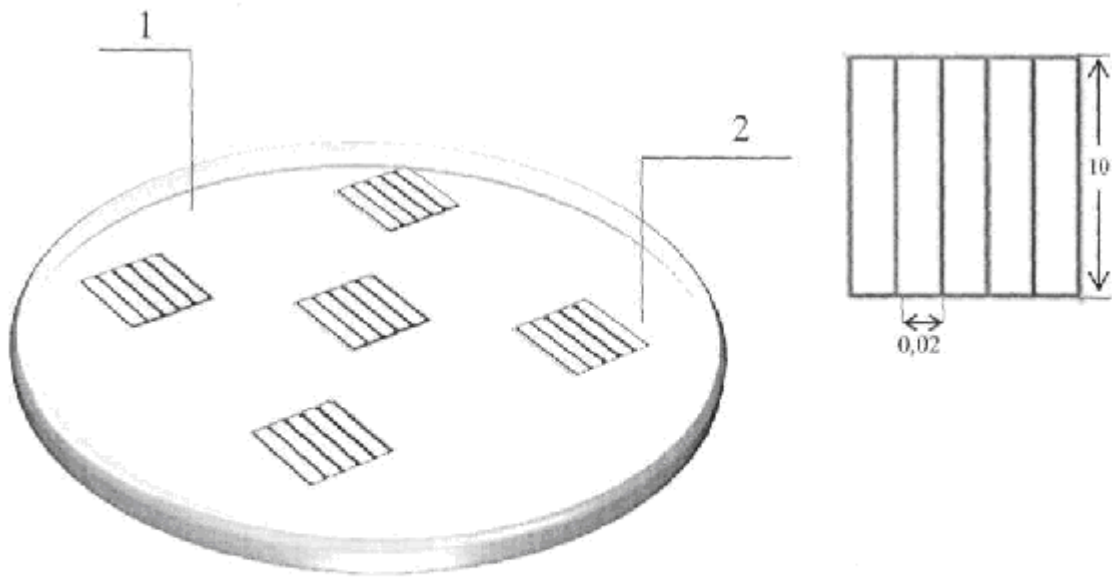
(21) Номер заявки: u 2016 07249	(72) Винахідник(и): Гугосьян Юрій Андрійович (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна (UA), Шендрик Любов Іванівна (UA), Шендрик Христина Миколаївна (UA), Шендрик Ірина Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 04.07.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.12.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.12.2016, Бюл.№ 23	(73) Власник(и): Гугосьян Юрій Андрійович, вул. Набережна Перемоги, 44/4, к. 1113, м. Дніпро (Дніпропетровськ), 49094 (UA), Євстаф'єва Валентина Олександрівна, пров. Бакинських Комісарів, 1-а, м. Полтава, 36009 (UA), Шендрик Любов Іванівна, бул. Слави, 18, кв. 16, м. Дніпропетровськ, 49100 (UA), Шендрик Христина Миколаївна, бул. Слави, 18, кв. 16, м. Дніпропетровськ, 49100 (UA), Шендрик Ірина Миколаївна, бул. Слави, 18, кв. 16, м. Дніпропетровськ, 49100 (UA)

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ПІДРАХУНКУ ЛИЧИНОК НЕМАТОД

(57) Реферат:

Спосіб кількісного підрахунку личинок нематод у фекаліях тварин включає підрахунок личинок у 1 г фекалій з використанням чашки Петрі, на дно якої нанесена сітка, що складається з 5 квадратів розміром 1×1 см, поділених на 5 рівних паралельних доріжок довжиною 10 мм, шириною 0,2 мм.

UA 112387 U



Фиг. 1

Запропонована корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, а саме паразитології, інвазійних хвороб і може бути використана для захиттєвої діагностики стронгілоїдозу, стронгілятозів тварин з метою визначення інтенсивності інвазії.

Захиттєву діагностику гельмінтозів переважно проводять, використовуючи 5
гельмінтоовоскопію (виявлення яєць гельмінтів) та гельмінтоларвоскопію (виявлення личинок), що дає змогу поставити діагноз і визначити екстенсивність інвазії. В гельмінтологічних дослідженнях важливим є не тільки якісні методи, але і кількісні методи діагностики, які дають можливість визначити ступінь ураження тварин і провести оцінку ефективності проведеного лікування.

10 Для проведення кількісного підрахунку личинок нематод, запропоновано ряд методів, які включають застосування спеціальних лічильних камер або складних підрахунків з визначенням об'єму дослідного матеріалу, кількості полів зору мікроскопа у чашці Петрі або годинниковому склі.

Методи гельмінтоларвоскопії за Щербовичем, за Мачульским, Шабаєвим та Фоміним 15
передбачають виділення личинок і підрахунок їх кількості на годинниковому склі або у чашках Петрі [див. К.И. Абуладзе Практикум по диагностике инвазионных болезней сельскохозяйственных животных /под ред. К.И. Абуладзе //изд. 2-е, испр. и доп. - М.: "Колос", 1978. - С. 118.].

