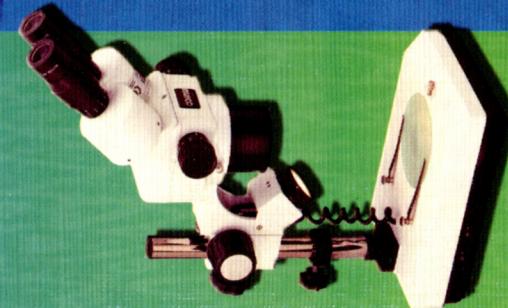


Министерство сельского хозяйства РФ
Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору
Федеральное Государственное учреждение
Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория

Репетун В.В., Аблов А.М.,
Кондратистов Ю.Л.

ГЕЛЬМИНТООВОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕЛЬМИНТОЛОГИИ

(Научно-методическое
пособие)



Иркутск
2008

УДК: 619:579 (571.54)
Е 155

Научно-методическое пособие предназначено для широкого круга ветеринарных и медицинских специалистов, занимающихся вопросами лабораторной диагностики гельминтозов. Представляет интерес для биологов, занимающихся вопросами прикладной гельминтологии, а также студентов ветеринарных, медицинских и биологических специальностей высших учебных заведений.

Разработано специалистами ФГУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» - руководителем Испытательного центра по сертификации пищевой продукции и продовольственного сырья, кандидатом биологических наук Репетун В.В., директором лаборатории Абловым А.М. и зав. отделом гельминтозов сельскохозяйственных животных, птиц и рыб Кондратистовым Ю.Л., под редакцией доктора ветеринарных наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Сивкова Г.С.

Утверждено и рекомендовано к печати ученым советом ВНИИВЭА (протокол № 2 от 8 апреля 2008 г.); рассмотрено, утверждено и рекомендовано к печати на консультативном совещании при руководителе территориального управления Россельхознадзора по Иркутской области и Усть-Ордынскому Бурятскому автономному округу 4 июля 2008 г.

Рецензенты: академик РАСХН, доктор ветеринарных наук, профессор Ямов В.З. (ВНИИВЭА, г. Тюмень); доктор биологических наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ Стом Д.И. (НИИ биологии при ИГУ, г.Иркутск); доктор медицинских наук, профессор Колесник С.А. (ИГСХА, г.Иркутск).

УДК 619:579(571.54)
© Репетун В.В., Аблов А.М., Кондратистов Ю.Л., 2008
© ФГУ ИМВЛ, 2008

ВВЕДЕНИЕ

Многолик и многообразен мир гельминтов – паразитических существ, представленных типами платод, нематод и акантоцефал. Более тысячи видов этих паразитов от микроскопических до ленточных форм длиной в несколько метров поселяются в органах и тканях человека, сельскохозяйственных животных и птиц, вызывая тяжелые, порой смертельные болезни, а при более слабой инвазии – снижение продуктивности животных и ухудшение здоровья человека.

Развитие гельминтов сложное. Оно происходит в организме дефинитивного хозяина и во внешней среде, поэтому человек, сельскохозяйственные животные и окружающая их среда экологически взаимосвязаны. На этой основе происходит циркуляция гельминтов и распространение инвазии в природе и обществе. Обсемененная яйцами и личинками окружающая среда – источник непосредственного заражения человека и животных.

Успех оздоровительной работы при гельминтозах – заболеванием, вызываемых гельминтами, зависит от своевременной и достоверной диагностики, на основе которой и строится комплекс лечебно-оздоровительных мероприятий, направленных на их искоренение. Этим определяется необходимость знания и применения методов гельминтологических исследований.

Гельминтологические исследования состоят из прижизненной и посмертной диагностики. Наибольшее значение имеет прижизненная диагностика. Методы прижизненной диагностики подразделяются на клинико-эпизоотологический диагноз и лабораторно-диагностические исследования, которые в свою очередь подразделяются на методы гельминтоовоскопии и гельминтоларвоскопии.

В книге приводятся сведения о методах гельминтоовоскопии, применяемых как в ветеринарной так и медицинской практике и рассчитана на практических ветеринарных и медицинских работников, студентов ветеринарных, медицинских высших учебных заведений и биологов, занимающихся проблемами прикладной гельминтологии.

МЕТОДЫ ГЕЛЬМИНТООВОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Гельминтоовоскопия (от латинского *ovum*- яйцо и греческого *skopeo*- смотрю) объединяет группу методов исследования, с помощью которых выявляют яйца возбудителей гельминтозных заболеваний. Методы овоскопии подразделяются на группы по принципу способа выделения яиц из проб фекалий на флотационные (всплытие) и седиментационные (осаждение), комбинированные (флотационно-седиментационные) и методы исследования нативного (естественного) материала.

История вопроса: Гельминтоовоскопические исследования в виде простого нативного мазка впервые были предложены французским врачом Казимиром Джозефом Давеном (C. J. Davaine, 1857) и к концу 19 века получили широкое распространение. В России этот метод применялся рядом врачей - гельминтологов (Барановский, 1889; Гречанинов, 1890 и др.). При этом для постановки более точного диагноза предлагалось проведение повторных исследований фекалий (Груздев, 1891; Зандер, 1894; Долгополь, 1895). Для повышения эффективности гельминтоовоскопических исследований предлагались различные усовершенствования. Лютц (Lutz, 1893) для исследования фекалий травоядных ввел просеивание через газовое сито. Согласно его методики, Лютца можно смело назвать основоположником метода последовательных смызов или последовательных промываний, предложенных значительно позже. Лейхтенштерн (Leichtenstern, 1905) предложил в плоской чашке смешивать порцию фекалий с 2-3 кратным количеством воды; после отстаивания исследуется капля с поверхности, которая берется платиновой петлей. Метод нативного мазка в значительной степени был усовершенствован Лоосом (Looss, 1914), который взвесь фекальной массы предложил добавлять водный раствор метилового зеленого (Methylgrün); частица этой взвеси наносится на предметное стекло, покрывается покровным и исследуется. Яйца видны в виде светлых

включений на темном фоне и гораздо легче диагностируются. Патаки (Pataki, 1918) рекомендовал фекалии смешивать с двукратным количеством воды. Тотчас после перемешивания, часть взвеси берется пипеткой, наносится на предметное стекло, покрывается покровным и микроскопируется. Е.С.Шульман, Д.М. Бордей-Штейн, Б.Л.Затуренская, Н.К.Ковалевская и др. (1933) предложили метод закручивания взвеси фекалий в воде с последующим исследованием капли из центра образовавшейся воронки. Воробьевая М.М., Горбань Н.И. (1950) применили этот метод для диагностики макрокантонихоза свиней; Овчинников М.И. (1955) рекомендовал делать мазок на большом стекле (9 x 12 см.). Наибольшее распространение получила методика Като (K. Katoh, 1958), или толстого мазка с целлофановым покрытием, который применяют для диагностики аскаридоза, гетеракидоза, капилляриоза птиц. Для диагностики гельминтозов жвачных она непригодна (Г.А.Котельников, В.М.Хренов, 1984). За рубежом ее применяют для исследования гельминтозов свиней и собак (J. Decker and K. Fehler, 1980). Однако метод нативного мазка по своей эффективности уступает другим методам исследования – флотации, предложенного Бассом (1906), русским врачом Гинзбургом Э.Д. (1911, 1913), усовершенствованный немецким врачом Фюллеборном (F.G.Fulleborn, 1920) и седиментации, предложенным Телеманом (Telemann, 1906). Американский паразитолог Дарлинг (S. Darling, 1911) объединил эти два метода флотации и седиментации и создал комбинированный метод гельминтоовоскопических исследований – флотационно-седиментационный, позже значительно усовершенствованный Щербовичем И.А. (1936).

Микроскопия фекалий

Микроскопия – основной метод исследования фекалий для обнаружения яиц гельминтов. При этом применяются различные методы.

Фекалии для анализа должны быть доставлены не позже суток после их выделения, а при подозрении на стронгилоидоз – немедленно. При нарушении этого правила диагноз в связи с разрушением яиц гельминтов нередко поставить затруднительно или невозможно.

Для повышения достоверности исследования анализы нужно повторять несколько раз ежедневно или с промежутками в 1-3 дня.

Нативный мазок. Небольшой кусочек кала переносят палочкой на предметное стекло в каплю 50% водного раствора глицерина (для его получения смешивают равное количество воды и чистого глицерина), растирают до получения равномерного прозрачного мазка. На одном стекле готовят два мазка (два препарата), всего просматривают не менее двух стекол.

При небольшом количестве яиц в фекалиях этим методом выявить их не всегда удается. Поэтому исследования фекалий на яйца гельминтов методом нативного мазка не является достоверным.

Модификацию нативного мазка предложили Березанцев и Автушенко (1973) – большой мазок под бинокулярным микроскопом. 200-300 мг фекалий, величиной с крупную горошину, растирают на стекле 6 x 9 см в 15-20 каплях 50% водного глицерина. Мазок просматривают под бинокулярным стереоскопическим микроскопом (МБС-1 и др.) в проходящем свете без покровных стекол. При этом хорошо обнаруживаются окрашенные крупные яйца гельминтов, несколько хуже видны прозрачные яйца цestод. Для обнаружения мелких яиц трематод этот метод непригоден. Большой объем исследуемого материала и большое поле зрения при высокой глубине резкости обеспечивает значительную эффективность этой модификации нативного мазка по сравнению с обычным.

Толстый мазок с целлофаном по методу Като (Kato H., 1958). Яйца гельминтов регистрируют в толстом мазке фекалий, просветленного глицерином и подкрашенного малажитовой зеленью.

Предварительно гидрофильный целлофан толщиной 22 мкм нарезают пластинками с размером сторон 20 x 40 мм и погружают на сутки в раствор следующего состава: 6 мл 3% водного раствора малахитовой зелени, 500 мл глицерина и 500 мл 6% водного раствора фенола. В 3-5 мл указанной смеси можно обработать 100 пластинок, которые в этом растворе можно и хранить в хорошо закрытом сосуде. В процессе первичного приготовления пластинок необходимо следить, чтобы они не прилегали тесно друг к другу, так как это затрудняет пропитывания целлофана раствором глицерина.

100 мг фекалий (размером с горошину) наносят на предметное стекло, покрывают обработанной глицерином пластинкой целлофана и придавливают резиновой пробкой так, чтобы фекалии не растеклись из под целлофана (рис.1).

Исследование при малом или среднем увеличении необходимо проводить не позже чем через час после приготовления мазка, а в жаркую погоду – через 30-40 мин. Чрезмерное высыхание препарата и длительное просветляющее действие глицерина затрудняет микроскопию.

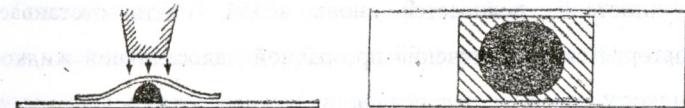


Рис. 1. Методика приготовления толстого мазка фекалий с целлофаном по методу Като.

Метод Като позволяет исследовать большой объем фекалий и с большей

эффективностью, чем при обычном нативном мазке. Этим методом можно выявить аскарид, власоглавов, лентцсов, трематод, цестод.

При отсутствии малахитовой зелени и фенола в качестве просветляющей жидкости можно использовать 50% водный раствор глицерина.

Метод седиментации и его модификации

Лютц (Lutz, 1893). Фекалии промываются на газовом сите, фильтрат отстаивается, после чего вода сливаются. Эта процедура повторяется до тех пор, пока вода над осадком не сделается прозрачной. После чего осадок исследуется на яйца.

Кобб (Cobb, 1904) предложил метод для исследования фасциолеза овец. Проба фекалий размером с горошину подвергается с водой кипячению в течение нескольких минут (с целью размельчения материала), полученная взвесь выливается на металлическое сите, имеющее форму полушария, которое помещается в часовую стекло соответствующего диаметра, наполненное водой; с помощью волосяной кисточки фекальная масса протирается сквозь сите. Процеженная сквозь сите масса отстаивается, верхний слой отсасывается пипеткой, доливается снова водой, опять отстаивается. Процедура повторяется до получения прозрачной надосадочной жидкости. После чего жидкость отсасывается, осадок процеживается через мелкое шелковое сите. Просеянная масса просматривается под микроскопом на яйца фасциол.

Гастейгер (Gasteiger, 1905) предложил метод фильтрации, разработанный им для регистрации яиц аскарид. Фекалии промываются в большом коли-

честве воды, затем процеживаются через сито и фильтруются. Фильтр исследуется на наличие яиц.

Пиана (Piana, 1906) предложил метод, названный им «гипостемоскопический», в котором предложено применять бокал, суживающийся книзу до острого конуса (емкостью 1,5-3 л), в который вставляется стеклянная трубка 3 см диаметром. Фекалии помещают в бокал вокруг этой трубы и заливают водой, которая вымывает яйца. Через некоторое время пипеткой берется капля из осадка в трубке и микроскопируется. Автором также были предложены метод осаждения в бюретке и метод центрифугирования.

Пеппер (Pepper, 1908) предложил метод, основанный на подмеченной им (в отношении яиц человеческих анкилостомид) липкости, вследствие чего яйца прилипают к стеклу. Метод выполняется следующим образом: частица отмытых и осажденных фекалий распределяется на покровном стекле и оставляется на несколько минут, после чего это стекло осторожно погружается в воду; при извлечении его из воды яйца анкилостомид остаются приставшими к стеклу, в то время как другие частицы смываются. Эта процедура может быть повторена несколько раз, так что можно собрать на стекле большое число яиц (цит. по К.И.Скрябину, Р.С.Шульцу, 1940).

Топальский Н.П.(1910) описал метод обогащения на основе седиментации, рекомендованный областным фармацевтом Приморской области Ольшевским, в котором: пробу фекалий, смешанную с 4%-ным раствором формалина, процеживали через марлю; фильтрат центрифугировал и обрабатывал реактивом Швейцера, промывал водой и для просветления - насыщенным раствором хлоралгидрата. После чего микроскопировал.

Методы седиментации впоследствии были расширены различными модификациями. В дальнейшем, исследователи предлагали как модификации метода Телемана, так и некоторые оригинальные методы осаждения (седи-

ментации) (Альфузов, 1928; Стариakov, 1929; Рубашев, 1930., и др.). К настоящему времени из всех этих предлагаемых методов наиболее известны следующие:

Методика Эрлиха (Erlich L., 1927) предложена для исследования жвачных на фасциолез. Пробу фекалий 5 г тщательно размешивают в стакане с 10-кратным количеством воды, смесь фильтруют через марлю в чашки Петри до ее наполнения. Фильтрат отстаивают 10 мин и быстро сливают до осадка, а осадок микроскопируют в чашке Петри при малом увеличении.

