

Визначення гельмінтозів великої рогатої худоби

Анотація. Узагальнено накопичену інформацію щодо практичних методів діагностики трематодозів й філяріатозів у великої рогатої худоби. Удосконалений спосіб зажиттєвої діагностики за трематодозів у великої рогатої худоби забезпечує виявлення 38,3±1,2 % яєць парамфістом, 36,6±1,1% яєць фасціол та 30,4±1,17 % – яєць дикроцелій, що значно перевищує седиментаційний метод послідовних промивань. Додавання розчину бриліантового зеленого до осаду крові підвищує ефективність гемоларвоскопічного способу діагностики сетаріозу на 73 %.

Ключові слова: велика рогата худоба, гельмінтози, діагностика.

Diagnosics of helminthisms of cattle.

Abstract. The generalized of existing information of the practical methods of diagnosis trematodes and filariases cattle. An improved method of in vivo diagnosis trematodes cattle detects 38,3 ± 1,2% paramfistoma eggs, 36,6 ± 1,1% of fasciola eggs and 30,4 ± 1,17% - eggs dikrotsely, far exceeding the sedimentation method successive washings. Addition solution of diamond green to sediment of blood allows to discover anymore at 73%.

Key words: cattle, helminthiasis, diagnostics.

**О. КРУЧИНЕНКО, О. КЛИМЕНКО,
С. МИХАЙЛЮТЕНКО**

кандидати ветеринарних наук

Полтавська державна аграрна академія

М. ТЕМНИЙ, канд. вет. наук

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» м. Харків.

Серед гельмінтозів великої рогатої худоби домінують фасціольоз, дикроцеліоз, парамфістоматидози, стронгілятози органів травлення та сетаріоз. Однак, питання лабораторної діагностики гостро стоїть лише у хворих на трематодози та філяріатози.

Дослідниками запропоновано досить велику кількість флотаційних, седиментаційних, комбінованих та гемоларвоскопічних методів дослідження тварин на гельмінтози, тому питання вибору оптимального, залишається досить актуальним [3, 4, 7].

Для діагностики трематодозів жуйних найбільш поширеним у практичних умовах є метод послідовних промивань, який у даний час використовують в лабораторіях ветеринарної медицини. Запропоновані

також методи з використанням флотаційних рідин: стандартизований метод флотації з розчином нітрату свинцю за Котельниковим-Хреновим (питома вага 1,5 г/л), метод Вишняускаса (питома вага 1,24 г/л), а також комбіновані – метод Демідова та ін. [1, 2].

В експериментальних дослідженнях метод Котельникова-Вареничева, з використанням насиченого розчину хлориду цинку (питома вага 1,82 г/л) забезпечував виявлення 18,3 % яєць фасціол [2]. Інші автори вказують, що найефективнішим виявився метод із використанням флотаційної рідини, яка містила хлорид цинку, хлорид натрію й цукор у співвідношенні 2:1:1 (питома вага 1,53 г/л). При цьому поверхнева плівка після центрифугування залишалася чистою, а нанесені краплі досліджуваного матеріалу на предметне скельце не кристалізувалися впродовж 3 годин [6].

Науковцями запропоновано спосіб діагностики у жуйних тварин в експериментальних умовах із використанням флотаційної суміші розчинів хлориду цинку й бішофіту у співвідношенні 1:1 (питома вага 1,55 г/л). При порівнянні двох методів встановлено, що діагностична ефективність методу послідовних змивів зі штучною закладкою яєць фасціол не перевищувала 4,1±0,3 %, а діагностична ефективність із використанням хлориду цинку й бішофіту виявилася вищою й досягала 36,4±1,26 % яєць. Флотаційна суміш мала досить високі коагуляційні властивості, що давало змогу одержати після центрифугування чисту поверхневу плівку та подовжити тривалість

Рецензенти: докт. вет. наук **М.В. Богач (Одеська дослідна станція Національного наукового центру «ІЕКВМ»); канд. вет. наук **А.Б. Бородай** (Полтавський університет економіки і торгівлі).