Недоліком цих методів є складність підрахунку кількості личинок у разі високої та середньої 20
інтенсивності інвазії та значні затрати часу на проведення дослідження.

Відомі способи Корчана Л.М, Довгія Ю.Ю., за якими підрахунок кількості личинок 25
проводиться у спеціальних авторських камерах [див. Корчан Л.М. Порівняльна ефективність окремих гельмінтоларвоскопічних способів діагностики легеневих нематодозів у дрібної рогатої худоби /Л.М. Корчан, М.І., Корчан // Вісник Полтавської державної аграрної академії № 3, 2011. С. 117-119; Пристрій для реєстрації яєць і мертвих личинок гельмінтів (камера Довгія). Патент на винахід від 15.08.03 р. - Бюл. № 8. - 58688А (Довгій Ю.Ю., Журавльов В.Д., Журавльова О.Д., Ваховський І.Л., Дідківський А.В.)].

До недоліків лічильних камер можна віднести незначну кількість рідини, що вноситься і 30
досліджується в камерах (0,05-1 мл). Крім цього під час дослідження частина личинок не спливає до поверхні камери і знаходиться у різних площинах зору мікроскопа.

Найбільш близьким до запропонованого нами способу підрахунку є метод І.В. Орлова. За 35
цим методом личинки, отримані за методом Бермана, виливають разом з рідиною в скляну чашку з плоским дном (чашку Петрі). В різних точках дна цієї чашки за допомогою мікроскопа або біокулярної лупи (збільшення 50-100) підраховують кількість личинок в 10-15 полях зору. Підрахувавши площу дна чашки і площу зору лупи або мікроскопа, дізнаються, скільки полів зору вкладається на всій площі чашки. Поділивши загальну кількість знайдених у 10-15 полях зору личинок на загальну кількість полів зору, дізнаємося середню кількість личинок в одному полі зору (мікроскопа або біокулярної лупи).

Загальну кількість личинок у чашці підраховують, помножуючи середню кількість личинок в 40
одному полі зору на кількість полів зору, які знаходяться на всій площі дна чашки [див. Методы изучения паразитологической ситуаций и борьбы с паразитами сельскохозяйственных животных /под ред. А.П. Маркевича // Киев: Изд-во АН УССР, 1961. - 352 с.].

Недоліком цієї методики є те, що кількість досліджених полів зору незначна, личинки 45
розподіляються нерівномірно по поверхні дна чашки Петрі, тому виявлення і підрахунок личинок є не завжди точним. До того ж існує складність у визначенні кількості полів зору мікроскопа, які вкладаються на дно чашки Петрі.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу кількісного підрахунку 50
личинок нематод (стронгілоїдесів та стронгілят), шляхом удосконалення відомого досягти більш точного підрахунку личинок, спростити їх підрахунок, забезпечити зручність у використанні.

Поставлена задача вирішується способом кількісного підрахунку личинок, який включає 50
використання спеціальної лічильної сітки, нанесеної на дно чашки Петрі.

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином. На першому етапі досліджень 55
проводять виділення личинок за загальноприйнятим гельмінтоларвоскопічним методом Бермана, для цього 5-10 г свіжовиділених або прокультивованих фекалій загортають у марлю і поміщають в скляну лійку, до нижньої частини якої надіта гумова трубка із затискачем Мора. Лійку заповнюють теплою водою (38-40 °С) так, щоб фекалії тільки торкалися води. Через 1-3 години, затискач відкривають і рідину спускають до чашки Петрі, на дно якої нанесена сітка, що складається з 5 квадратів розміром 1×1 см, всередині квадрати поділені на 5 рівних паралельних доріжок довжиною 10 мм, шириною 0,2 мм. Розмір доріжок є спеціально

підібраним для того, щоб за збільшення мікроскопа $\times 40$ або $\times 100$, проглядалися їх краї, що дає змогу легше проводити підрахунок кількості личинок (фіг. 1).

З метою підрахунку кількості личинок, отриману в результаті дослідження за методом Бермана рідину вливають до чашки Петрі, висота стовпа рідини повинна не перевищувати 0,5-0,7 см: в такому шарі легко проглядаються личинки гельмінтів. Оскільки личинки рухливі, то перед підрахунком їх знерухомлюють. Для цього до рідини додають 1-2 краплі 0,1 % розчину йоду або 1-2 краплі 3 % водного розчину формаліну. Далі, поступово переглядаючи доріжки квадратів, підраховують загальну кількість виявлених личинок (фіг. 2).

Проводять перерахунок кількості личинок на 1 г фекалій. З цією метою вираховують площу дна чашки Петрі за формулою:

$S = \pi r^2$, де: S - площа круга, π - число пі (3,1415), r - радіус круга

Площа 1-го квадрату складає 1 см², відповідно 5 квадратів - 5 см². Далі загальну площу чашки Петрі ділять на площу квадратів, перемножуючи отримане число на кількість виявлених личинок. Це число відповідно буде загальною кількістю личинок, що знаходиться у рідині.