Модификация Шульца Р.С., Раевской З.А. и Лосева Л.А.(1930). Суть ее та же самая, что и методики Эрлиха. Проводят обычное осаждение, центрифугирование и микроскопию осадка на предметном стекле. Яйца фасциол и других гельминтов легче отыскать на стекле, чем в чашке Петри.

Метод Петрова А.М., Потемкиной В.А.(1933). Применяют обычную методику осаждения и последовательного промывания осадка в стаканчиках без центрифугирования для диагностики фасциолеза жвачных. В результате сложилась методика, которая в 30-40-х годах стала называться методикой последовательных сливов. Диагностическая ее эффективность была невысокой. По Вайвариня Г.Ф. (1960) она составляет 23-27%, по Демидову Н.В. (1963) - 30-49%.

Для повышения эффективности методики предложены некоторые усовершенствования. С целью ускорения просмотра осадка рекомендовано применять трихинеллоскоп типа ФОК. Осадок размещают на стекле в небольшие камеры, площадью 1 cm^2 и высотой 0,5 мм. (Г.В.Сосипатров, 1965). С целью повышения диагностической эффективности для размешивания пробы предложена горячая вода, благодаря чему достигается лучшее выделение яиц и промывание осадка. Осадок на предметное стекло можно не выливать, а брать пипеткой и по каплям наносить на предметные стекла или стекла

размером 9x12 см (В.В.Горохов, 1977) В дальнейшем методика последовательных смызов была видоизменена (Г.А. Котельников, В.М. Хренов, 1980; Г.А.Котельников,1981), благодаря чему эффективность метода возросла в 1,5 раза.

Методика Горишкова И.П (1944) предложена для диагностики драшнейзииза и габренемоза лошадей. Основана на принципе осаждения и концентрации яиц. 150-300 г фекалий помещают на металлическом сите или марле в большую воронку с верхним диаметром 15-20 см. Предварительно на нижний конец воронки надевают резиновую трубку длиной 10-15 см с зажимом на конце. Воронку укрепляют в штативе. Фекалии разрыхляют, заливают поверху теплой водой (38-39 $^{\circ}\text{C}$) и выдерживают 4-24 ч. Затем зажим осторожно открывают и жидкость выпускают в центрифужную пробирку и центрифугируют 3 мин. Верхний слой жидкости сливают, а осадок наносят на предметное стекло и микроскопируют на наличие яиц драшен и габронемы.

Методика Горячева П.П.(1949). Предложена для диагностики описторхоза человека и плотоядных. Яйца описторхисов очень трудно выявить по причине их высокого удельного веса (1,38-1,46), малой величины и слабой окраски. В цилиндр диаметром 2,5-3 см и высотой 18-20 см наливают 80-100 мл 20-22%-ного раствора нитрата калия или насыщенного раствора хлорида натрия. Пробы фекалий массой 0,5-1 г тщательно размешивают в 20-25 мл дистиллированной воды, осторожно процеживают в цилиндр через металлическое сите (или марлю), надетое на воронку, избегая перемешивания взвеси фекалий и раствора (конец воронки погружают в раствор соли на 0,25-0,5 см). В результате происходит медленная диффузия между солевым раствором и дистиллированной водой с взвешенными частицами фекалий. Яйца гельминта медленно оседают на дно. Через 2-3 ч верхний слой из цилиндра отсасывают пипеткой. Оставшийся раствор центрифугируют или отста-

ивают 15-20 час. Осадок переносят пипеткой на предметное стекло и микроскопируют.

Метод Суансона и Хоннера (L.E.Swanson, H.H.Hopper, 1950), центрифужный, седиментационный. Применяется для диагностики фасциолеза. Пробу фекалий из прямой кишки, массой 300-500 г, помещают в литровый стакан и тщательно размешивают для равномерного распределения яиц во взвеси. Из различных частей этой пробы 5 мл взвеси и помещают в 250 мл эrlenmeyerовскую колбу, добавляют 100 мл воды и перемешивают до получения равномерной взвеси. Взвесь последовательно процеживают в 2-х литровый стакан через три сита с 20, 40 и 60 отверстиями на квадратный дюйм соответственно. Сита промывают водой (до объема 2 л) в стакане. Полученную взвесь отстаивают в течение 2 часов, после чего жидкость отсасывают при помощи сифона так, чтобы не затрагивать осадка (до 2 см от дна). Осадок выливают в эrlenmeyerовскую колбу, куда добавляют воду до общего объема 20 мл, распределяют на четыре центрифужные пробирки и центрифигируют 20-30 сек. При 3000 об/мин. Надосадочную жидкость отсасывают, осадок окрашивают несколькими каплями 15% -ного раствора настойки йода, добавляют воду до верха пробирок и вновь центрифигируют в том же режиме. Отсасывают жидкость и исследуют осадок в чашке Петри, под которую подкладывают стекло с нанесенными на него линиями (для удобства подсчета яиц).

Метод Уилмотта и Пестера (Willmott and Pester, 1952) основан на избирательном просевании в специально сконструированном аппарате, который состоит из системы сит по 20 см в диаметре с 5, 15, 39 и 45 ячейками на сантиметр соответственно. Сита плотно крепят в металлическую стойку высотой около 40 см вместе с воронкой (диаметр 22 см) поверху, конец ее опускают в контейнер. От крупного рогатого скота берут пробу

фекалий около 150 г, готовят гомогенную суспензию и процеживают через сита. Жидкость собирают в контейнер вместе с водой, которой 3-4 раза промывают сита. Потом ее взбалтывают и пропускают через шелковое сито, удерживающее яйца фасциол и парамфистом. Сито снимают, осадок с него смывают и исследуют в чашке Петри или на предметном стекле (рис.2). Метод предложен исследователями для копрологической диагностики парамфистоматоза крупного рогатого скота и, по их данным, эффективнее чем другие способы.

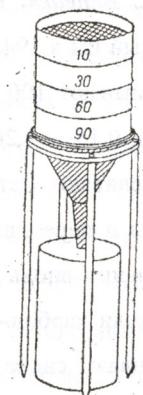


Рис.2.Прибор для диагностики фасциолеза по методу Уилмотта и Пестера

Стандартизированная методика последовательных промываний (Т.Г. Никулин, 1953). Пробу фекалий (3 г) кладут в стаканчик, заливают водой в небольшом количестве и тщательно размешивают палочкой, затем при постоянном помешивании добавляют воду порциями до объема 50 мл. Смесь фильтруют через ситечко в другой стаканчик и отстаивают 5 мин (до образования осадка). Затем верхний слой сливают, снова добавляют такое же количество воды и неоднократно промывают осадок до тех пор, пока надосадочный слой не будет прозрачным. В последний раз верхний слой сливают, а осадок разливают на предметные стекла или стекла размером 9x12 см и микроскопируют, с целью обнаружения яиц гельминтов. Поскольку при сли-

вании осадок взмучивается и какое то количество яиц всплывает и удаляется вместе с жидкостью, предложено верхний слой отсасывать спринцовкой.

Наконечник опускают в стаканчик, не доводя до дна на 1,5-2 см. (Т.Г.Никулин, 1953). Методика рекомендована для диагностики фасциолеза, парамфистоматозов, дикроцелиоза, эуритремоза и других гельминтов. Она трудоемка и по эффективности уступает другим методам седиментации.

Метод Бенедека и Немешери (L. Benedek, L. Nemeseri, 1953) - улучшенный способ Бенедека, предложенный им в 1943 г. Фекалии (5 г от крупного рогатого скота и 2 г от овцы смывают 100 мл воды в конусовидный стакан сквозь сито, имеющего ячейки 0,15 – 0,20 мм. После 2-3 кратного промывания и отстаивания жидкость сливают, оставляя лишь осадок 1-2 мл, к которому добавляют 15-18 мл воды и переливают в пробирку емкостью 22-25 мл. После 3-минутного отстаивания вновь сливают, оставляя 0,5 мл осадка, к которому добавляют 1-2 капли карбол-фуксина или метиленовой синьки, энергично встряхивают и доливают снова 15-18 мл воды. После 2-3 минутного отстаивания 0,1-0,2 мл осадка извлекают пипеткой, помещают на предметное стекло и исследуют. Неокрашенные яйца фасциол хорошо видны на фоне окрашенного осадка. Тарчинский (S. Tarczynski, 1954) использовав данную методику на практике пришел к выводу о ее высокой эффективности.

**Метод Дениса, Стоуна и Суансона (W.R.Dennis, W.M.Stone, L.E.Swan-
son, 1954)** основан на применении детергентов (моющих, эмульгирующих средств), которые быстрее воды проникают в частицы фекалий, образуя из них коллоидную взвесь, отделяя их этим от яиц фасциол. Из 25 испытанных детергентов для диагностических целей наиболее подходящими признаны два жидких препарата, выпускаемых американской химической фирмой под названием «свет» и «радость» (детергенты применялись в виде 0,5% раство-

ра). Фекалии (300-500 г) тщательно размешивают, добавляя небольшое количество воды и из этой массы берут пробу 1 г, которую смешивают в большой пробирке с 15 мл раствора детергента и тщательно перемешивают во встряхивающем аппарате. Затем взвесь пропускают сквозь сито на воронке в центрифужные пробирки, прополаскивают пробирки, из которых вылили взвесь (чтобы смыть с них яйца фасциол, прилипшие к стенкам). Несколько раз промывают сито, пока не наполняются центрифужные пробирки, в которых затем жидкость отстаивают 5 минут (но не больше) и потом отсасывают $\frac{3}{4}$ ее; еще раз промывают фекальный материал на сите воронки раствором детергента, сливая жидкость в эти же центрифужные пробирки; вновь отстаивают 5 минут, осторожно сифонируют всю жидкость из пробирок, не взмучивая осадка; добавляют 1-3 капли настойки йода, оставляют на 2-5 минут, после чего выливают в чашку Петри с последующим промыванием пробирки водопроводной водой (воды берут столько, чтобы общий объем жидкости в чашке Петри не превышал 15-20 мл). При избыточном окрашивании йодом в чашку Петри добавляют 1-5 капель 1%-ного едкого натра. Сосчитанное количество яиц в чашке Петри составляет число яиц в 1 г фекалий.

Метод Грегуара, Поупларда, Котеллера, Шина, Томаса и Деберта (C. Gregoire, L.Pouplard, C.Cotteler, P. Schyns, L.Thomas, A. Deberdt, 1956) или «метод трубки», основан на том, что крупные (0, 130 x 0,070 мм) и более тяжелые яйца фасциол быстрее проходят через столбик жидкости, чем частички фекалий и яйца других гельминтов, поэтому первыми достигают дна пробирки, где их можно собрать. Для исследования пробы по этому методу необходимо иметь стеклянную трубку (длина 2,1 м. внутренний диаметр 1 см), вертикально укрепленную на штативе, к нижнему концу которой резиновой трубкой в 3 см присоединен зажим и стеклянный кран с диаметром отверстия 3 мм вверху и 2 мм внизу. Внутренние стенки трубок должны быть

как можно более гладкими, так как яйца фасциол легкозацепляются за малейшую неровность. Закрыв кран, трубку до высоты 1,7 м наполняют водой с 1% моющего раствора «тринона»; взвесь 4 г фекалий в 36 мл воды, хорошо размешанную и процеженную через сито с отверстиями диаметром 0,35 мм, наливают в трубку поверх жидкости. Через 20 минут закрывают зажим и этим устраняют давление столба жидкости высотой 2 м. После этого открывают стеклянный кран и при сжатии резиновой трубы на предметное стекло выжимают капли жидкости. Берут четыре препарата с тремя каплями на каждом, накладывают предметное стекло и микроскопируют. После исследования каждой пробы трубку тщательно промывают водой. Нюмарк (M.Njimark, 1961) изучал эффективность описанного выше метода по сравнению с методом осаждения и пришел к выводу, что «метод трубы» более эффективен. Метод осаждения, по его данным, только при интенсивной и средней инвазии дает достоверные результаты.

Методика Болховитинова Д.З (1950). Применяется для исследования жвачных на trematodозы. В пробирки наливают по 6-8 мл насыщенного раствора хлорида натрия и наклонно ставят в штатив, для чего нижний конец каждой пробирки помещают в гнездо, не в противоположное верхнему отверстию, а в соседнее. Пробы фекалий массой 1-2 г тщательно размешивают в ступке с 10-15 мл воды комнатной температуры. Затем с помощью воронки, в которую положен кусочек с двойным слоем марли, процеживают содержимое из ступки в пробирку. При этом важно, чтобы взвесь стекала медленно по стенкам воронки и пробирки. В результате взвесь окажется в поверхностном слое раствора соли. Отстаивание длится от 30 мин до 1,5 ч. Тяжелые яйца trematод осадут на дно пробирки. Большинство твердых частиц фекалий за это время находится во взвешенном состоянии. Затем верхний слой сливают, а осадок выливают на предметное стекло и микроскопируют. Методика громоздка и трудоемка.

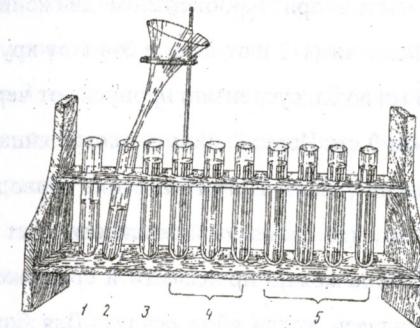


Рис.3. Схема последовательности исследования по методу Болховитинова:

- 1-пробирка, до половины наполненная раствором соли;
- 2-наслаждение воды, в которой содержится пробы фекалий;
- 3-та же пробирка после полного заряжения;
- 4-три пробы после 3-5-минутного центрифугирования;
- 5-пробы после 1,5-2-часового отстаивания

Метод Карбаллейра (D.Carballera et al., 1959) предложен для диагностики фасциолеза крупного рогатого скота. Фекалии (200 г) смешивают с половинным количеством воды и пропускают через металлическое сито (10 ячеек на сантиметр) в литровый стакан, добавляя затем воду до объема 1 л. Жидкость отстаивают 15 минут, отсасывают и удаляют 700 мл ее из верхнего слоя, оставшиеся 300 мл пропускают через газ с 20 ячейками на 1 мм^2 . Вторично разводят до 1 л и отстаивают 10 мин, отсасывают 800 мл верхнего слоя, повторяя процедуру еще два раза, с отстаиванием по 5 минут. В итоге осадок исследуют под микроскопом в чашке Петри или проецируют на экран через трихинеллоскоп. Авторы метода провели 300 исследований данным способом и установили, что эффективность его составляет 99,2%.

