



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004111822/13, 19.04.2004

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
19.04.2004

(43) Дата публикации заявки: 27.09.2005

(45) Опубликовано: 10.07.2007 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: КОТЕЛЬНИКОВ Г.А. Диагностика
гельминтозов животных. - М.: Колос, 1974,
с.76-77. RU 2139047 C1, 10.10.1999. RU
2011367 C1, 30.04.1994. US 4863731 A,
20.05.1987.

Адрес для переписки:

420074, г.Казань, ул. Сибирский тракт, 35,
Казанская государственная академия
ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана,
ректору КГА ВМ им.Н.Э.Бауман, Г.Ф.Кабирову

(72) Автор(ы):

Латыпов Далис Гарипович (RU),
Лутфуллин Минсагит Хайруллович (RU),
Горшкова Гузель Геннадьевна (RU),
Долбин Дмитрий Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Казанская государственная академия
ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана (RU)

(54) СПОСОБ ГРУППОВОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ГЕЛЬМИНТОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области ветеринарии. Для исследования берут от 10 до 100 проб фекалий весом примерно 1 г. Их тщательно размешивают с водой и осаждают в одной посуде, двукратно фильтруют, отфильтрованную взвесь промывают 3-5 раз, осадок центрифугируют 1-2 мин при 1500 об/мин, надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют комбинированную флотационную жидкость. В качестве флотационной жидкости используют насыщенные растворы $ZnCl_2$ (2 кг на 1 л), NaCl (0,42 кг на 1 л) и сахара

(1,67 кг на 1 л) взятые в соотношении 2:1:1 соответственно. После добавления флотационной жидкости осадок взбалтывают до получения взвеси и снова центрифугируют в том же режиме, надосадочную жидкость сливают и в пробирки доливают флотационную жидкость до получения выпуклого мениска, сверху покрывают его предметным стеклом на 3-5 мин, затем жидкость на стекле подвергают микроскопии. Способ позволяет одновременно и быстро диагностировать трематодозы, цестодозы и нематодозы. 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61B 10/00 (2006.01)*G01N 33/483* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2004111822/13, 19.04.2004**(24) Effective date for property rights: **19.04.2004**(43) Application published: **27.09.2005**(45) Date of publication: **10.07.2007 Bull. 19**

Mail address:

**420074, g.Kazan', ul. Sibirskij trakt, 35,
Kazanskaja gosudarstvennaja akademija
veterinarnoj meditsiny im. N.Eh. Baumana,
rektoru KGA VM im.N.Eh.Bauman, G.F.Kabirovu**

(72) Inventor(s):

**Latypov Dalis Garipovich (RU),
Lutfullin Minsagit Khajrullovič (RU),
Gorshkova Guzel' Gennad'evna (RU),
Dolbin Dmitrij Aleksandrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Kazanskaja gosudarstvennaja akademija
veterinarnoj meditsiny im. N.Eh. Baumana (RU)**

(54) **RAPID GROUP METHOD FOR DIAGNOSING CATTLE HELMINTHOSES**

(57) Abstract:

FIELD: veterinary medicine.

SUBSTANCE: method involves taking 10-100 samples of about 1 g large weight. They are thoroughly mixed with water and precipitated in single laboratory glass, filtering twice, washing the filtered suspension 3-5 times, centrifuging the precipitate 1-2 times at 1500 rpm, pouring the supernatant out and adding combined floatation fluid to the precipitate. Saturated ZnCl₂ (2 kg per 1 l), NaCl (0.42 kg per 1 l) and sugar (1.67 kg per 1 l) solutions taken in 2:1:1

proportion are used as the floatation fluid. After having added floatation fluid, the floatation fluid precipitate is shaken up to produce suspension and centrifuged repeatedly in the same mode. The supernatant liquid is poured out and the floatation fluid is added to obtain convex meniscus. It is covered with object-plate for 3-5 min. Then, the liquid is studied with microscope on glass.

EFFECT: accelerated diagnosis method.

1 tbl

Настоящее изобретение относится к области ветеринарии и касается разработки способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота.

В стадах крупного рогатого скота принято копрологически исследовать до 10% поголовья. Однако для более объективной оценки гельминтологической ситуации, особенно у взрослого скота, требуется обследовать все поголовье.

В практических условиях в стадах крупного рогатого скота из-за низкой диагностической эффективности существующих гельминтоовоскопических методов и их большой трудоемкости не представляется возможным выявление всех инвазированных животных и индивидуальное их лечение. Поэтому быстрое определение истинной гельминтологической ситуации в гуртах и назначение соответствующих лечебно-профилактических мероприятий по всему стаду остается первостепенной задачей.

