



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49255 (13) U
(51) МПК (2009)
A61L 2/16
G01N 33/487

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ ЯЄЦЬ *Toxocara cati* З ФЕКАЛІЙ КОТІВ

1

(21) u200910720

(22) 23.10.2009

(24) 26.04.2010

(46) 26.04.2010, Бюл. № 8, 2010 р.

(72) КОВБАСА ДАРИНА ВОЛОДИМИРІВНА, КУЦ
НАТАЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА, МАЗУРКЕВИЧ АНАТОЛІЙ
ЙОСИПОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб виділення яєць *Toxocara cati* з фекалій котів, що включає застосування центрифужної флотації, який **відрізняється** тим, що виділення проводять шляхом центрифугування у флотаційному 40% розчині сульфату цинку, після чого отриману суспензію яєць очищують шляхом центрифугування у градієнтах густини 20% та 30% розчинів сахарози.

Корисна модель відноситься до галузі ветеринарної медицини, зокрема до гельмінтології і може бути використана для виділення яєць *Toxocara cati* із фекалій, при моделюванні токсокарозу котів, його діагностиці, а також при оцінці ефективності дезінвазійних засобів.

Як відомо, яйця гельмінтів ряду *Ascaridata*, зокрема *Toxocara cati*, використовуються при пошуку і вдосконаленні засобів діагностики токсокарозу, які пов'язані із отриманням екскреторно-секреторних продуктів (антигенів) личинок гельмінтів. Оскільки яйця гельмінтів ряду *Ascaridata* неважко отримати у достатній кількості від інвазованих тварин та у зв'язку з їх високою стійкістю у навколишньому середовищі та до засобів дезінвазії, вони є зручними тест-об'єктами при пошуку та оцінці ефективності дезінвазійних засобів.

Яйця токсокар собак і котів використовуються при моделюванні ларвальних стадій гельмінтозів людини і тварин.

Відомий спосіб виділення яєць *Toxocara cati* із застосуванням центрифужної флотації, який включає наступне: фекалії ретельно розмішуються у воді і розливаються по центрифужним пробіркам; суміш центрифугують 1хв. (1500об/хв.), надосадову рідину видаляють, а осад ресуспендують у воді і знову центрифугують; ці дії повторюють до тих, доки надосадова рідина не стане прозорою; осад ресуспендують у 40% розчині натрію хлориду, центрифугують 5-7хв. при 1500об/хв.; яйця гельмінтів збирають із поверхневої плівки розчину за допомогою дротяної петлі; вміст пробірок знову перемішують, центрифугують і продовжують збір

яєць до їх зникнення у поверхневій плівці; очищення суспензії яєць здійснюється 7-8-разовим відмиванням із центрифугуванням у воді (Кротов А.И. Методы моделирования и экспериментальной терапии гельминтозов // Биохимия и физиология гельминтов и иммунитет при гельминтозах. Сб. тр. гельминтол. лаборатории. Том 32. Ред. Б.А. Шишов, М, 1984. - с. 49.).

Недоліками відомого способу при застосуванні для виділення яєць *Toxocara cati* є недостатньо велика кількість отриманих яєць та низька чистота виділеної із фекалій суспензії яєць гельмінтів *Toxocara cati*. Така суспензія містить значну кількість домішок частинок фекалій, густина яких близька до густини яєць, а також може містити яйця інших видів гельмінтів. Застосування відомого способу обмежене використанням для виділення культури виключно тварин із моноінвазією *Toxocara cati*. Згадані недоліки обмежують можливості застосування відомого методу при виділенні яєць *Toxocara cati* для культивування та моделювання патології, а також унеможливають використання отриманої культури для приготування екскреторно-секреторних антигенів.

Завданням корисної моделі є збільшення кількості отриманих яєць *Toxocara cati* та підвищення чистоти виділеної із фекалій суспензії яєць гельмінтів *Toxocara cati*.

Поставлене завдання досягається тим, що при виділенні яєць *Toxocara cati* з фекалій котів шляхом центрифужної флотації замість насиченого розчину кухонної солі застосовують 40% розчин сульфату цинку, а при очищенні суспензії яєць

(13) U
(11) 49255
(19) UA

Тохосага саті застосовують центрифугування їх у градієнтах густини 20% та 30% розчинів сахарози. Густина 40% розчину сульфату цинку ($\rho=1240\text{кг/м}^3$) вища за густину насиченого розчину кухонної солі ($\rho=1180\text{кг/м}^3$). Застосування 40% розчину сульфату цинку збільшує концентрацію яєць гельмінтів у поверхневій плівці при флотації і таким чином сприяє збільшенню кількості виділених яєць Тохосага саті на 40%. Центрифугування отриманої суспензії яєць Тохосага саті у градієнтах густини 20% та 30% розчинів сахарози дозволяє розділити її на шари частинок різної густини і відокремити очищені таким чином яйця Тохосага саті від яєць інших видів гельмінтів, які мають іншу густину.

Приклад. 2г фекалій котів із змішаною інвазією гельмінтів Тохосага саті та стронгілат суспендова-

но у воді (1:50). Проведено 7 разове відмивання водою шляхом центрифугування при 1500об/хв протягом 1хв. Осад поділено порівну, одну половину ресуспендовано у 40% розчині натрію хлориду, другу у 40% розчині сульфату цинку. Отриману суспензію відцентрифуговано 5хв. при 1500об/хв. Яйця зібрані з поверхневої плівки в окремі пробірки. Вміст пробірок із суспензією фекалій перемішано та відцентрифуговано, яйця зібрані ще кілька разів (до зникнення яєць у поверхневій плівці). Отримані яйця відмиті водою 8 разів, суспендовані у 10мл води, підраховано кількість яєць та кількість частинок домішок у 0,02мл отриманої суспензії. Із таблиці видно, що застосування в якості флотаційного розчину 40% сульфату цинку дає можливість виділити на 40% більше яєць Тохосага саті із 1г фекалій.

Таблиця

Ефективність виділення з фекалій котів та очищення яєць Тохосага саті

Способи, які порівнюють-ся	Кількість яєць Тохосага саті, тис, виділених з 1г фекалій котів	Вміст домішок частинок фекалій та яєць стронгілідного типу в отриманій суспензії яєць Тохосага саті до очищення в градієнті густини сахарози, частинок на 1 яйце Тохосага саті	Вміст домішок частинок фекалій та яєць стронгілідного типу в отриманій суспензії яєць Тохосага саті після очищення в градієнті густини сахарози, частинок на 1 яйце Тохосага саті
Прототип	5,198	16,25	
Запропонований спосіб	7,293	17,31	5,63

З метою подальшого очищення яєць після центрифугування у воді надосадову рідину видалили, під осад послідовно підшарували 20% (1081кг/м^3) та 30% (1127кг/м^3) розчини сахарози. Вміст відцентрифугували протягом 1хв. при 3000об/хв. Після центрифугування добре помітний шар яєць Тохосага саті на межі 20% та 30% розчинів сахарози, шар яєць стронгілідного типу над шаром 20% розчину сахарози та домішки частинок

фекалій у різних шарах вмісту пробірки. Шар яєць Тохосага саті збирали за допомогою пастерівської піпетки в окрему пробірку, підраховували кількість яєць Тохосага саті та вміст домішок у суспензії.

Запропонований спосіб дозволяє підвищити ефективність очищення виділеної із фекалій суспензії яєць Тохосага саті. Запропонований спосіб дозволяє також отримати чисту культуру Тохосага саті від тварин із змішаною інвазією гельмінтів.