Метод Готтшелка (C.Gottschalk, 1960) основан на разделении различных по удельному весу частиц при турбулентном движении жидкости, в которых они находятся. Фекалии (1-2 г от овец и 3-4 г от крупного рогатого скота) смешивают с 10-15 мл воды, суспензию пропускают через мелкое сито в чашку Петри с диаметром 9 см. Через 2 минуты, когда яйца оседут на дно, кругообразными движениями чашки Петри на столе приводят жидкость во вращательное движение так, что волна этой жидкости идет по внутренней стенке чашки. Такое вращение можно произвести и сразу же после пропускания через сито, не дожидаясь, когда яйца оседут. Для большей чувствительности пробы, фильтрат вначале помещают в высокий цилиндр, а осадок после пропускания через сито смывают большим количеством воды (100 мл), через 3-5 минут яйца опускаются на дно сосуда, после чего жидкость сливают, остаток переливают в чашку Петри, куда выливают также 5 мл промывной жидкости после прополаскивания ю стенок сосуда. Затем кругообразными движениями приводят жидкость во вращение, причем циркуляционное течение ее происходит вокруг образовавшейся центральной воронки (вихревое движение). При этом частицы, взвешенные в жидкости, устремляются по спиральным линиям к центру чашки с угловой скоростью, увеличивающейся по мере вращения. Более мелкие остатки через 1-2 минуты вращения равномерно распределяются по всей поверхности. Описанный способ диагностики рекомендуют для парамфистом и яиц нематод.

Сedиментационный метод Ханбегяна (1960). Фекалии в количестве 2 г от мелкого и 4 г от крупного рогатого скота помещают в ступку, смачивают водой (высохшие фекалии предварительно размачивают в воде). Суспензию переносят на первое сито и промывают 130-150 мл воды над конусовидным бокалом. Через 3 минуты осевший в отстойнике осадок от фильтрата отделяют поворотом крана на $\frac{1}{4}$ оборота, а фильтрат сливают. Затем отстойник открывают, вливают в бокал 5-6 мл воды, осадок взбалтывают и сливают при

помощи воронки Флоринского над бактериологической пробиркой на второе сито. Чтобы собрать все яйца, бокал прополаскивают несколько раз водой, которую до наполнения пробирки сливают на осадок, находящийся на ситечке. Через 3 минуты жидкость из пробирки осторожно сливают, оставив на дне накопившийся осадок. К последнему добавляют одну-две капли 2%-ного водного раствора кристаллиолета. Для равномерного окрашивания осадка пробирку слабо встряхивают и оставляют на $\frac{1}{2}$ -1 минуту. Затем добавляют 0,5-1 мл воды и все содержимое сливают на предметное стекло тонким слоем, не доводя до края стекла на 1-2 см, стеклянной палочкой или горлышком самой пробирки.

Модификация метода последовательных промываний Сковронского Р.В.(1961), которая заключается в том, что промытый осадок центрифигируют раствором гипосульфита натрия с удельным весом 1,289. 20 г кала смешивают в стакане с 5-10 кратным количеством воды, процеживают через металлическое сито в другой стакан и отстаивают в течение 5 мин. Затем сливают надосадочную жидкость, к осадку прибавляют воду и снова отстаивают 5 мин. После повторного сливания оставшийся осадок вливают в центрифужную пробирку и центрифигируют в течение 0,5-1 мин. После этого с верхней пленки при помощи проволочной петли, диаметром 5 мм наносят на предметное стекло 3-5 капель и исследуют под микроскопом. Методика рекомендована для диагностики фасциолеза жвачных.

Методика Никольского Я.Д.(1961) разработана для диагностики мониезиоза овец. В стаканчик емкостью 100 мл наливают по 20 мл воды и кладут по 5-10 г фекалий. Стаканчики с содержимым дважды энергично встряхивают с интервалом в 5 мин при исследовании свежих фекалий и в 15-20 мин - полежавших. После второго встряхивания жидкость из стаканчиков сливают в пробирки и на 2 ч помещают в штатив для отстаивания. За это

время яйца мониезий оседают на дно пробирок. Жидкость из пробирок осторожно отсасывают до осадка резиновой грушей со вставленной в нее стеклянной трубкой длиной 15-20 см. Осадок взбалтывают, выливают на большое предметное стекло и микроскопируют. На стекле желательно сделать окантовку в виде бортиков, чтобы жидкость не растекалась.

Метод Ватанабе (S. Watanabe, 1962) рекомендован для копрологической диагностики фасциолеза овец и крупного рогатого скота. Необходимое оборудование: лабораторный стакан или мензурка; микропипетка; металлическое сите, сифон или спринцовка; предметные и покровные стекла. Фекалии (4 г), собранные из различных частей пробы, размешивают в 200 мл воды и взвесь фильтруют через металлическое сите (80-100 ячеек на сантиметр) в другой стакан с последующим промыванием сите 300 мл воды. Фильтрат отстаивают 10-15 минут, а надосадочную жидкость отсасывают сифоном или спринцовкой, оставляя 20-25 мл осадка. Стакан встряхивают для гомогенизации суспензии, наклоняют, чтобы освободилась половина дна; при этом по дну вдоль поверхности суспензии образуется беловато-серая линия из субстанции, которую набирают микропипеткой емкостью около 0,1 мл и переносят на предметное стекло. Осторожно накладывают покровное стекло, не выдавливая из-под него жидкости. Яйца фасциол при этом собираются главным образом по краям, а более тяжелые частички в центре.

Экспрессивная методика осаждения по Рээк (1962) рекомендуется для диагностики фасциолеза, парамфистоматозов, дикроцелиоза и стронгилиозов желудочно-кишечного тракта. Из 20 г фекалий от крупного рогатого скота или 10 г от овец помещают в ступку соответственно 4 и 2 г, добавляют 70 или 75 мл воды и тщательно перемешивают. Взвесь пропускают через сите в сосуд емкостью 200 мл. Пипеткой с резиновым баллоном засасывают из разных слоев 20 мл взвеси и переносят в пробирку, в которой

выдерживают 3 мин. Затем верхний слой жидкости удаляют пипеткой, а к осадку (0,3 мл) добавляют 1-2 капли 1%-ного водного раствора метиленового синего. Весь осадок выливают на большое предметное стекло (6 x 9 см) и микроскопируют.

Метод Ривера и Мартинеса (Rivera, Martines) (цит. по Н.В.Демидову, 1966) - видоизмененный и несколько улучшенный способ Суансона и Хоппера. Из разных мест пробы фекалий в 500 г берут пять образцов, общей массой 5 г, помещают в 250-миллилитровую колбу, добавляют 100 мл воды, пропускают через сите в литровый стакан, добавляют 1% раствора сульфата аммония при помешивании, отстаивают 10-15 минут, сифоном отсасывают жидкость, добавляют к осадку 1 мл стандартной настойки йода, перемешивают 1-2 минуты; осадок выливают в 15-миллилитровую центрифужную пробирку и центрифицируют 2 минуты при 2000 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливают, оставляя 1 мл осадка, который и исследуют. Некоторые исследователи (Kiamporgaro S., Biango A., 1955) считают, что метод обладает 100%-ной диагностической эффективностью.

Модификация Захрялова Я.Н., 1966 методики Ритче и др (L.S.Ritchie and L.A.Berrios-Duran, 1961). Под просветленный осадок фекалий, полученный при ручном или механическом промывании, подсыпают 29% раствор хлорида натрия. Осадок поднимается вверх и плавает на поверхности подслоенной жидкости. Через 5-30 мин после подсыпания плавающий осадок и верхний слой подслоенной жидкости сливают, а осадок на дне стакана, осевший за это время, микроскопируют на предметных стеклах.

Метод В.Фавати (V. Favati, 1966). Предложен в Италии для диагностики фасциолеза. Фавати, предлагая свою методику, исходил из того, что яйца фасциол вследствие большого удельного веса быстрее осаждаются, чем растительные остатки фекалий и яйца других гельминтов. Необходимое

оборудование: аппарат ван Сомерена, состоящий из стеклянной трубки длиной 2 м и диаметром 2 см. На нижний конец трубки надевают резиновый шланг с кранником и зажимом; латунные ситечки размером ячеек в 450 мкм, стаканы. Навеску фекалий тщательно перемешивают, помещают в латунное ситечко. Ситечко погружают в стакан с водой и покачивают. На дне стакана получается осадок, содержащий яйца и частицы непереваренного корма (последние величиной не более 400-500 мкм). Этот осадок еще раз пропускают через аналогичный фильтр из ситечка с тремя сетками из латуни с размером ячеек 450 мкм, установленных одна в другую. В результате этого фильтрат содержит очень мало засоряющего материала (крупные частицы задержаны фильтрами). Затем осадок помещают в стеклянную трубку, заполненную на 9/10 водой (трубка с помощью крепления установлена вертикально). Фильтрат, помещенный в трубку, опускается в виде мути сначала компактной массой, а затем фракционировано вследствие различного удельного веса частиц. Материал достигает конца трубки через 15-18 минут. Как только он достигнет дна, зажимом перекрывают резиновый шланг. Через 1-2 минуты после этого открывают кранник и берут несколько капель для исследования. Осадок не содержит крупных частиц корма, благодаря этому яйца фасциол хорошо выделяются. Метод весьма громоздкий.

Методика Красильникова А.А.(1970) с применением детергентов (моющих средств) типа «Лотос» и «Экстра», благодаря которым яйца гельминтов отделяются от частиц фекалий. Предложена для медицинской практики. Во флаконы емкостью 30 мл наливают 20-25 мл раствора детергента. В раствор кладут пробу фекалий величиной с лесной орех. Пробу выдерживают в растворе детергента не менее одних суток. На дне флакона образуется 2-3 слойный осадок; нижний слой состоит из грубых тяжелых частиц, в среднем яйца гельминтов, над ним оседают иногда легкие хлопья. Пипеткой забирают средний слой жидкости и переносят на предметное стекло для микроскопии.

Методика седиментации с целлофановыми пленками по Котельникову Г.А., Хренову В.М.(1972). Предварительно готовят пленки из гидрофильного целлофана толщиной 22 мк. Нарезанные прямоугольные кусочки пленки размером 3 x 2 см помещают в чашки Петри с 50% раствором молочной кислоты или глицерина. Эти растворы, впитываясь в целлофан, размягчают его. В 100 мл раствора молочной кислоты или глицерина обрабатывают до 500 целлофановых пленок. Полоски выдерживают в растворе 24 ч, после чего они готовы к употреблению. Для исследований берут пробу фекалий массой 2 г, помещают в стаканчик емкостью 50 мл с небольшим количеством воды и размешивают, постепенно добавляя воду. Затем смесь фильтруют в другой стаканчик, чтобы освободить пробу от крупных непереваренных кормовых частиц, мешающих выявлению яиц. После 5-минутного отстаивания, сливают надосадочную жидкость, а к осадку добавляют воду. Так промывают осадок второй раз. Воду сливают, а осадок помещают на предметные стекла и покрывают обработанными целлофановыми пленками, которые просветляют препараты и предохраняют от высыхания. Через 5-10 мин препарат готов для исследования. В просветленном препарате при микроскопии хорошо видны яйца гельминтов: фасциол, дикроцелиума, эуритремы, аскарид, паракариса, трихоцефалюса и других гельминтов.

Обычная методика последовательных промываний проб массой 5 г обладает невысокой (9,1%) диагностической эффективностью (Я.Н.Захрялов, 1966); Азимовым Д.А.(1968) предложено для исследования брать 10-20 г фекалий. Растворенные в воде фекалии смешивать с водой в соотношении 1:20. Полученную взвесь двукратно фильтровать через сито с отверстиями диаметром не более 0,210-0,190 мм. Взвесь отстаивать 5 мин, воду сливать, оставляя над осадком лишь небольшое ее количество. Осадок промывать 3-5 раз обычным сливом воды. Осадок микроскопировать на стеклах площадью 13 x 5 см.

Методика промывания проб фекалий через серию сит с последующей микроскопией осадка. Берут 6 сит с размером ячеек в мм: 1,0x1,0; 0,5x0,5; 0,21 x 0,21; 0,147 x 0,147; 0,125 x 0,147; 0,105 x 0,126. Затем 100-300 г фекалий размешивают в 4-5 л 5%-ного раствора хлорида натрия и через серию отмеченных сит фильтруют (солевой раствор задерживает выпулление мириацидииев). Оставшийся на ситах осадок промывают 1-2 чистого раствора. Отмытый последовательными сливами (с отстаиванием в течение 30-60 мин) осадок (25-50 мл) помещают в стакан и вновь отстаивают. Со дна стакана из различных мест пипеткой берут 10 проб осадка. Каждую пробу (около 9,5 мл) наносят вдоль предметного стекла широкой полосой и микроскопируют по схеме просмотра мазка крови. Эффективность метода 12,5% (Я.Н.Захрялов, 1966).

Методика Карбаллеира Д. (D. Carballeira et al.) рекомендуется для диагностики фасциолеза крупного рогатого скота. Берут 200 г фекалий, добавляют 100 г воды, размешивают и пропускают через металлическое сито в 1-литровый стакан. Жидкость отстаивают 15 мин, отсасывают и удаляют 700 мл из ее верхнего слоя. Оставшиеся 300 мл жидкости пропускают через газ (ткань) с 20 ячейками на 1мм². Вторично разводят до 1 л и отстаивают 10 мин, отсасывают 800 мл верхнего слоя. Процедуру повторяют еще 2 раза с отстаиванием по 5 мин. Осадок микроскопируют в чашке Петри или пропускают через проектор трихинеллоскопа.

Метод флотации и его модификации.

Метод основан на принципе флотации (от англ. flotation – всплывание) яиц гельминтов в поверхностный слой взвеси при обработке пробы растворами солей или других веществ, плотность которых выше чем плотность (удельный вес) яиц. В результате флотации поверхностный слой взвеси

обогащается яйцами гельминтов. Предложено большое число модификаций метода, отличающиеся прежде всего флотационными растворами. Предложены флотационные растворы хлорида кальция (C.Bass,1906,1909); хлористого кальция (Garrison,1910); раствор уксуснонатриевой соли (Wellman,1910) хлорида натрия и аммония (Э.Д.Гинзбург,1911); хлорида натрия (F.Fullerborn,1920); жидкое стекло (Schuchman, Kiefer, 1922); глицерин (Vajda,1922); сахар (Scheater,1923); уксуснокислый натрий (Tillmann,1910) азотнокислый натрий (Е.В.Калантарян, 1938); глауберова соль, гипосульфит, сернокислая магнезия (В.И.Бондарева, С.Н.Боев,1950); азотнокислого аммония (В.Д.Бубнов,1963); азотнокислый свинец (Г.А. Котельников, В.М. Хренов, 1974).