Отриману кількість личинок ділять на кількість г фекалій, які були закладені у апарат Бермана.

Викладене вище можна представити у вигляді формули:

$$M = \frac{\left(\left(\frac{D}{d} \right) * n \right)}{g},$$

де: M - кількість личинок в 1 г фекалій, D - площа чашки Петрі, d - площа квадратів, n - кількість знайдених личинок, g - кількість г фекалій закладених у апарат Бермана.

Ефективність запропонованого способу підтверджували у лабораторних умовах, провівши його порівняння з найближчим аналогом - методом І.В. Орлова. З цією метою проведено дослідження 30 проб фекалій коней, результати наведені у таблиці.

Як видно з даних таблиці, середні значення кількості личинок різняться: запропонованим методом виявлено більшу кількість личинок (на 30,52 екз. більше), простішим є і перерахунок кількості личинок в 1 г фекалій. Для більшої зручності постійно використовують чашки Петрі однакового діаметра, що дає можливість зменшити кількість повторних обчислень.

Таким чином, запропонований метод підрахунку кількості личинок у 1 г фекалій з використанням лічильної сітки нанесеної на дно чашки Петрі перевищує відомі методи за рахунок ефективності визначення рівня інтенсивності інвазії, зручності виконання, тому він може бути широко застосований у практичній лабораторній діагностиці за масових паразитологічних гельмінтоларвоскопічних досліджень тварин.

Спосіб кількісного підрахунку личинок нематод

Таблиця

Порівняння ефективності кількісних ларвоскопічних методів діагностики (n=30)

Метод дослідження	II, лич/г фекалій $M \pm m$	Час витрачений на проведення підрахунку личинок, хв
Орлова І.В.	190,92 \pm 46,23	5-15
Запропонований метод	221,44 \pm 51,40	5-20

35

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного підрахунку личинок нематод у фекаліях тварин, який **відрізняється** тим, що включає підрахунок личинок у 1 г фекалій з використанням чашки Петрі, на дно якої нанесена сітка, що складається з 5 квадратів розміром 1 \times 1 см, поділених на 5 рівних паралельних доріжок довжиною 10 мм, шириною 0,2 мм.

40

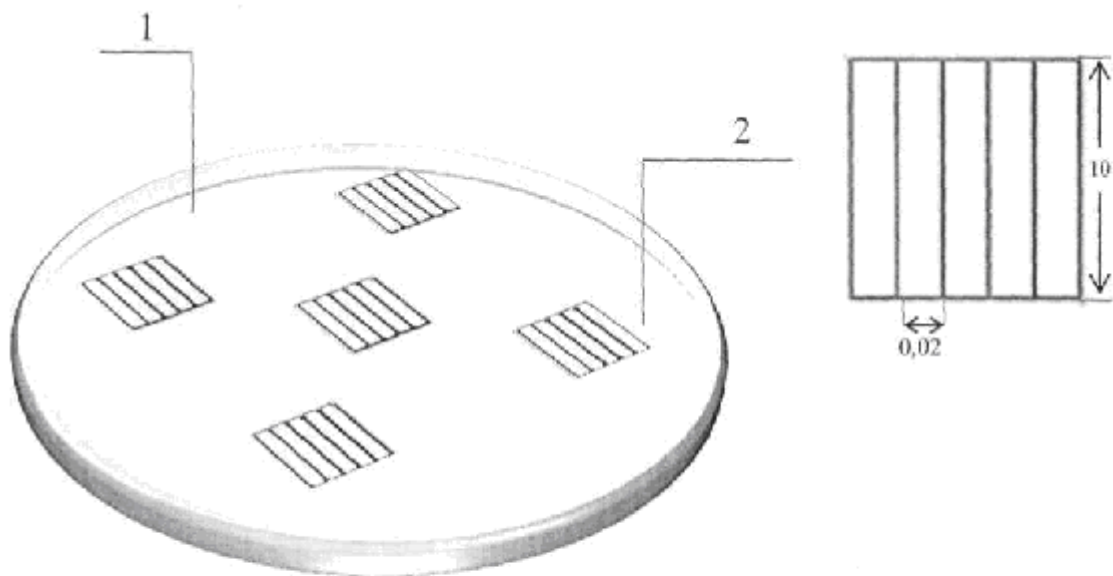


Fig. 1

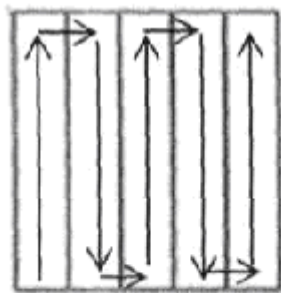


Fig. 2

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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

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