С увеличением объема диагностических исследований существующие лабораторные методы распознавания гельминтозных заболеваний не удовлетворяют практические запросы. Производительность труда гельминтоовоскопических исследований в течение рабочего дня не превышает 40-50 анализов (в среднем 10 мин на 1 пробу).

Для механизации и автоматизации диагностических исследований рекомендуется электромеханический аппарат для гельминтологических исследований животных (Котельников Г.А. Диагностика гельминтозов животных. Москва, "Колос", 1974, 240 с. (1); Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. Москва, "Колос", 1984, 207 с. (2)). По указанию автора исследования ускоряются в семь раз, т.е. в течение рабочего дня с помощью этого аппарата можно исследовать до 350 проб фекалий.

При использовании данного аппарата одновременно механически размешивают 10 проб, а затем промывают загрязненные лопасти механизма. Для исследования каждую пробу (3 г) кладут в стаканы, находящиеся в кассетах, наливают 50 мл флотационного раствора или воды, в зависимости от того, проводят исследование методом флотации или седиментации. Кассеты с пробами вставляют в специальные пазы аппарата. При помощи реле устанавливают время размешивания проб в зависимости от исследуемого материала, а также регулируют подачу воды в ванне для промывки загрязненных мешалок. После, одновременно фильтруя, из аппарата вынимают кассеты со стаканами для последующего исследования материала.

При использовании метода последовательных смывов смесь отстаивают 5 мин (до образования осадка). Затем верхний слой жидкости сливают до осадка, а к осадку добавляют снова такое же количество воды и снова отстаивают 5 мин, после чего жидкость сливают до осадка. Такие операции повторяют до тех пор, пока надосадочный слой воды не будет прозрачным. Последний раз верхний слой сливают или отсасывают спринцовкой, а осадок поочередно разливают на предметные стекла и исследуют под микроскопом.

Недостаток при применении электромеханического аппарата то, что он автоматизирует лишь часть гельминтоовоскопических исследований, поэтому и в этом случае объем ручного труда остается большим. Кроме того, фекалии крупного рогатого скота приходится исследовать на трематодозы одними способами (методы осаждения), а на цестодозы и нематодозы другими (флотационные и комбинированные методы), так как в организме животных нередко встречаются ассоциативные формы инвазий.

Задача изобретения - разработка способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота в целях быстрого определения истинной гельминтологической ситуации в гуртах для проведения соответствующих лечебно-профилактических мероприятий по всему стаду.

Сущность изобретения заключается в одновременном исследовании от 10 до 100 проб фекалий, которых осаждают в одной посуде, двукратно фильтруют и исследуют комбинированным гельминтоовоскопическим методом, используя в качестве флотационной жидкости смесь насыщенных растворов хлорида цинка, хлорида натрия и сахара в соотношении 2:1:1.

Способ групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота проводится по следующей схеме: с каждой пробы фекалий пинцетом берут примерно 1 г фекалий в стеклянную банку емкостью 2 л (от 10 до 100 проб). Затем взятые пробы заливают небольшим количеством воды и тщательно размешивают пипеткой или

5 стеклянной палочкой, после чего при постоянном помешивании добавляют воду порциями до объема 2 л. Взвесь фекалий фильтруют через металлическое сито с размером ячеек 0,5×0,5 в другую банку емкостью 3 л. Оставшийся на сите осадок промывают 0,5 л воды. После взвесь повторно фильтруют через сито с размером ячеек 0,25×0,25 в чистую

10 трехлитровую банку. Оставшийся на сите осадок повторно промывают 0,5 л воды. Двукратно отфильтрованную взвесь отстаивают 10 мин, надосадочную жидкость осторожно сливают, оставляя над осадком лишь небольшое ее количество. Таким образом, осадок промывают 3-5 раз обычным сливом воды. После последнего промывания примерно 100 мл осадка наливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 1-2 мин при 1500 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют комбинированную

15 флотационную жидкость, состоящую из трех ингредиентов - из насыщенных растворов хлорида цинка, хлорида натрия и сахара.