Обычно пробы фекалий обрабатывают в стаканчиках, колбах, мензурах, но чаще проводят центрифугирование в пробирках, ускоряющее флотацию яиц гельминтов.

Метод Басса первоначальный (C.Bass, 1906). В сосуд с частицей фекалий наливается насыщенный раствор поваренной соли и хорошо взбалтывается; после взбалтывания и отстаивания исследуют каплю с поверхности. Метод первоначально был предложен для исследования людей на анкилостомидозы.

Метод Басса усовершенствованный (C.Bass,1909). Пробу фекалий смешивают с десятикратным количеством воды и просеивают через сито, для удаления грубых частиц. Просеянная масса центрифугируется; верхний слой жидкости сливаются, а пробирка вновь доливается просеянной массой фекалий и вместе с прежним осадком центрифугируется и т.д. до использования желаемого количества фекалий. Затем весь осадок несколько раз промывается отмучиванием. После этого вместо воды подливается раствор хлористого кальция удельного веса 1,050; при этом поднимаются все посторонние частицы с более легким удельным весом, а осадок может быть

исследован. Если в осадке остается большая масса, то применяют еще раствор хлористого кальция высокого удельного веса- 1,250; тогда все яйца окажутся на поверхности, с которой исследуется капля жидкости. Автор рекомендует проделать еще следующую процедуру: поверхность жидкости (вместе с заключенными в ней яйцами) сливаются в другую пробирку, которая доливается водой с тем, чтобы удельный вес полученной жидкости был менее 1,050; центрифугированием все яйца осаждаются на дно, с которого исследуется осадок.

Методики предложенные Бассом (C.Bass,1906,1909); оказались громоздкими, однако предложенный им принцип флотации оказался чрезвычайно плодотворным в дальнейшей разработке методики. Существенное дополнение в методику внесли Кофоид и Барбер (Kofoid u. Barber,1918), которые предложили снимать всплывшие яйца гельминтов непосредственно с поверхности с помощью проволочной петли. Фюллеборн (Fullerborn,1920) внес ряд технических поправок в метод Кофоид-Барбера. Предложенный им метод является простым по выполнению и дает хорошие результаты, благодаря чему метод получил широкое распространение. Следует подчеркнуть, что в России метод флотации был предложен Э.Д.Гинзбургом (1911, 1913) ранее Фюллеборна (1920). В качестве флотирующего раствора Гинзбург использовал насыщенный раствор хлористого аммония (1911) и позже поваренной соли (1913). Этот же автор установил, что добавление раствора Люголя позволяет дифференцировать яйца гельминтов от крахмальных зерен, которые окрашиваются в синий цвет.

Метод Гаррисона (Garrison, 1910) является лишь небольшим видоизменением метода Басса: фекалии сперва промываются многократным отмыванием, после чего к осадку подливается раствор хлористого кальция с удельным весом 1,200, который и поднимает яйца на поверхность.

Уэллман (Wellman,1910) предложил применять в качестве флотационной среды раствор уксуснонатриевой соли; Барбер (Barber, 1917) – смесь из различных количеств глицерина и раствора сернокислой магнезии.

Метод Гинзбурга Э.Д.(1911). 5-6 небольших кусочков фекалий растирают с 15 мг формалина; к этой эмульсии прибавляют 75 мл насыщенного раствора хлористого аммония. Через 15-20 минут верхний слой смеси отсасывают пипеткой, осадок центрифугируют с водой, после чего его исследуют.

Метод Кофоид-Барбера (1918). Пропарфинированный бумажный стаканчик высотой 6 см, шириной 4 см и емкостью около 60-85 мл на треть заполняется фекалиями, доверху доливается насыщенным раствором хлористого натрия и тщательно размешивается. Чтобы воспрепятствовать всплыvанию грубых каловых частиц, в сосуд помещается диск из проволочной сетки; грубые частицы можно затем удалить с поверхности ложечкой. Через час всплывшие яйца снимаются с поверхности с помощью проволочной петли 12,7 мм в диаметре. Пленки с четырех-пяти петель стряхиваются на предметное стекло площадью 25 см². Исследуется без покровного стекла с помощью подвижного столика. Авторы испробовали метод на 100 000 исследований, причем получили на 40% большую эффективность по сравнению с центрифугированием водных смесей. Этот метод вносит впервые применение петли и исследование большого количества фекалий.

Метод Фюллеборна (Fullerborn, 1920). В обычном стакане разводят некоторое количество фекалий в 20-кратном объеме концентрированного раствора поваренной соли, который прибавляется небольшими порциями, при постоянном помешивании для достижения равномерной взвеси. С поверхности убирают всплывшие грубые частицы и дают отстояться 30-60

мин. Яйца, имеющие более низкий удельный вес, всплывают на поверхность. Для исследований берут пробу с поверхности прикосновением к ней плашмя проволочной петлей диаметром в 8-10 мм. Пленки с петли стряхивают на предметное стекло и исследуют без покровного стекла (рис.3)..

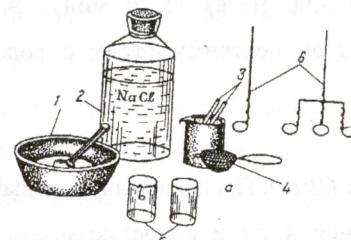


Рис.3. Необходимое оборудование для гельминтооскопии по методу Фюллеборна: 1-фарфоровая чашка с пестиком; 2-емкость с насыщенным раствором поваренной соли; 3-стаканчик для промывания стеклянных палочек; 4-металлическое ситечко; 5-химические стаканы; 6-проводочные петли.

Метод Вайда (Vajda, 1927) предложен для обнаружения яиц фасциол. Необходимое оборудование: центрифуга; центрифужные пробирки 10 см длины, 1,5 см в диаметре и с двумя делениями, отмечающими емкость по 3cm^3 ; стеклянные палочки 14 см длины, 4-5 см толщины, с шаровидным утолщением на одном конце (для помешивания); стеклянные палочки 20 см длины, 6 мм толщины, с обоих концов косо отточенные (для съемки капель); проволочное сито с 254 отверстиями на 1cm^2 , натянутая на 4 ножках (для просеивания фекалий, смешанных с водой); препаровальные иглы; раствор жидкого стекла с удельным весом 1,430 (200 г жидкого стекла на 350 мл горячей дистиллированной воды). Ход исследования: свежие фекалии поме-

щают в центрифужную пробирку и доливают воду до отметки в 3cm^3 и размешивают стеклянной палочкой с шаровидным наконечником. Затем прибавляют до метки 6cm^3 раствор жидкого стекла и снова тщательно размешивают. После этого пробирку центрифицируют в течение половины минуты. Сразу после этого косо отшлифованной палочкой снимают 5 капель с поверхности и помещают на предметное стекло. Капли исследуются немедленно, при слабом увеличении.

Методика Сцепехели А. и Урбани Л. (A. Szepescheli, L. Urbanyi, 1934). В качестве флотационного раствора применяется смесь йодистой ртути с йодистым натрием с плотностью 1,4-1,45, приготовленный из расчета: 10 г йодистой ртути, 7,4 г йодистого натрия и 26,5 мл воды. Исследования проводят обычным способом. Методика эффективна для диагностики фасциолеза жвачных.

Методика Бруггемана (V. Bruggeman, 1937). Основана на флотации методом центрифугирования. Флотационная жидкость включает: калия едкого 110 г, сахара 110 г, воды 100 мл. Пробы размешивают во флотационном растворе, разливают по пробиркам, центрифицируют и исследуют поверхностную пленку обычным способом. Рекомендован для диагностики фасциолеза.

Метод Е.В.Калантарян (1938) - это видоизмененный метод Фюллеборна. Вместо насыщенного раствора поваренной соли применяют раствор натрия нитрата с удельным весом 1,38. Для получения флотационной жидкости 1000 г натрия нитрата растворяют в 1 л кипящей воды. Метод применяют в основном для диагностики нематодозов, в частности аскаридатозов, трихоцефалезов и др., а также для диагностики цестодозов и некотор

рых трематодозов. Метод прост, дешев, эффективность выше метода Фюллеборна.

По принципу Фюллеборна можно применять для диагностики нематодозов раствор аммония нитрата с удельным весом 1,3 (Е.Г.Автушенко, 1969). По его данным большинство яиц аскарид и трихопефалиусов всплывают уже через 10-15 минут.

Методика флотации с раствором карбоната калия по З.В.Вольфу (1940). Предложена для диагностики дикроцелиоза и эуритремоза жвачных. Пробу фекалий массой 0,5 г размешивают в 10 мл 60%-ного раствора карбоната калия (поташ), фильтруют в другой стаканчик, через 15 мин снимают капли с поверхности взвеси и микроскопируют. Поташ несколько деформирует и обесцвечивает яйца.

Методика флотации – капсулоскопии по Бондаревой В.И., Боеву С.Н. (1950) Предложена для диагностики тизаниезиоза жвачных, яйца которых заключены в особую капсулу (в каждой из них по 3-8 яиц). В связи с тем, что удельный вес капсул равен 1,025-1,050, флотационные растворы применяют с плотностью не ниже 1,1. Наилучшей флотационной способностью из числа испытанных жидкостей, обладает раствор сульфата натрия (глауберова соль) с плотностью 1,1. Пробы размешивают в стаканчиках при добавлении флотационного раствора, взвесь выливают в центрифужные пробирки и центрифицируют 2 мин при 1500 об/мин.

Методика флотации с насыщенным раствором хлорида натрия. (Н.С. Шевченко, 1958). Способ эффективен для диагностики тизаниезиоза овец. Капсулы тизаниезий с заключенными в них яйцами флотируются быстро, через 10-15 мин их снимают петлей и микроскопируют. Целесообразно исследовать 5-6 капель. Наиболее объективные результаты получают в том случае, если взвесь в растворе хлорида натрия после фильтрации оставить на

5-6 ч, а затем перемешать и выдержать в течение 10 мин. При этом частицы грязи оседают на дно, а капсулы тизаниезий и яйца мониезий всплывают на поверхность. Выявляемость капсул тизаниезий методикой обычной флотации с насыщенным раствором хлорида натрия у жвачных разных видов неодинаковая. Капсулы легко выявляются в пробах, непосредственно взятых из прямой кишки овец и трудно от крупного рогатого скота.

Центрифужная методика по Болховитинову Д.З (1958) – для диагностики дикроцелиоза овец. Для этого пробу массой 1 г тщательно размешивают с 15 мл раствора тиосульфата натрия с плотностью 1,325-1,415 г в ступке. Взвесь фильтруют через марлю в пробирку и центрифицируют 3 мин при 1000-1200 об/мин. После этого поверхностную пленку снимают петлей, помещают на предметное стекло и микроскопируют. Высокие показатели центрифужная методика указанным флотационным раствором с плотностью 1,27 дает при диагностике метастронгилеза свиней. После размешивания пробы в растворе и фильтрации взвесь разливают в центрифужные пробирки емкостью 65 мл и центрифицируют.

Методику с применением тиосульфата натрия с плотностью 1,15-1,25 в обычном исполнении с успехом применяют для диагностики тизаниезиоза овец. Капсулы с яйцами возбудителя всплывают через 10-15 мин (Н.Х.Шевченко, 1958). Эта методика дает хорошие результаты и при диагностике эхинуроза водоплавающих птиц (Н.Г.Шахназарова, 1946).

Метод Тейшера (E.Teuscher et al, 1957, 1959) флотационный с применением сульфата цинка и сахара. Фекалии (2,5 г) смешивают с 37,5 мл воды, просеивают через сито и к взвеси добавляют 37,5 флотационной жидкости (сернокислого цинка 89 г, сахара 25 г и воды 100 мл), осторожно перемешивают палочкой отстаивают в течение 6-8 часов. Верхнюю пленку жидкости исследуют обычным путем.

Метод Ажинова С.А., Иванова Т.В.(1960). Для диагностики дикроцелиоза жвачных по методу Фюллеборна предложили в качестве флотационных жидкостей растворы калия йодида с удельным весом 1,67 и натрия йодида с удельным весом 1,52. Раствор калия йодида не деформирует яйца. Йодистые соли дороги, поэтому их растворы применяют редко.

Методика Бреза (Breza M.,1968). В Чехословакии для диагностики фасциолеза, дикроцелиоза и парамфистоматоза домашних жвачных разработана методика с флотационным раствором, состоящим из раствора тиосульфита натрия и карбоната калия. Плотность раствора 1,400- 1415. 1 г фекалий от овец и 5 г от крупного рогатого скота размешивают в воде и дважды промывают осадок обычным осаждением. После жидкость сливают до осадка. К осадку добавляют флотационный раствор натрия тиосульфита. Песчинки и другие тяжелые частицы остаются на дне, а яйца трематод всплывают. Поверхностную пленку снимают петлей, переносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом.

Методика флотации с растворами тиосульфата натрия, карбоната калия и других солей. Раствор тиосульфата натрия с плотностью 1,27 и 1,4 обладает высокой флотационной способностью. Для диагностики нематодозов травоядных и свиней методику применяют в обычном исполнении. Наилучшие результаты получают при соблюдении рекомендуемых параметров стандартизации по Котельникову Г.А., Хренову В.М. Время флотации 10-15 мин.

Стандартизированная методика флотации с раствором нитрата аммония по Котельникову Г.А., Хренову В.М.(1972) -для диагностики нематодозов домашних животных и птиц. Методика обладает высокой диагностической эффективностью и доступностью. Техника выполнения такая же,

что и предыдущего метода. Профильтрованную взвесь оставляют для флотации на 10 мин.

Флотационный метод диагностики дикроцелиоза, фасциолеза и парамфистоматозов раствором азотнокислого свинца (В.М. Хренов, 1976).

В качестве флотационной жидкости применили раствор азотнокислого свинца плотностью 1,5. Раствор готовили из расчета 650 г соли на 1 л воды. Смесь готовили в эмалированной посуде при нагревании. В серии экспериментов было установлено наилучшее время флотации, равное 15-20 минутам. Пробу фекалий брали в количестве 3 г и помещали в стаканчик с 50 мл флотирующего раствора. Для снятия поверхностной пленки с яйцами применяли проволочную петлю диаметром 8 мм. Для процеживания осадка использовалось сито с диаметром ячейки 0,250 мм. В сравнении с другими методами, применение для флотации раствора азотнокислого свинца наиболее диагностически эффективно при трематодозах жвачных.