мікроскопічного дослідження до 10 годин за температури від 10 до 20°C [4].

Для діагностики філяріатозів тварин вчені пропонують застосовувати методи розчавленої краплі, Кнотта, Фюллеборна, Попової та ін. [7]. Російські дослідники зазначають, що додавання 0,1% розчину оцтової кислоти до проби крові допомагає легко знаходити личинок навіть без центрифугування [8].

За сетаріозу великої рогатої худоби зручним у використанні залишається удосконалений метод Попової у модифікації Бундіної. Однак напівпрозорі личинки філярій іноді зливаються з фоном досліджуваної рідини, що знижує його ефективність. Використання розчину метиленового синього, за даними ряду авторів, підвищує контрастність та дає змогу виявити більшу кількість личинок [9].

Таким чином, на підставі вищевикладеного, можна зробити висновок про те, що існує велика кількість методів діагностики на гельмінтози великої рогатої



Рис. 1. Яйце дикроцелій, виявлене методом послідовних змивів (x150)

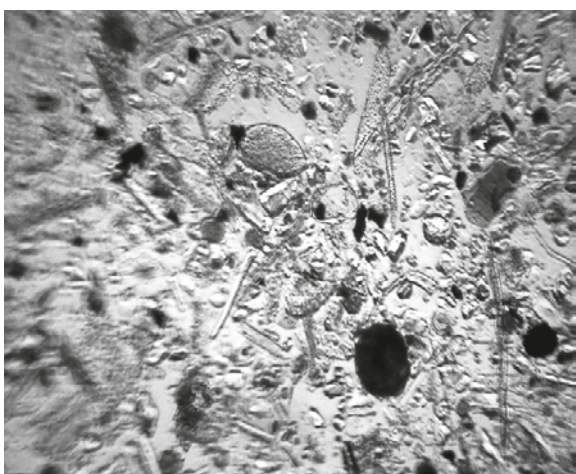


Рис. 2, 3. Деформоване й недеформоване яйце парамфістоми під дією хлориду цинку (x150)

худоби. На нашу думку, актуальним є питання про удосконалення існуючих методів діагностики на трематодози й філяріатози великої рогатої худоби.

Мета роботи полягала у порівнянні ефективності методів послідовних змивів та комбінованого за І.С. Дахно та ін., а також гемоларвоскопічного способу діагностики сетаріозу великої рогатої худоби (удосконалений метод Попової у модифікації Бундіної) за додавання 1 % розчинів метиленового синього, бриліантового зеленого, генціанового фіолетового.

У завдання роботи входило визначити ступінь ефективності запропонованих методів діагностики гельмінтозів у корів.

Для приготування флотаційної суміші використовували насичений розчин хлориду цинку (на 1л води 2 кг $ZnCl_2$, питома вага 1,82 г/л) і бішофіт (питома вага 1,29 г/л) у співвідношенні 1:1. За температури 20 °С питома

вага флотаційної суміші становила 1,55 г/л. З метою стандартизації досліджень у роботі використовували: ідентичний посуд, центрифугальні пробірки об'ємом 75см³, гельмінтологічні петлі діаметром 0,9 мм.

Від корів, спонтанно інвазованих трематодами, проводили відбір проб фекалій. Досліджували методами послідовних змивів та за І.С. Дахно та ін. Методику досліджень стандартизували, для цього фекалії брали в кількості 3 г, посуд використовували однакового розміру. Дослідження проводили у трьох повтореннях.