Вначале готовят отдельно базовые насыщенные растворы указанных солей и сахара: 1 - насыщенный раствор хлорида цинка (2 кг $ZnCl_2$ на 1 л воды, ρ -1,82), 2 - насыщенный раствор хлорида натрия (0,42 кг $NaCl$ на 1 л воды, ρ -1,19), 3 - раствор сахара (1,67

20 кг $C_{12}H_{22}O_{11}$ на 1 л воды, ρ -1,28). Для получения комбинированной флотационной жидкости смешивают эти растворы в соотношении 2:1:1. Плотность такого раствора составляет 1,53.

После добавления флотационной жидкости осадок взбалтывают до получения взвеси и снова центрифугируют в том же режиме. После центрифугирования пипеткой осторожно доливают флотационную жидкость в центрифужные пробирки, чтобы получился выпуклый

25 мениск, сверху покрывают его предметным стеклом на 3-5 мин. Затем стекло быстро снимают, чтобы жидкость не стекала, поворачивают соприкасающейся стороной кверху и микроскопируют.

ПРИМЕР 1. Сравнительное изучение диагностической эффективности седиментационного метода последовательных смывов и способа групповой экспресс-

30 диагностики гельминтозов крупного рогатого скота проводилось в течение одного года в хозяйствах Республики Татарстан в 10 стадах с охватом 722 животных. Полученные результаты приведены в таблице.

Как видно из таблицы, в КП "Игенче" Высокогорского района из исследованных 45 проб фекалий крупного рогатого скота по методу последовательных смывов удалось обнаружить

35 в 2-х пробах (4%) яйца дикроцелий и в 4-х пробах (9%) - яйца кишечных стронгилят.

С помощью групповой экспресс-диагностики гельминтозов данного стада в 1 мл поверхностной пленки были выявлены 3 яйца дикроцелий, 4 яйца фасциол и 9 яиц

40 кишечных стронгилят. Следовательно, этот способ позволил установить то, что в стаде есть инвазированные животные не только дикроцелиозом и кишечными стронгилятами, но и фасциолезом.

В агрофирме "Нокса" Высокогорского района при использовании групповой экспресс-диагностики гельминтозов были выявлены 5 яиц дикроцелий и 11 яиц кишечных

45 стронгилят. По методу последовательных смывов яйца дикроцелий не были выявлены ни в одной пробе, а яйца кишечных стронгилят были обнаружены только в одной пробе (7%).

Аналогичные результаты были получены в агрофирме "Идел" Высокогорского района при исследовании 13 проб фекалий крупного рогатого скота. При использовании метода последовательных смывов ни в одной пробе не удалось диагностировать яйца дикроцелий. При этом лишь в 1 пробе (8%) были обнаружены яйца кишечных стронгилят. Групповой

50 способ экспресс-диагностики по этому стаду дал возможность выявить в 1 мл поверхностной пленки 6 яиц дикроцелий и 8 яиц кишечных стронгилят.

Таблица

Диагностическая эффективность седиментационного метода последовательных смывов и способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Татарстан

	Название хозяйства и района	Исследовано проб фекалий	Выявлено по методу последовательных смывов								Выявлено по способу групповой экспресс-диагностики гельминтозов (количество яиц в 1 мл поверхностной пленки)			
			дикроцелиоз		фасциолез		киш. стронгиляты		трихоцефалез		дикроцелий	фасциол	киш. стронгилят	трихоцефал
			проб	%	проб	%	проб	%	проб	%				
5	КП "Игенче" Высокогорского района	45	2	4	-	-	4	9	-	-	3	4	9	-
	Агрофирма "Нокса" Высокогорского района	15	-	-	-	-	1	7	-	-	5	-	11	-
10	Агрофирма "Идел" Высокогорского района	13	-	-	-	-	1	8	-	-	6	-	8	-
	Учхоз КГАВМ Высокогорского района	150	-	-	3	2	5	3	-	-	-	4	21	-
15	КП "Кунгер" Атнинского района	200	4	2	2	1	26	13	-	-	18	7	32	-
	Совхоз "Арский" Арского района	37	-	-	-	-	3	8	-	-	8	-	15	-
	КП "Турнали" Арского района	55	-	-	3	5	8	15	-	-	-	6	18	8
	КП "Пошалым" Арского района	107	-	-	1	1	9	8	-	-	-	9	26	7
20	КП "Мирас" Кукморского района	60	4	7	8	13	16	27	-	-	9	16	38	18
	КП "Нурминка" Кукморского района	40	2	5	5	13	9	23	-	-	12	14	27	12
	Итого	722	12	2	22	3	82	11	-	-	62	60	205	45

25 При исследовании 150 голов крупного рогатого скота в Учхозе КГАВМ Высокогорского района с помощью метода последовательных смывов удалось выявить в трех пробах (2%) яйца фасциол и в 5 пробах (3%) яйца кишечных стронгилят. При использовании способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов обнаружено в этом стаде 4 яйца фасциол и 21 яйцо кишечных стронгилят.