Методика Бараделя (Baradel I.M.,1977). Метод флотации выполняют с 33%-ным раствором сульфата цинка (плотность 1,18), причем с целью повышения эффективности проводят центрифугирование. Для этого профильтрованную взвесь пробы разливают по пробиркам емкостью 10 мл, покрывают покровными стеклами так, чтобы они соприкасались с поверхностью взвеси и центрифугируют 7-10 мин при 2000-2500 об/мин. Покровные стекла снимают, кладут на предметные и микроскопируют. Методом выявляют яйца различных гельминтов и ооцисты простейших. Недостатком метода является слабое всплыивание яиц фасциол и других трематод и деформации ооцист простейших. Увеличение плотности раствора сульфата цинка не приводит к повышению диагностической эффективности метода. В сравнительных опытах по испытанию растворов сульфата магния с плотностью

1,29 и сульфата цинка с плотностью 1,44 оказалось, что флотационная способность второго раствора слабее первого в 2 и более раза..

Упрощенная методика Мак Мастера (Sv. Aa. Henriksen, K. Aagaard, 1976). В Дании применяют методику с применением флотационного раствора, состоящего из смеси хлорида натрия с глюкозой (из расчета 50 г глюкозы на 100 мл раствора). Методика пригодна для диагностики яиц трихостронгилид и аскарид. Для ее выполнения на каждую пробу берут два пластмассовых стакана, причем второй стакан имеет срезанное дно и три или четыре прямоугольных выреза снизу на боковой стенке, круглый кусок марли с диаметром, равным двойной высоте стакана плюс диаметр его основания. Пробу 3-5 г смешивают с 40-60 мл флотационного раствора в первом стакане и покрывают стакан марлей. Второй стакан помещают на марлю и вставляют его в первый. В результате происходит фильтрация содержимого. Через несколько минут 3-4 капли из звезды с помощью пробирки переносят на предметное стекло для микроскопии. Для этого пробирку погружают до дна, быстро вынимают и прикосновением к стеклу переносят каплю звезды. При необходимости количественного подсчета берут пробу массой 4 г на 56 мл флотационного раствора и после фильтрации каплю фильтрата переносят пастеровской пипеткой в счетную камеру.

Методика флотации с раствором йодмеркурата калия (Mc. Master, J.Euzéby, E. Carmona, I. Bodes et al). Она основана на использовании насыщенного раствора йодмеркурата калия (плотность 1,44) и камеры Мак Мастера. Применяется для диагностики нематодозов, цестодозов и trematodозов, в том числе фасциолеза. Ее выполняют двумя способами: обычным путем – профильтрованную звезды выдерживают в стаканчиках, снимают капли и микроскопируют и с применением центрифугирования звезды. Во Франции лучшим способом диагностики фасциолеза считается второй. Для этого профильтрованную звезды пробы в растворе йодмеркурата калия

разливают по пробиркам, покрывают их покровными стеклами, так, чтобы жидкость касалась стекла и центрифугируют в течение 3,5 мин при 1500 об/мин. После центрифугирования покровные стекла снимают, кладут на предметные и микроскопируют. Применяемый флотационный раствор деформирует яйца фасциол.

Пробирочная методика с раствором нитрата натрия (M. R. O' Grady and J.O.D. Scolombe, 1980). Пробу фекалий 4 г размешивают в 60 мл раствора нитрата натрия, фильтруют через чайное ситечко, звезды разливают по пробиркам емкостью 24 мл доверху, покрывают покровным стеклом и оставляют на 4-12 мин, затем стекла снимают, кладут на предметные и микроскопируют. Авторы отмечают хорошую выявляемость яиц анкилостомы и токсокары собак, нематодиуса овец, параскаридоза лошадей при плотности раствора 1,22-1,38; яиц тений собак –1,27-1,38, гемонхусов овец 1,22-1,32, стронгилият лошадей- при плотности раствора нитрата натрия 1,22-1,35.

Стандартизированная методика флотации с раствором нитрата свинца (азотнокислого свинца) по Котельникову Г.А., Хренову В.М. (1984) имеет две модификации- обычная флотация и флотация с центрифугированием..

Обычная флотация.

Пробу фекалий 3 г кладут в стаканчик, заливают небольшим количеством свежеприготовленного раствора нитрата свинца и тщательно размешивают палочкой. При помешивании добавляют раствор порциями до объема 50 мл. Всплывшие на поверхность крупные частицы быстро удаляют палочкой или кусочком бумаги. Затем звезды фильтруют через чистое ситечко в другой стаканчик. Можно в первый стаканчик налить немного раствора и, ополоснув его, пропустить раствор через фильтр во второй стаканчик. В результате число выявленных яиц повышается. Профильтрованную звезды при

исследовании на фасциолез, дикроцелиоз и парамфистоматозы оставляют стоять 15-20 мин. Затем металлической петлей прикасаются к поверхности взвеси, снимают 3 - 4 капли с разных мест и переносят на предметное стекло для микроскопии. Металлическую петлю перед исследованием каждой пробы фламбируют или последовательно промывают водой в двух банках (воду в банках меняют после исследования 50 проб). Чтобы не допустить быстрого высыхания и кристаллизации капель на предметном стекле, к каждой капле, снятой с поверхности взвеси, добавляют каплю глицерина, разведенного водой 1:1. При навыке можно микроскопировать поверхность всей площади взвеси в стаканчике с помощью МБС.

Флотация с центрифугированием.

Пробу 3 г размешивают в стаканчике с раствором соли таким же способом, что и в первом варианте. Взвесь фильтруют через фильтр с ячейками 0,5 x 0,5 мм в центрифужную пробирку емкостью 50 мл и центрифугируют 1-2 мин при 1000 – 1500 об/мин. Затем пробирку покрывают обезжиренным предметным стеклом так, чтобы поверхность его коснулась взвеси. Если уровень жидкости ниже края пробирки, то предварительно пипеткой доливают флотационный раствор под поверхностный слой, чтобы получился выпуклый мениск. Через 5 мин стекло снимают, поворачивают соприкасающейся стороной кверху, и микроскопируют.

Применение флотационного раствора с плотностью 1,5 дает возможность диагностировать широкий круг возбудителей гельминтозов. С его помощью легко выявляются тяжелые яйца фасциол (удельный вес 1,31-1,35), дикроцелиума (удельный вес 1,3), парамфистоматоз и еще быстрее яйца с меньшим удельным весом: аскаридат, стронгилят (включая метастронгилиуса), трихоцефалят, стронгилоидеса, аноплоцефалят (мониезий), тениат, скребней (макрокантонихус), а также капсулы тизаниезий.

Метод комбинированный (флотационно-седиментационный) и его модификации

Метод основан на комбинации совершенно противоположных приемов обработки проб фекалий, т.е. седиментации и флотации. Поэтому его называют седиментационно-флотационным. Впервые метод был предложен американским гельминтологом Самюэлем Дарлингом (S.Darling,1911). В последующем на его основе разработаны различные методики или модификации.

Центрифужный метод Дарлинга (1911) основан на флотации раствором хлорида натрия и глицерина. Содержимое пробирки с флотационным раствором и взвеси фекалий взбалтывают и центрифугируют. Маленьким кусочком ваты снимаются всплывшие на поверхность яйца. Ватка помещается под покровное стекло и немедленно исследуется. В случае невозможности немедленного исследования автор рекомендует налить в пробирку небольшое количество теплого агара (не вынимая из пробирки вату). Застывший агаровый кружочек, заключающий на нижней поверхности все яйца, вынимают за конец ватного клубочка и, поместив нижней поверхностью вверх, накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Метод Дарлинга был модифицирован тем, что всплывшие яйца снимают металлической петлей и микроскопируют. Метод применяется для диагностики аскаридоза и других нематодозов. Горкина С.Н.(1929) предложила метод диагностики при сочетании метода Телемана с флотационным по Дарлингу и Кофиоид-Барберу, и получила метод высокой эффективности, но из-за сложности он может быть рекомендован только для индивидуальных случаев.

Метод Уллиса (Willis,1918) был основан на всплывании яиц и их прилипания к стеклу, так что не требуется применение центрифугирования. Техника проведения исследования:

1. В чашу 3,3 см ширины и 0,8 см высоты помещают фекалии в количестве 1/6 ее объема.
2. Постепенно добавляют при постоянном помешивании концентрированный раствор хлористого натрия до самых краев.
3. Через несколько минут кладут на чашку стеклышко так, чтобы оно соприкасалось с поверхностью жидкости, и оставляют в покое на несколько минут.
4. Поднимают осторожно стеклышко и исследуют для обнаружения прилипших к нему яиц, а на его место кладут другое, так как из каждой пробы исследуется два стекла.

Метод Гейтса (Gates, 1921). Значительная проба фекалий просеивается сквозь сито, полученная взвесь центрифугируется, чтобы отмыть наиболее легкие частицы, надосадочная жидкость сливаются и в пробирку наливается насыщенный раствор поваренной соли или (лучше) хлористого кальция. Из верхнего слоя пипеткой отсасывается 1-2 мл, преимущественно с краев мениска; опять центрифугируется с водой, после чего яйца осаждаются на дно. Надосадочная жидкость сливается. Осадок энергично взбалтывается и сливаются в чашку. Пробирка еще раз энергично сполоскивается водой и выливается в ту же чашку. Сразу же не давая яйцам осесть, образуют круговое движение взвеси в чашке, благодаря которым яйца собираются на небольшом пространстве в центре чашки. Исследования проводятся при малом увеличении непосредственно в чашке. Для просмотра при большом увеличении осадок из центра чашки собирают пипеткой, которую держат вертикально. Пипетку в вертикальном положении выдерживают несколько минут. Яйца оседают на дне пипетки, у выходного отверстия. На предметное стекло пипеткой наносят одну, две капли и микроскопируют. Для получения большого числа яиц, каплю на предметном стекле выдерживают несколько минут, добавляют новую и т.д. Лишнее количество воды отсасывается фильтровальной бумагой.

Метод Шитера (Sheater, 1923). Фекалии смешиваются с водой и проезжаются сквозь сито с отверстием в 1мм. Фильтрат смешивается с равной частью 54,76% раствора сахара (450 гр. Сахара на 420 мл воды) и центрифугируется в течение 2-х минут при 2000-2500 оборотах. Яйца с поверхности снимаются с помощью круглого стекла, прикрепленного под прямым углом к деревянной ручке пластилином.

Рушковский (J.Ruszkowsky, 1925) испытал этот метод для изоляции яиц с целью эксперимента, при этом автор установил, что на дальнейшее развитие яиц применение метода не повлияло.

Леонард Э.А.(1933) с успехом применил реактив Швейцера для растворения клетчатки с последующей обработкой фекалий по Телеману. В полученный осадок добавлялась смесь раствора хлорида натрия с сахаром; после центрифugирования исследовалась поверхностная пленка.

В связи с тем, что тяжелые яйца trematod (фасциол, дикроцелий и др.) плохо всплывают в поверхностную пленку, были предложены различные модификации седиментационно-флотационного метода (Нангебян, 1961; Демидов Н.В., 1963).

На основе метода Дарлинга разработан ряд методов исследований и их модификаций

Модификация по Щербовичу И.А.(1936, 1949,1952). Пробу фекалий величиной с грецкий орех кладут в стакан, добавляют 40-60 мл воды (соотношение фекалий и воды 1:15), тщательно размешивают до получения равномерной взвеси. При постоянном помешивании взвесь процеживают через металлическое сито или марлю в чистый стакан. Из последнего после 1-2 минутного отстаивания верхний слой жидкости сливают. На дне оставляют такое количество взвеси, которое бы вместилось в центрифужную пробирку. Пробирки, наполненные до одинакового уровня центрифугируют 1-2 мин,

после чего всю надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют флотационный раствор нужной плотности. Осадок взбалтывают до получения взвеси и опять центрифугируют 1-2 мин. После этого петлей снимают пленку с жидкости, переносят на предметное стекло и микроскопируют. Методику выполняют с использованием раствора сульфата магния для диагностики метастронгилеза свиней. При этом выявляются возбудители и других нематодозов, в частности трихоцефалеза, аскаридозов, стронгилятозов пищеварительного тракта и т.д. С раствором тиосульфата натрия и нитрата натрия ее рекомендуют для диагностики макракантонхоза свиней и нематодозов разных животных. С любым из указанных растворов, методику можно применять для диагностики тениидозов собак (А.Ф.Носик) и для диагностики спируратозов (тетрамероза, стрептокароза, эхиуриоза) и полиморфоза уток (Ю.Ф.Петров, 1972).

Модификация по Вольфу З.В.(1940) предложена для диагностики дикроцилиоза и эуритремоза жвачных. Флотационной жидкостью служит 60%-ный раствор углекислого калия (поташа). Раствор готовят растворением поташа в кипящей воде. Применяют его при температуре 22-24°С. Берут 0,5 г фекалий, размешивают в 20-кратном объеме воды, взвесь фильтруют через металлическое ситечко и центрифугируют 2 мин. Воду сливают, к осадку добавляют раствор поташа, размешивают палочкой, снова центрифугируют 2 мин. Пробирки ставят в штатив. Берут петлей поверхностную пленку и встрихивают на предметное стекло, покрывают покровным и микроскопируют.

Модификация по Сковронскому Р.В.(1962) рекомендована для диагностики фасциолеза. Пробу фекалий в количестве 20 г смешивают в стакане с 5-10-кратным количеством воды, фильтруют через металлические сите в другой стакан и отстаивают 5 мин. Затем воду сливают, а к осадку еще раз прибавляют воду и снова отстаивают 5 мин. После повторного слива осадок вливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 0,5-1 мин. Верхний

слой жидкости сливают, добавляют в раствор тиосульфата натрия с плотностью 1,28 (раствор готовят из расчета: одна часть тиосульфата на одну часть воды). Вместо указанного раствора можно применять растворы нитрата натрия или сернокислой магнезии. Центрифугируют 0,5-1 мин. Металлической петлей с кольцом в диаметре 0,5 см снимают с поверхности 3-5 капель и на предметном стекле микроскопируют. Яйца фасциолы при этом деформируются.

Флотационно-седиментационная методика Н.В. Демидова Н.В.(1963) рекомендуется для диагноза фасциолеза. Для исследования необходимы: насыщенный раствор хлорида натрия с удельным весом 1,2, стеклянные палочки, совочек, столовые стаканы (объемом 200-250 мл), конические стаканы на 30-40 мл с внутренним диаметром дна 1,5-2 см, сито, вода, спринцовка. Пробу фекалий от овец (3 г) и от крупного рогатого скота (5 г) помешают в большой стакан, наливают доверху насыщенный раствор хлорида натрия и тщательно размешивают стеклянной палочкой до получения равномерной взвеси; отстаивают 15-20 минут, затем чайной ложкой удаляют всплывшие на поверхность грубые частицы; жидкость отсасывают спринцовкой, оставляя 20-30 мл ее над осадком; к осадку доливают воду до полного объема стакана и тщательно размешивают палочкой; взвесь фильтруют в большие стаканы, фильтрат отстаивают в течение 5 мин; жидкость из стаканов отсасывают, оставляя на дне 15-20 мл осадка; осадок переливают в конические стаканчики, при этом прополаскивают водой большие стаканы и опять выливают смыв в маленькие; взвесь отстаивают в конических стаканчиках 3-5 мин, а жидкость отсасывают. Эту процедуру повторяют неоднократно. Затем осадок переносят на предметное стекло и исследуют. Данный метод был проверен автором на стандартных пробах фекалий с заранее внесенными в них яйцами фасциол. По сравнению с методом последовательных промываний, количество зарегистрированных яиц по данному методу было в 3,5 раза больше.