У великої рогатої худоби, ураженої сетаріями, кров для дослідження брали з яремної вени й стабілізували 20 % розчином лимоннокислого натрію. За удосконаленим методом Попової в центрифужну пробірку наливали 1 см³ крові, додавали 9 см³ дистильованої води, ретельно перемішували і центрифугували 7-9 хв. при 1500 тис. об./хв. Після цього надосадову рідину зливали, а осад об'ємом близько 1см³ досліджували порціями на предметних скельцях за малого збільшення мікроскопа (об. 9, ок. 15). Аналогічним чином проводили дослідження інших проб, але після зли-

Порівняння методів концентрації мікросетарій за діагностики сетаріозу великої рогатої худоби (n=3)

№ проби п/п	Гемоларвоскопічний метод Попової, II (екз. лич./см ³)			
	удосконалений Бундіною	із додаванням розчину метило- вого синього	із додаванням генціанвіолету	із додаванням розчину бриліантового зеленого
1	17,0±5,03	22,67±2,40	22,66±3,71	28,33±5,33
2	8,67±2,60	11,33±2,33	10,0±1,0	11,33±1,20
3	11,33±2,85	16,33±3,76	20,66±0,66	22,33±1,45
4	2,33±0,33	4,33±0,33	4,66±0,33	5,0±0,57
5	2,66±0,33	7±1,53	5,66±0,88	6,0±1,15
6	15,33±1,45	31±3,06	23,33±0,88	27,33±3,92
7	11,0±2,08	13,33±2,33	14,0±1,0	15,33±2,02
8	12,33±3,53	18,67±2,91	21,0±0,57	24,33±2,33
9	3,67±0,67	6,67±0,88	5,66±0,33	6,0±0,57
10	5,33±0,67	7,67±0,88	9,33±0,88	9,0±0,57
Середнє значення	8,96±1,67	13,9±2,65	13,7±2,4	15,5±2,94

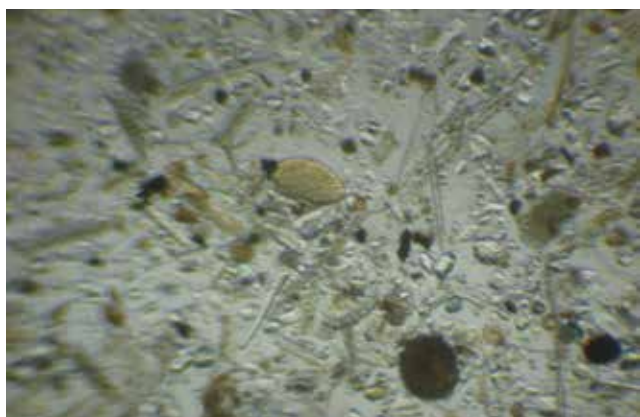


Рис. 4, 5. Яйце фасціоли, виявлене методом послідовних промивань та під дією хлориду цинку (x150)

вання надосадової рідини до осаду додавали кілька крапель 1 % розчинів барвників і лише через 7-10 хвилин досліджували під мікроскопом. Кожну пробу досліджували 3 рази.

Результати досліджень показали, що діагностична ефективність методу послідовних змивів від корів, спонтанно інвазованих парамфістомами (проба №1) та фасціолами (проба №2), не перевищувала 4,4±0,4%



Рис. 6. Мікросетарії, виявлені методом Попової (у модифікації Бундіної) (x400)

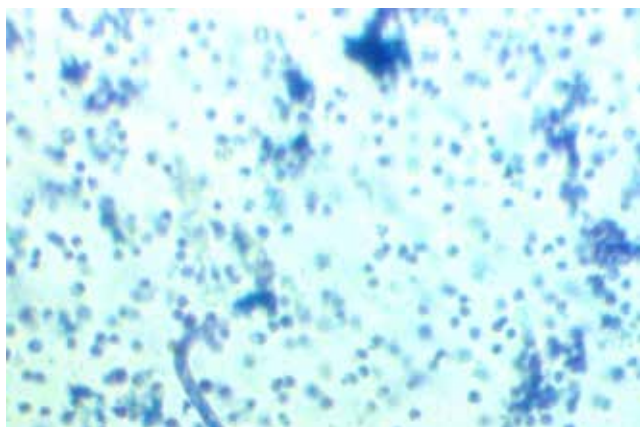


Рис. 7. Мікросетарія за додання 1% розчину метиленового синього (x400)