30 В КП "Кунгер" Атнинского района исследовано 200 проб фекалий крупного рогатого скота. По методу последовательных смывов были выявлены яйца дикроцелий в 4-х пробах (2%), фасциол - в 2-х (1%), а кишечных стронгилят в 26 пробах (13%). С помощью способа групповой экспресс-диагностики по этому стаду удалось обнаружить в 1 мл поверхностной пленки 18 яиц дикроцелий, 7 яиц фасциол и 32 яйца кишечных стронгилят. При исследовании данного стада результаты метода последовательных смывов совпали с результатами экспресс-метода.

35 При исследовании 37 проб фекалий от крупного рогатого скота в совхозе "Арский" Арского района, используя метод последовательных смывов, в 3-х пробах (8%) были обнаружены яйца кишечных стронгилят. При использовании способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов по этому стаду было выявлено 8 яиц дикроцелий и 15 яиц кишечных стронгилят, следовательно, была диагностирована дополнительно дикроцелиозная инвазия.

45 В КП "Турнали" Арского района было исследовано 55 проб фекалий крупного рогатого скота. По методу последовательных смывов удалось обнаружить в 3-х пробах (5%) яйца фасциол и в 8 пробах (15%) яйца кишечных стронгилят. С помощью способа групповой экспресс-диагностики по этому стаду в 1 мл поверхностной пленки было выявлено 6 яиц фасциол, 18 - кишечных стронгилят и 8 яиц трихоцефал. В этом случае в данном стаде дополнительно была диагностирована трихоцефалезная инвазия.

50 Аналогичные данные по эффективности способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота были получены и в остальных 3-х хозяйствах РТ (КП "Пошалым" Арского района, КП "Мирас" и КП "Нурминка" Кукморского района).

В целом в 10 хозяйствах республики были исследованы 722 пробы фекалий крупного рогатого скота. Из 10 исследованных стад при использовании метода последовательных смывов в 4-х была диагностирована дикроцелиозная, в 6 фасциолезная

и во всех 10 стронгилятозная инвазия.

С помощью способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов в 7 стадах была выявлена дикроцелиозная, в 7 - фасциолезная и также во всех 10 стронгилятозная инвазия. Кроме того, в 4 стадах дополнительно был диагностирован трихоцефалез.

5 При исследовании 722 проб из 10 стад методом последовательных смывов было затрачено 120 часов рабочего времени (в среднем 10 мин на 1 пробу). При использовании способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов для исследования того же поголовья из 10 стад требуется всего 8 часов (в среднем 50 мин на стадо).

10 Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что преимущество способа групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота заключается в том, что для ускорения исследований не требуются специальные аппараты и приспособления. Данный способ позволяет за короткое время выявить эпизоотологическую ситуацию по гельминтозам всего стада и позволяет одновременно диагностировать как яйца трематод, так и цестод и нематод. В течение рабочего дня
15 предложенный способ позволяет исследовать до 10 стад крупного рогатого скота, с охватом более 1 тысячи животных. Диагностическая эффективность предложенного способа высокая.

В литературе данный способ не описан, поэтому он является новым, соответствует критерию изобретательского уровня и промышленной применимости.

20

Формула изобретения

Способ групповой экспресс-диагностики гельминтозов крупного рогатого скота, заключающийся в том, что берут от 10 до 100 проб фекалий весом примерно 1 г, размешивают их с водой и осаждают в одной посуде, двукратно фильтруют,
25 отфильтрованную взвесь промывают 3-5 раз, осадок центрифугируют 1-2 мин при 1500 об/мин, надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют комбинированную флотационную жидкость, состоящую из насыщенных растворов $ZnCl_2$ (2 кг на 1 л), NaCl (0,42 кг на 1 л) и сахара (1,67 кг на 1 л), взятых в соотношении 2:1:1 соответственно, осадок взбалтывают до получения взвеси и снова центрифугируют в том
30 же режиме, после чего доливают в пробирку флотационную жидкость до получения выпуклого мениска, сверху покрывают его предметным стеклом на 3-5 мин, после чего жидкость на стекле микроскопируют.

35

40

45

50