Модификация по Вишняускас А.(1965) рекомендована для диагностики фасциолеза, стронгилиозов пищеварительного тракта, трихоцефалеза и цестодозов жвачных. Оборудование: ступка с пестиком, стеклянные мензурки емкостью 100 мл, нержавеющие металлические сита, с ячейками 0,5 x 0,3 мм, центрифужные пробирки емкостью 10-12 мл, центрифуга ЦЛК-1, покровные стекла 20 x 20 мм, предметные стекла длиной 6-9 см с паралельными линиями, промежутки между которыми 1 мм, раствор сульфата цинка, приготовленный из расчета 450 г на 1 литр воды. Края центрифужных пробирок должны быть ровными, для чего их шлифуют на бруске. 1 г. фекалий овец или 3 г фекалий крупного рогатого скота тщательно размешивают с 40-50 мл воды в ступке, фильтруют через сито в стеклянную посуду (мензурку) емкостью 100 мл. Ступку несколько раз прополаскивают водой (50-60 мл). и ею же промывают фекальные массы на сите. Всего используют 100 мл воды. Полученный фильтрат (100 мл) отстаивают 5 мин. Затем верхний слой жидкости отсасывают или осторожно сливают, оставляя на дне 20 мл жидкости с осадком. К остатку добавляют 80 мл воды и вновь отстаивают 5 мин. Надосадочную жидкость отсасывают или сливают, оставляя на дне 10 мл, переливают ее в центрифужную пробирку и центрифицируют 1 мин при 1500 об/мин. Верхний слой жидкости отсасывают или сливают, оставляя осадок. К нему добавляют раствор сернокислого цинка до образования мениска жидкости выше краев центрифужной пробирки. Центрифужную пробирку покрывают покровным стеклом так, чтобы поверхность жидкости соприкасалась с ним. Центрифицируют 0,5 мин на том же режиме. Яйца всплывают и прилипают к покровному стеклу. Его помещают на предметное стекло и исследуют под микроскопом. Яйца фасциолы деформируются. Эффективность выявления фасциол у овец этим методом достигает 100%, у крупного рогатого скота – 88,1% (М.Бабянскас, А.Вишняускас, А. Бурнаускас, З. Свабодас, 1967).

Модификация по Тейшер (E.Teuscher,1965). Методику применяют для выявления яиц трематод, цестод и нематод. Пробу 5 г от крупного рогатого скота и 2 г от овец заливают водой (200 мл) и тщательно размешивают. Смесь фильтруют через натянутую сетку с ячейками 0,6 мм. Затем фильтр промывают 50 мл воды. Получается фильтрат 250 мл. Его отстаивают в стеклянном цилиндре. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок переносят в конический стаканчик. Цилиндр промывают 2-3 мл воды и добавляют ее к осадку. На коническом стаканчике делают отметку на уровне 2 мл. После 5-минутного отстаивания в этом стаканчике жидкость осторожно, не взмучивая осадку, удаляют шприцем с соответствующей насадкой до уровня 2 мл, а к осадку добавляют раствор сульфата цинка (сульфат цинка кристаллический 99,5%-ный, содержащий хлоридов гн более 0,02% и железа не более чем 0,005%) из расчета 70 г на 100 мл воды. Раствор готовят в широких сосудах, вначале кладут сульфат цинка, а затем заливают воду. Для быстрого растворения помещают в водяную баню при 60-80⁰С. Раствор выливают в пробирку емкостью 16 мл, куда добавляют 1-2 мл содержимого из конического стаканчика. Затем пробирку наполняют флотационным раствором с помощью пипетки до 1-2 мл от края ее и немедленно центрифицируют в течение 5 мин при 1000 об/мин. Если это быстро не сделать, все яйца гельминтов под действием растительных частиц оседут. Поэтому каждый раз центрифицируют одну пробирку. После центрифугирования пробирку осторожно наполняют тем же раствором до краев и на поверхность раствора помещают чистое покровное стекло. Затем его быстрым движением кверху снимают, кладут на предметное и микроскопируют. На исследование одной пробы затрачивают 35 мин.

Модификации по Брэза (M. Breza,1965,1968) – разработано несколько модификаций. Первая предложена для диагностирования всех гельминтозов свиней. В качестве флотационной жидкости готовится комбинированный

раствор, состоящий из трех частей насыщенного раствора сульфата магния, трех частей насыщенного раствора тиосульфата натрия и одной части воды. Пробу фекалий предварительно размешивают в 0,5%-ном растворе суспензии бентонита и центрифугируют, полученный осадок промывают водой, а затем центрифугируют с флотационным раствором. Вторая предусматривает одновременное выявление в фекалиях яиц фасциолы, парамфистоматат и дикроцелиума. Заключается в отделении яиц trematod от растительных остатков и неорганических примесей. Берут 1 г фекалий от овец и 5 г – от крупного рогатого скота и размешивают в воде. Осадок дважды промывают обычным осаждением. После отстаивания удаляют всплывшие остатки растительных кормов, а жидкость сливают. К осадку добавляют флотационный раствор тиосульфата натрия с плотностью 1,400-1,415. В результате песчинки и другие тяжелые частицы остаются на дне, а яйца trematod всплывают. Поверхностную пленку снимают петлей и микроскопируют на предметном стекле. Третья модификация заключается в гомогенизации пробы фекалий с 10-15 мл воды, фильтрации через сито в центрифужную пробирку и последующим центрифугированием в течение 1 мин при 1500-2000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают. К осадку добавляют флотационный раствор тиосульфата натрия с плотностью 1,400-1,415 и вновь центрифугируют. Взвесь, содержащую яйца гельминтов, сливают в стакан емкостью 150 мл, содержащий 2/3 воды, 5 мин отстаивают. Надосадочный слой удаляют, осадок микроскопируют. Эффективность при фасциолезе высокая (M.Breza, J.Cobra, 1976).

Стандартизированная методика по Котельникову Г.А., Хренову В.М. (1974). Выполняется по двум модификациям:

Модификация с раствором нитрата свинца (плотность 1,5).

Пробы фекалий по 3 г тщательно размешивают в стаканчиках емкостью 50 мл, добавляя в них порциями воду. Смесь фильтруют через фильтр с ячейками 0,5 x 0,5 мм в центрифужные пробирки объемом 50 мл и центри-

фугируют 1-2 мин при 1000-1500 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют 50 мл свежеприготовленного раствора нитрата свинца и снова центрифугируют в том же режиме. Затем пробирки покрывают обезжиренными предметными стеклами так, чтобы поверхность их прикоснулась взвеси. Если уровень жидкости окажется ниже края пробирки, то предварительно пипеткой доливают раствор под поверхностный слой, чтобы получился выпуклый мениск. Через 5 мин стекло снимают, повернув соприкасающейся стороной вверху, и микроскопируют. Методику применяют для диагностики фасциолеза, парамфистоматозов и дикроцелиоза. Вместе с тем выявляются яйца стронгилят, аскаридат, мониезий и других гельминтов.

Модификация с раствором нитрата аммония (плотность 1,3).

Пробы обрабатывают так же, как и в первом варианте. Водную взвесь фильтруют через сетку с ячейками 0,5 x 0,5 мм в другой стаканчик и отстаивают 5 мин. Верхний слой сливают, оставляя осадок с надосадочной жидкостью в таком количестве, чтобы он поместился в обычную центрифужную пробирку. Осадок взбалтывают, переливают в центрифужную пробирку и центрифугируют 1-2 мин при 1000-1500 об/мин. Воду до осадка сливают, а к осадку добавляют раствор нитрата аммония, взбалтывают и центрифугируют при том же режиме. Затем с поверхности взвеси петлей снимают 3 капли, помещают на предметное стекло и микроскопируют. Применяют для диагностики метастронгилеза свиней, аскаридатозов, трихоцефалеза, стронгиля-тозов пищеварительного тракта, стронгилоидоза разных животных.

Методика для диагностики описторхоза плотоядных по Котельникову Г.А., Вареничеву А.А. Яйца описторхиса очень мелкие и тяжелые (удельный вес 1,38-1,46). В связи с этим обычные флотационные растворы непригодны. Предлагаемую методику выполняют по обычному принципу. В

качестве флотационных растворов предложены раствор хлорида цинка с плотностью 1,82 или раствор нитрата кадмия с плотностью 1,73 (раствор готовят из расчета 250 г соли на 100 мл теплой воды), или йодида калия с плотностью 1,71. Суть исследования заключается: в двойном обычном отстаивании и промывании водой осадка в стаканчике; центрифугировании водной взвеси и осаждении яиц; центрифугировании взвеси во флотационном растворе.

Пробу фекалий массой 3 г кладут в стаканчик формы усеченного конуса с градацией 30 мл (полный объем – 50 мл). Для растворения жира и лучшего отделения яиц описторхиса от массы фекалий вливают 5-7 мл денатурированного спирта и палочкой тщательно растирают пробу. Затем при постоянном помешивании малыми порциями добавляют воду до полного объема стаканчика. Вместо спирта можно применять кальцинированную соду из расчета 1-1,5 г на пробу фекалий. Пробу вначале растирают с содой, а затем порциями добавляют воду и продолжают растирать до получения взвеси. Взвесь фильтруют через сетку металлическую или из капроновой (чулочной) ткани в чистый стаканчик. Суспензию отстаивают 5 мин, затем верхний слой ее сливают, оставляют над осадком небольшое количество воды и вновь добавляют воду до 50 мл и еще раз отстаивают 5 мин. После этого надосадочную жидкость сливают, оставляют осадок с таким количеством воды, чтобы он поместился в центрифужную пробирку. Наполненные до одинакового уровня пробирки 1,5-2 мин центрифицируют со скоростью около 1000 об/мин. Затем жидкость сливают, к осадку добавляют один из предлагаемых флотационных растворов. Осадок взбалтывают в растворе и вновь центрифицируют в том же режиме. После этого металлической петлей диаметром 6 мм снимают с поверхности взвеси не менее трех капель, переносят на предметное стекло и микроскопируют. Перед микроскопией к каждому препарату добавляют одну каплю глицерина, разбавленного 1:1 водой, и покрывают покровным стеклом. Методика обладает 100%-ной

эффективностью. Для исследования одной пробы требуется в среднем 15 мин.

Комбинированная модификация Кац Л.С.(1981) предложена для диагностики фасциолеза на основе флотационной методики Г.А.Котельникова, В.М.Хренова. Полученную водную взвесь фекалий осаждают и осадок промывают 4 раза. Затем его переливают в 50-миллилитровую колбочку с узким горлышком. Стакан ополаскивают и воду выливают в эту же колбочку. Взвесь отстаивают, надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют раствор нитрата свинца с плотностью 1,5. Через 8-10 мин с поверхности петлей снимают капли в 4-5 местах, помещают на предметное стекло и микроскопируют.

Комбинированный метод И.Ф.Леткова, Т.И.Класко, 1986. Рекомендован для диагностики фасциолеза. Суть этого метода в двойном обычном отстаивании и промывании водой осадка в стаканчиках; центрифугировании водной взвеси в центрифужных пробирках; центрифугировании взвеси во флотационном растворе. В качестве флотационной жидкости использован насыщенный раствор сульфата цинка (450 г на 1 л воды), удельным весом 1,38. Метод является аналогом метода Вишняускаса (1965). Сравнительная диагностическая эффективность предложенного метода и метода последовательных промываний составляет по данным авторов 35,9% и 13,3% соответственно.

Применение растворителей для обработки фекалий

Телеманом (Telemann, 1908) был введен в практику гельминтоовоскопических исследований новый принцип, заключающийся в применении веществ для растворения частей фекальных масс. Телеманом было предло-

жено применение соляной кислоты и эфира. В дальнейшем в эту методику рядом авторов были внесены различные изменения.

Метод Телемана (Telemann, 1908). С пяти различных мест фекального материала берут частицы, величиной с горошину и переносятся в пробирку со смесью эфира и соляной кислоты (1:1). В этой смеси фекальная масса при взбалтывании быстро растворяется, с образованием газов; эфир растворяет нейтральные жиры и свободные жирные кислоты, а соляная кислота растворяет белковые остатки, муцин, фосфаты и прочие минеральные соли. Полученная смесь просеивается через сито и центрифицируется около минуты. В пробирках получается три ясных слоя: в верхнем слое – эфир с растворенными в нем жирами; в среднем – кислота со взвешенными и растворенными веществами; нижний слой состоит из мелких нерастворимых частиц пищевых остатков и яиц гельминтов. Пипеткой берется небольшое количество осадка из нижнего слоя и наносится на предметное стекло, накрывается покровным и микроскопируется.

Модификации метода Телемана коснулись, главным образом, введения других растворителей. В опытах Петрова А.М., Потемкиной В.А. (1954) метод при диагностике фасциолеза дает до 90% диагностической эффективности. Однако из-за сложности, дороговизны и некоторой опасности данная методика не получила широкого распространения.

Мииагава (Miyagawa, 1913) во избежание разрушения и деформации яиц предложил вместо концентрированной соляной кислоты применять разведенную в 2-3 раза.

Метод Шредер-Иергенсен (Schraeder-Jergensen, 1914) предложен для регистрации яиц власоглавов. К порции фекалий, величиной с грецкий орех добавляется половина чайной ложки бикарбоната калия и размешивается. Затем добавляется 20 мл соляной кислоты и 5 мл эфира. Смесь процежи-

вается. Процеженная масса взбалтывается и центрифицируется в течение 5 минут. Осадок микроскопируется.

Метод Иаоита (Yaoita, 1918). Порция фекалий, величиной с грецкий орех, взбалтывается в смеси эфира с 25% раствором антиформина в равных долях, до получения равномерной смеси, которая процеживается и центрифицируется. Осадок микроскопируется.

Тильман (Tillmann, 1921) видоизменил модификацию Мииагавы, предложив двухкратную обработку (взбалтывание и центрифугирование) пробы, добившись таким образом более чистого поля зрения.