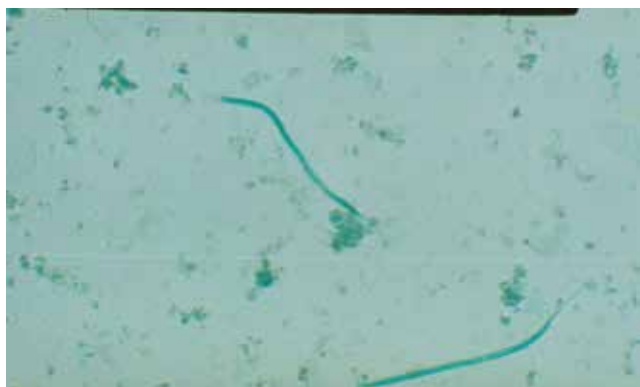


Рис. 8. Мікросетарія за додання 1% розчину бриліантового зеленого (x 270)

та $4,2 \pm 0,5\%$, відповідно. У корів, уражених дикроцеліями (проба №3) ефективність методу послідовних промивань не перевищувала $3,8 \pm 0,2\%$ (рис. 1).

У разі дослідження проби №1 методом І.С. Дахно та ін. діагностична ефективність виявилася більш високою й досягала $38,3 \pm 1,2\%$. Поверхнева плівка після центрифугування залишалася чистою, а краплі, нанесені на предметне скло, не піддавалися кристалізації протягом 12-ти годин. Однак, під дією хлориду цинку $25,1 \pm 0,7\%$ яєць парамфістом деформувалися (рис. 2, 3).

Під час дослідження проби №2 комбінованим мето-



Рис. 9. Мікросетарія, виявлена методом Попової з доданням до осаду 1% розчину генціанвіолету (x 400)

дом було виявлено $36,6 \pm 1,1\%$ одиниць яєць фасціол (рис. 4), до того ж $22,5 \pm 0,73\%$ із них були деформовані.

Гельмінтоовоскопічні дослідження проби фекалій №3 забезпечували ефективність виявлення яєць дикроцелій у $30,4 \pm 1,17\%$, при цьому кількість деформованих яєць становила $8,0 \pm 0,81\%$.

Таким чином, діагностична ефективність гельмінтоовоскопічного методу в лабораторних умовах із використанням флотаційної суміші розчинів хлориду цинку й бішофіту у співвідношенні 1:1 перевищує результати досліджень седиментаційним методом послідовних змивів.

Використання бішофіту – екологічно чистого природного мінералу, який має коагуляційні властивості та входить до складу флотаційної суміші, дає змогу одержати після центрифугування чисту поверхневу плівку, що дає змогу ретельно вивчити морфологічні особливості яєць фасціол та сприяє підвищенню ефективності життєвої діагностики.

Отже, широке використання у виробничих умовах флотаційної суміші із розчинів хлориду цинку і бішофіту дасть змогу підвищити ефективність визначення екстенсивності та інтенсивності трематодозної інвазії у великої рогатої худоби.

У ході дослідження на ситаріоз за використання методу Попової у модифікації Бундіної в пробах крові виявляли $3,67 \pm 0,67 - 17,0 \pm 5,03$ од. мікросетарій в 1 см^3 крові, що в середньому становило $8,96 \pm 1,67$ од. личинок ситарій (табл. 1). У свіжих зразках крові мікросетарії зберігали рухливість упродовж 2-3 діб (рис. 6).

Під час додавання до осаду розчину метиленового синього поле мікроскопа було затемнене, тому рідину на предметному склі розподіляли тонким шаром (рис. 7).

Інтенсивність ситаріозної інвазії була вищою порівняно з попереднім методом і становила $13,9 \pm 2,65$ од. личинок в 1 см^3 крові, але личинки були рухливими лише в перші хвилини дослідження.