Метод Брумпта (Brumpt, 1923) является модификацией метода Иаоита, состоящей из применения чистого антиформина с целью получения более чистого осадка, свободного от непереварившихся частиц. Фекалии помещаются в сосуд с чистым антиформином, тщательно смешиваются, разбавляются 20-30-кратным количеством воды и пропускается через мелкое сито. Осадок собирается центрифугированием или осаждением и помещается в сосуды с плоским дном в 1% раствор формалина.

Метод Де Риваса (De-Rivas, 1928). Проба фекалий в пробирке взбалтывается с 5% раствором уксусной кислоты. Эмульсия процеживается и центрифицируется с эфиром. Смесь делится на четыре слоя: верхний содержит эфир и экстрагированные им вещества, второй – детритные массы, третий – уксусную кислоту и растворенные в ней вещества и четвертый – нижний – яйца гельминтов.

Метод Горкиной С.Н. (1928). Пробу фекалий из разных мест общей массой около 5 г. помещают в фарфоровую чашечку. Постепенно прибавляется вода в количестве 6-10 мл. Масса размешивается стеклянной палочкой до

полужидкой консистенции, выливается в обыкновенную пробирку через металлическое сите с воронкой; сюда же приливаются 1 мл концентрированной соляной кислоты и 1-2 мл эфира. Пробирка закрывается корковой пробкой и оставляется на 10-15 минут; пробирка периодически встряхивается. К осадку прибавляется 8-10 мл насыщенного раствора хлористого натрия с глицерином поровну (раствор можно приготовить заранее). Тщательно размешивают стеклянной палочкой, снова центрифигируют, осадок микроскопируют.

Методика Фауста (J.Faust, 1939). Пробу массой 1-2 г. помещают в пробирку, размешивают с 10 мл 5%-ного раствора уксусной кислоты, энергично встряхивают и фильтруют через двойной марлевый фильтр. Затем к взвеси добавляют равное по объему количество эфира. Смесь перемещают в колбу или широкую пробирку, еще раз встряхивают, переливают в центрифужные пробирки и центрифигируют 2-3 мин при 1500 об/мин. В результате образуются 4 слоя. Верхние 3 слоя сливают, а четвертый с яйцами выливают на стекло и микроскопируют.

Модификация Крючкова В.С.(1975) является модификацией методики Захрялова Я.Н.(1962) для выявления яиц шистозом у людей, которую можно использовать и для исследования трематодозов у животных. Для этого пробу смешивают с 2%-ным раствором гидрокарбоната натрия, взятым в том же объеме, тщательно перемешивают смесь, затем фильтруют через металлическое сите. Смесь помещают в центрифужную пробирку, добавляют равный объем эфира, центрифигируют 5 мин при 1500-2000 об./мин., отделяют всплывшие частички, сливают надосадочную жидкость, а осадок центрифигируют 2-3 минуты при 2000-3000 об/мин. И платиновой петлей, изогнутой под прямым углом, снимают с поверхности весь верхний слой, распределяя на 1-2-х предметных стеклах и микроскопируют.

Методика Березанцева Ю.А., Межсаакиса Ф.(1979). Применяется для диагностики описторхоза, клонорхоза и других трематодозов человека. Суть методики сводится к осаждению тяжелых яиц в солевом растворе, который препятствует выпадению в осадок частиц фекалий. Для исследования проб фекалий применяют делительные воронки объемом 50 мл по 6 шт. на лабораторном штативе. Из них удобно выпускать снизу осадок с яйцами гельминтов. В каждую наливают по 40 мл раствора нитрата натрия с плотностью 1,3. Пробу фекалий массой 1 г кладут в отдельный стаканчик, растирают палочкой с 5-7 мл 2%-ной уксусной кислоты и осторожно фильтруют через воронку с одним слоем марли, наславая сверху на солевой раствор в делительной воронке. Взвесь оставляют на 6-7 ч. При взаимодействии уксусной кислоты с нитратом натрия происходит медленное выделение кислорода и двуокиси азота, в результате образуются мельчайшие пузырьки газа, поднимающиеся к поверхности. Они задерживаются во взвеси частиц фекалий, уменьшая их удельный вес и препятствуя оседанию. В результате оседают яйца трематод, осадок чистый без посторонних примесей. Для исследования осадок выпускают из делительной воронки на предметное стекло и микроскопируют.

Методы количественных исследований

Количественные методы исследования фекалий применяются для определения количества паразитирующих в кишечнике гельминтов на основании подсчета выделяемых ими яиц. Эти методы исследования применяются с целью: 1) определения степени инвазии отдельными видами гельминтов в данной местности до и после проведения лечебно-профилактических оздоровительных мероприятий и для контроля целесообразности их практического применения в борьбе с гельминтозами; 2) для определения

эффективности дегельминтизации различными препаратами и относительной практической ценности разнообразных методов лечения.

Впервые метод количественных исследований был предложен для массовых исследований американским гельминтологом Норманом Столлом (N.R. Stoll, 1923).

Метод количественных исследований по Столлу (N.R. Stoll, 1923). В стеклянную колбочку или большую пробирку наливают децинормальный раствор едкого натра (0,4%) до метки 56 мл, а затем прибавляют фекалии до уровня 60 мл. В пробирку или колбочку опускают несколько стеклянных бус, плотно закрывают резиновой пробкой и взбалтывают содержимое в течение одной минуты. Тотчас после взбалтывания 0,075 мл смеси (что равняется 0,005 мл фекалий) переносят пипеткой на предметное стекло и исследуют под двумя - тремя обычными покровными стеклами. Подсчитываются все яйца гельминтов. Полученную сумму яиц умножают на 200; произведение представляет количество яиц, содержащихся в 1 мл фекалий. Недостатком метода Столла является то, что слабые инвазии не диагностируются при его применении.

Методика количественных исследований Мак Мастера (Mc.Master et al.) – выполняется с использованием флотационного раствора хлорида натрия и счетной камеры Мак Мастера. Применяется для количественного учета гельминтов по количеству зарегистрированных яиц. Необходимое оборудование: пипетки Пастера с резиновой грушей, ступка с пестиком, сеточка (сетечко для чая), пробирки (на 100 мл с притертymi пробками, закрываемые герметически), насыщенный раствор хлорида натрия, камера Мак Мастера, состоящая из двух стекол, расположенных одно над другим на расстоянии 1,5 мм, на верхнем стекле одозначены два квадрата со стороной 1 см. Таким образом, объем используемый при отсчете, ограничен квадратом со стороной 1 см и равен 0,15 мл. Пробу фекалий 2 г из тщательно перемешанной массы

переносят в ступку, добавляют 58 мл раствора хлорида натрия и перемешивают до получения хорошо гомогенизированной суспензии. Суспензию фильтруют через ситечко и выливают в герметически закрывающуюся пробирку; несколько минут встриживают взвесь до получения хорошей суспензии. Затем пипеткой Пастера забирают пробу суспензии из пробирки и аккуратно переносят в камеру Мак Мастера (рис.4); суспензию в камере оставляют на 2-3 мин для всплыивания яиц и оседания их на верхнем стеклышке. Взвесь в камере исследуют при 40-кратном увеличении микроскопа, при этом подсчитывают яйца находящиеся в поле квадрата. Количество яиц на 1 кг фекалий рассчитывают путем умножения на 200 числа зарегистрированных яиц. Исследований проводят 4 раза, после чего выводят среднее значение.

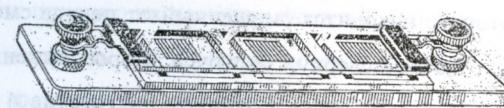


Рис. 4. Камера Мак Мастера (усовершенствованная Ветцелем). Внешний вид (по Котельникову Г.А., Хренову В.М., 1984).

Метод Лапиджа, Блейкмора и Уортли (G. Lapage, F. Blakemore, W. H. Worley, 1947), центрифужный, седиментационный, для количественной диагностики фасциолеза. В 300-миллилитровую колбу, частично наполненную 0,4М едкого натра, помещают 19 г овечьих фекалий накануне дня исследова-

ния (на ночь). На следующее утро колбу энергично встряхивают, чтобы разбить фекалии, и доливают в нее едкий натр до полного объема (300мл). Из полученной взвеси берут пробу в 7,5 мл (содержит 0,25 г фекалий) помещают в 15-миллилитровую центрифужную пробирку, доливают раствором поваренной соли с удельным весом 1,2 и центрифицируют; затем поверхностный слой (надосадочную жидкость) сливают и процесс повторяют до полного ее просветления. Осадок пропускают через сито (80 ячеек на квадратный дюйм) в счетную камеру – чашку Петри 7 см в диаметре, по дну которой нанесены параллельные линии с интервалом 3 мм. Подсчитанное количество яиц умножается на 4 и получают число их в одном грамме фекалий.

Метод Уайтлоука (H.K. Whitlock, 1950) предложен для подсчета яиц трешматод в фекалиях овец. Для выполнения исследований по этому методу используются специально сконструированные пипетки и счетные камеры. Смесительная пипетка (.1-рис.5) емкостью 1,3 мл сделана из стеклянной трубы с отверстием 0,5 см. В трех сантиметрах от нижнего конца (E) есть сужение (A), выше которого находится смещенный от центра смесительный бульбус (B) диаметром 2,5 см; сверху бульбуса второе сужение (C), оба сужения с просветом 1-1,15 мм, отстоят один от другого на 4 см. Концы пипеток закругляют на пламени, сужая их до 3 мм в диаметре. Счетное предметное стекло (2) устроено следующим образом. На предметное стекло 7,5 x 3 см через 12,5 мм стеклянной замазкой крепят пять поперечин 5 мм шириной, 3 см длиной и 2 мм толщиной. Верхнее стекло 7,5 x 2,2 см, прикрепленное к поперечникам, имеет на поверхности параллельные выгравированные линии через 20 мм. Объем каждой камеры между выгравированными линиями 0,5 мл ($12,5 \times 20 \times 2 \text{ мм} = 0,5 \text{ мл}$). Поскольку верхнее стекло уже нижнего, на нем остаются открытые платформы (D). Кроме описанного счетного предметного стекла, для подсчета яиц применяют также специальный аппарат со скользящей верхней стеклянной крышкой (4).

Он состоит из флотационной камеры (A), имеющей размеры 20 x 25 x 4 мм (емкость 2 мл), платформы (B), поставленной на 0,3 мм ниже стеклянного выступа (C), и наружных стенок (D); точную емкость флотационной камеры - лотка (A) определяют затем калиброванной пипеткой. Для флотации применяют раствор ртутно-йодистого калия с удельным весом 1,63 (32 г йодистого калия и 50 г йодистой ртути растворяют в 90 мл дистиллированной воды при легком подогревании). Яйца трешматод очень быстро оседают на дно в водной суспензии и быстро поднимаются во флотационном растворе; поэтому все манипуляции выполняются в минимальные сроки. При пользовании предметным стеклом берут 2-4 г фекалий в 50 мл воды и, встряхивая при помощи электрического аппарата или вручную со стеклянными бусами, готовят однородную суспензию. Сразу же после этого, держа пипетку вертикально с бульбусом, обращенным к руке, опускают в фекальную суспензию, чтобы суспензия была на уровне сужения в трубке (A). Закрыв пальцем верхнее отверстие, пипетку вынимают из суспензии. Нижний конец быстро прополаскивают в насыщенном солевом растворе, чтобы освободиться от прилипших частичек фекалий, и осторожно опускают во флотационную жидкость до момента, когда последняя достигнет сужения (A), вытеснив фекальную суспензию в смесительный бульбус (B). Закрыв пальцем верхний конец, пипетку вынимают из флотационной жидкости и наклоняют, пока ее содержимое не начнет поступать в смесительный бульбус. Для смещивания содержимого пипетку слегка покачивают; образцы переносят затем в первую и вторую камеры предметного стекла; перед внесением во вторую камеру содержимое еще раз перемешивают. Остальные камеры наполняют так же. Если пользуются аппаратом со скользящей верхней крышкой, то вначале делают то же, что и со счетным предметным стеклом, но фекальную суспензию берут большой смесительной пипеткой, которая должна дать объем смеси фекальной суспензии с флотационной жидкостью в 2 мл. Содержимое пипетки опускают в лоток с надвинутой скользящей крышкой, как показано на рисунке (4). Через 1 минуту крышку

осторожно снимают и накладывают на платформу; на внутренней стороне этой крышки будет находиться слой суспензии, содержащий яйца трематод. Яйца всплывают очень быстро, и подсчет можно сделать в пределах 5 минут контакта с флотационной жидкостью. В счетном предметном стекле узнают количество яиц в одном грамме фекалий (при весе взятой пробы 4 г), умножая на 50 число яиц в одной камере или на 12,5 в четырех камерах. Используя для этого счетный аппарат со скользящей крышкой, считают все яйца в 2 мл суспензии и умножают на 12,5 (если первоначальная навеска пробы равнялась 4 г).

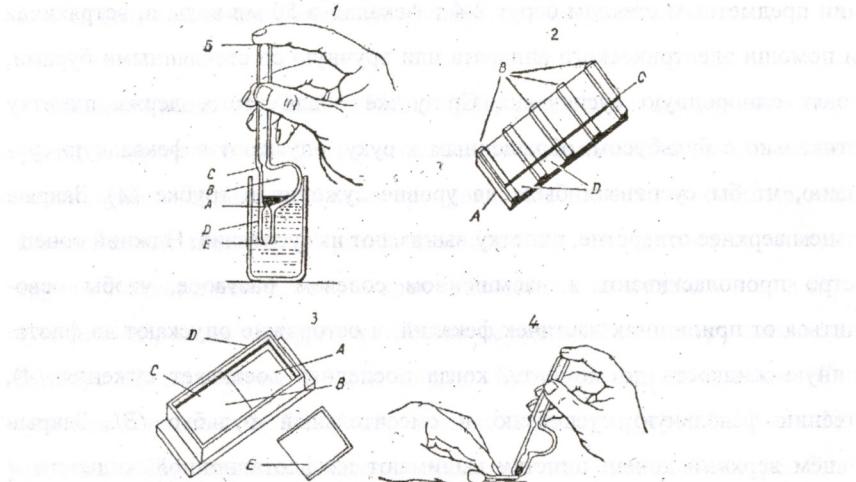


Рис. 5. Приборы для диагностики фасциолеза по методу Уайтлоу.

(по Н.В.Демидову, 1966).