Найбільшу кількість мікросетарій було виявлено за додавання до осаду 1 % розчину бриліантового зеленого (рис.8). Личинки були малорухливими, але вмістиме профарбовувалось в зелений колір, а чох-



лики на головному та хвостовому кінцях залишалися прозорими.

Середня інтенсивність інвазії у десяти досліджуваних пробах за використання бриліантового зеленого як барвника становила $15,5 \pm 2,94$ од. личинок в 1 см^3 крові. Слід відмітити, що в кожній пробі виявляли личинок майже вдвічі більше порівняно з методом Попової без додавання фарб. Однак шар осаду необхідно розподіляти дуже тонким шаром або додавати воду й повторно центрифугувати для просвітлення вмістимого.

Добре помітними, але нерухливими були мікросетарії після додавання до осаду розчину генціанвіолету. Інтенсивність інвазії коливалась від $4,66 \pm 0,33$ до $22,66 \pm 3,71$ од. личинок, а в середньому становила $13,7 \pm 2,4$ мікросетарій в 1 см^3 крові (рис. 9).

Отже, додавання розчину метиленового синього дає змогу виявити на 55,0 %, генціанвіолету – на 53,0%, а бриліантового зеленого – на 73,0 % більше мікросетарій.

Висновки.

Удосконалений спосіб захиттєвої діагностики за трематодозів у великої рогатої худоби забезпечує виявлення 38,3 \pm 1,2 % яєць парамфістом, 36,6 \pm 1,1 % яєць фасціол та 30,4 \pm 1,17% – яєць дикроцелій, що значно перевищує седиментаційний метод послідовних промивань.

Використання органічних барвників підвищує ефективність гемоларвоскопічного способу діагностики сетаріозу великої рогатої худоби.

Додавання розчину бриліантового зеленого до осаду крові допомагає виявити на 73,0 % більше мікросетарій у досліджуваному матеріалі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дахно І.С., Березовський А.В., Галат В.Ф. та ін. Атлас гельмінтів тварин.– К.: Ветінформ, 2001.– 118 с.
2. Вишняускас А.Ю. Сравнительная оценка эффективности некоторых методов копрологической диагностики и антигельминтиков при фасциолезе овец // Автореф. дис. канд. вет. наук.– Каунас, 1966.– 18 с.
3. Городович Н.М., Диких П.Я. Диагностика гельминтозов с применением покровных стекол // Российский паразитологический журнал.– 2010.– №2.– С. 35–37.
4. Дахно И.С., Дахно Г.Ф., Кручиненко О.В. и др. Усовершенствование копроскопического метода диагностики фасциолеза крупного рогатого скота // Российский паразитологический журнал.– 2008.– №3.– С. 77–80.
5. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды.– М.: Колос, 1984.– С. 46–47.
6. Латыпов Д.Г., Лутфуллин М.Х., Горшкова Г.Г. и др. Модифицированный гельминтоовоскопический метод для диагностики трематодозов крупного рогатого скота // Тр. Всерос. ин-та гельминтол.– 2003.– Т. 39.– С. 136–145.
7. Сорока Н.М., Березовський А.В., Галат В.Ф. та ін. Методичні вказівки щодо діагностики філяріатозів у сільськогосподарських тварин.– К.: «Ветінформ», 2002.– 25 с.
8. Козлов Ю.В., Деревянкіна А.Г. Способ диагностики сетариоза у крупного рогатого скота / Пат. 2460493 Российская Федерация, МПК А61D99/00.; заявитель и патентообладатель Кубанский государственный аграрный университет (RU).– №2011126461; заявл. 27.06.2011; опубл. 10.09.2012, Бюл. №25.
9. Watanabe Y., Yang C.H., Tung K.C. et al. Comparison of Microfilaria Concentration Method for Setaria digitata Infection in Cattle and for Dirofilaria immitis Infection in Dogs // J. Vet. Med. Sci.– 2004.– V.66 (5).– P. 543–545.