Методика Пауликони (S. F. Paulikoni, 1961) представляет методику последовательных промываний для количественного учета фасциолеза крупного рогатого скота. Для размешивания пробы используют 40-кратное количество воды, а для осаждения применяют цилиндры с конусовидной нижней частью емкостью 200-250 мл, высотой 30-35 см и нижним диаметром 3 см. При промывании жидкость отсасывают спринцовкой, над поверхно-

стью осадка оставляют слой жидкости толщиной не менее 0,5 см. промывают 4 раза и отстаивают соответственно 5; 5; 4 и 3 мин. Осадок микроскопируют, при этом автор рекомендует специальные гравированные стекла и предлагает подсчитывать яйца для определения интенсивности инвазии по формуле:

аб

$$X = \frac{ab}{c}$$

Вг

где а – количество осадка, мл;

б - число найденных яиц;

в – количество фекалий, взятых для исследования, мл;

г – количество исследованного осадка, мл;

х – число яиц в 1 мл фекалий.

По автору, диагностическая эффективность методики при фасциолезе крупного рогатого скота составляет 100%.

Счетная камера «KP» для диагностики и количественного учета трематодозов крупного рогатого скота (Niec R, 1972). Для копрологической диагностики фасциолеза и парамфистоматозов предложена специальная счетная камера «KP» (Аргентина). Камера выполнена из пластика: основание состоит из пластины размером 180 x 40 мм; имеются две ячейки, образованные двумя пластинами размером 12 x 6 x 6 мм, расположенными на расстоянии 7 мм; объем ячейки – 10 мл.(рис.6)

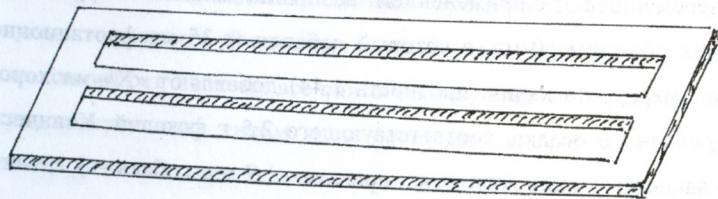


Рис. 6. Счетная камера «KP». Внешний вид. 1. Основание камеры; 2. Ячейки

Методика определения состоит в следующем: 5 г фекалий смешивают с 50-70 мл раствора детергента, процеживают и переносят в специальный сосуд емкостью 100 мл. Смесь оставляют на 5 мин. Для выпадения осадка. Надосадочную жидкость отсасывают сифоном; процедуру повторяют 2 раза. Затем оставляют 10-20-мм слой надосадочной жидкости, добавляют 2-4 капли раствора йода и оставляют на 2 мин. Жидкость с осадком хорошо встряхивают и переносят в ячейки камеры «КР». Спустя 1-2 мин. дно камеры осматривают под увеличением 20-25 раз для выявления яиц гельминтов.

Усовершенствованная модификация метода количественного учета Raynaud'a методом флотации с применением йодомеркурата калия (1975).

Ветеринарной лабораторией (Франция) предложена модификация методики Рэйнауда, которая заключается в том, что отмеривание количества фекалий при количественных исследованиях на гельминтозы проводится после седиментации. Методика состоит из двух этапов: 1- разведение в воде пробы фекалий, фильтрация и седиментация; 2- концентрация яиц гельминтов посредством флотации в растворе йодомеркурата калия. При выполнении первого этапа вечером на металлическую сетку (диаметром 10 см, 10 отверстий на 1 см²), лежащую на пластмассовом коническом стакане, помещают до 50 г фекалий, измельчают их палочкой и промывают водопроводной водой, а затем оставляют на ночь для осаждения. Утром сливают надосадочную жидкость, перемешивают с применением магнитной мешалки. Берут маленький стаканчик объемом 50 мл, в который добавляют 35 мл флотационного раствора йодомеркурата калия (плотность 1,44) добавляют «Х» мл хорошо гомогенизированного осадка, соответствующего 2,5 г фекалий. Количество осадка «Х» зависит от вида животных: лошадь – 1,9 мл; собака – 3,1; свинья – 4,5; корова – 5,2; овца – 6 мл. На посуду наносят соответствующие метки. С помощью магнитной мешалки смесь хорошо перемешивают, затем пипеткой

берут часть указанной смеси и заполняют две камеры Мак Мастера. Подсчет ведут под микроскопом с такой оптической системой, чтобы диаметр поля зрения соответствовал ширине полосок камеры. Если подсчет проводится на двух сетках ($V = 0,3$ мл), количество яиц умножают на 50, чтобы получить их число в 1 г фекалий. Если подсчет ведется полностью по двум камерам ($V = 1$ мл) то количество подсчитанных яиц гельминтов необходимо умножить на 15.

Метод Дорсмана (W. Dorsman, 1956) предложен для подсчета яиц фасциол в фекалиях крупного рогатого скота. Пробу фекалий весом 3 г тщательно перемешивают с водой и смывают на сито с ячейками 0,16 мм в пустой аппарат Бермана (рис.4, I). Небольшим распылителем, соединенным с водопроводным краном, фекальную массу промывают сквозь сито (чтобы смыть яйца с грубых частиц фекалий), пока вода не достигнет сита. Процессенную и разведенную фекальную суспензию пропускают затем сквозь второе сито (С), состоящее из металлической трубы, в которую вставлен медный газ с ячейками 0,05 мм. В верхнем концу металлической трубы присоединен кусочек прозрачной пластической трубы, являющейся как бы продолжением сита (С) и предохраняющей жидкость от разбрзгивания.

Пластическая трубка должна иметь отверстие около 3 мм в диаметре, закрытое резиновым кольцом (e), надетым на нее. Жидкость из воронки при помощи зажима (в) короткими, резкими струями пропускается через сито (С). Когда воронка освободится, дважды промывают сито А, каждый раз пропуская через сито С промывную жидкость. Яйца фасциол, не проходят сквозь тонкий газ, поэтому все они остаются на сите С свободные от грубых частиц, задержанных ситом А, и более мелких остатков и волокнистых частичек фекалий, прошедших через сито С. Часть фекальной взвеси, попавшая при разбрзгивании на стенки металлической и пластической трубок, смывается с них на сито струей воды. На поверхность сита наносят

несколько капель метиленовой синьки для окрашивания оставшихся частиц фекалий. Желто-коричневый цвет яиц фасциол при этом не изменяется, и их легко отличить в счетной камере. Избыток краски смывают водой через сито *C* из воронки; сито *A* извлекают, а воронку промывают струями воды, чтобы смыть с ее стенок случайно задержавшиеся там яйца фасциол, материал смывают на газ (сито *C*). Часть поверхности газа под отверстием в стенке эластичной трубы освобождают от частиц фекальной взвеси, смывая их тонкой струей воды на горизонтальную поверхность сита *C*.

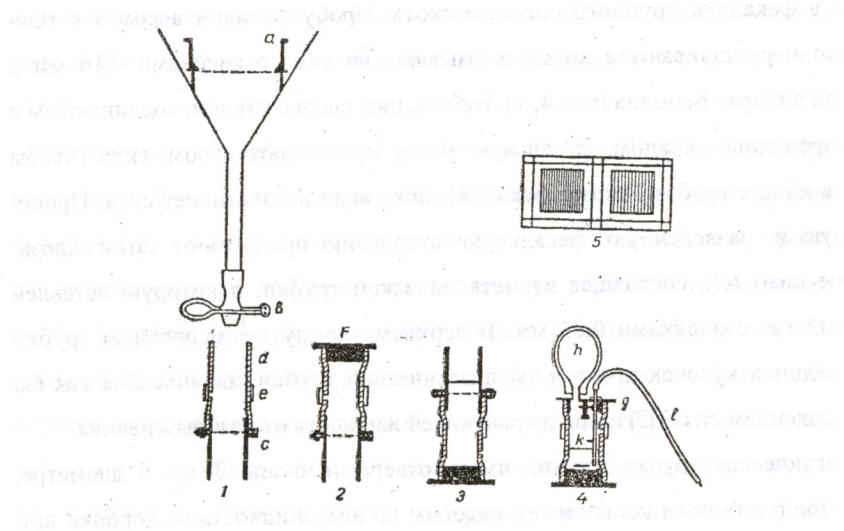


Рис. 7 Приборы для диагностики фасциолеза по методу Дорсмана.

В свободный конец пластического цилиндра вставляют деталь (рис. 7, 2), после чего аппарат переворачивают верхней стороной вниз (рис. 7, 3) и на газ осторожно наливают 24 мл воды; так как узкое отверстие в пластической трубке все еще закрыто резиновым кольцом, то воздух из камеры не выходит, и вода остается на газе. Аппарат берут в обе руки и пальцами вращают резиновое кольцо, постепенно передвигая его вверх,

чтобы открыть отверстие в пластической трубке: при этом вода падает сквозь сите, унося с него целиком весь осадок на дно сосуда. Аппарат рекомендуется держать при этом в слегка наклонном положении, чтобы в момент открытия отверстия через него не выливалась жидкость. После этого сито вынимают из пластической трубы, в жидкость погружают небольшой железный прут, а сосуд помещают на магнитострикционный вибратор. В процессе встряхивания в сосуд постепенно вливают 6 мл свежеприготовленного 2,2%-ного раствора карбоксиметилцеллюлозы, после чего к пластической трубке прикрепляют крышку, чтобы закрыть сосуд (рис. 7, 4). В крышке есть два отверстия, через одно из которых при помощи резинового шара (*R*) в сосуд вводят воздух, другое закрыто небольшой резиновой пробкой,держивающей пропущенную через нее твердую узкую трубку (*k*), к которой прикреплена длинная резиновая трубка (*l*). Встряхивают до тех пор, пока яйца не распределются равномерно в суспензии (время встряхивания зависит от формы и размера вибратора и скорости вращения). Счетное предметное стекло (*7, 5*) заполняют как можно быстрее, сдавливая бульбус (*h*) и выжимая жидкость через трубку (*l*) на стекло, при этом встряхивание в аппарате продолжается. Яйца в счетной камере еще до оседания на дно оказываются распределенными равномерно, причем осаждаются они замедленно из-за наличия в жидкости карбометилцеллюлозы. Яйца подсчитывают в пределах одного квадрата, содержащего 1 мл суспензии. Число яиц, сосчитанное в одном квадрате, умножают на 10 и получают количество яиц фасциол в 1 г фекалий.

Приспособление для диагностики фасциолеза Н.В.Демидова (1966)-
сконструированное для точной копрологической диагностики фасциолеза (рис.5).Приспособление состоит из четырех основных частей. Воронка с трубкой, заканчивающейся конусом; четырехгранник с внутренними

конусными выточками и сквозными четырехгранными отверстиями $0,5 \times 2$ мм по торцам; трубка с внешним шаровидным выступом диаметром 10 мм и конусом на одном конце; рамка. Материал-органическое стеклою Изгиб трубок под 90° произвольным радиусом, но желательно наименьшим, при этом внутренние полости ее выполняют с точностью до 0,1 мм, внутреннюю и наружную поверхности для большей прозрачности полируют до зеркальной. Во внутренней полости должны быть выдержаны прямые углы. Для изготовления этой детали готовят стальную модель сечением $0,5 \times 2$ мм, затем подогревают плексиглаз и вдавливают модель в плексиглаз. Деталь можно изготовить из половин, которые после получения профиля внутренней полости склеивают дихлорэтаном. Данную часть дихлорэтаном приклеивают к рамке. После изготовления трубы и конусную воронку сочленяют на дихлорэтане с четырехгранником. Для движения жидкости по главной детали необходим вакуум на конце выходной трубы. Для этой цели можно применять водоструйный насос.

Приспособление помещают на предметный столик микроскопа, выходную трубку подсоединяют к шлангу водоструйного насоса, прикрепленного к водопроводному крану. Скорость движения жидкости в трубке регулируют поворотами водопроводного крана или специальным зажимом на шланге. Исследуемый осадок под контролем глаза выливают в конусную воронку и рассматривают под микроскопом при медленном течении жидкости. Так как внутренний диаметр трубы точно соответствует диаметру поля зрения при малом увеличении микроскопа, то все яйца гельминтов будут видны. Приспособление по данным автора, кроме повышения точности диагностики, способствует ускорению просмотра в 5-8 раз по сравнению с микроскопией на стекле. Приспособление, автор рекомендует использовать в практике в сочетании с флотационно-седиментационным методом (Н.В.Демидов, 1963).

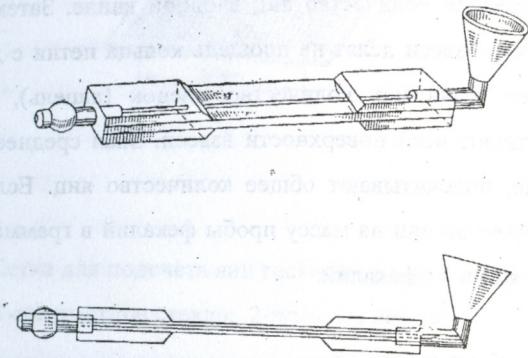


Рисунок 8. Общий вид (сверху и сбоку) прибора Н.В.Демидова для диагностики фасциолеза.

Методика количественного исследования по Трачу В.Н.(1981)- основана на применении флотации с использованием раствора аммиачной селитры, с последующим учетом яиц на предметном стекле. Методика проста, не уступает по точности зарубежным способам учета яиц гельминтов в одной единице массы фекалий и может применяться для сравнительного учета инвазированности животных до дегельминтизации и после дегельминтизации. Пробу фекалий овец или коз 2,5 г, от крупного рогатого скота и свиней 5 г помещают в стеклянный сосуд емкостью 100 мл, диаметр свободного края которого равен 5 см. К пробе наливают раствор аммиачной селитры с плотностью 1,3, периодически помешивая палочкой. Через 30-45 мин с поверхности взвеси снимают металлической петлей с кольцом 5 мм 5 капель (одну из центра, остальные из периферии) и переносят на предметное стекло.

Для облегчения подсчета количества яиц предварительно на предметном стекле делают параллельные линии с помощью алмаза с интервалом в 1-1,5 мм. Для количественного учета учитывают все обнаруженные яйца гельминта на предметном стекле. Общее количество яиц делят на количество капель и узнают среднее количество яиц в одной капле. Затем известную площадь поверхности взвеси делят на площадь кольца петли с диаметром 5 мм и таким путем выявляют количество пленок (капель), которые по площади соответствуют всей поверхности взвеси. Зная среднее количество яиц в одной капле, подсчитывают общее количество яиц. Если разделить подсчитанное количество яиц на массу пробы фекалий в граммах, то можно узнать количество яиц в 1 г фекалий.

Метод Акбаева М.Ш.(1998). Данная методика подсчета яиц гельминтов достаточно проста и точна. Для этой цели готовят сетку из рентгеновской фотопленки. Для приготовления сетки требуются офицерская линейка, циркуль или швейные иглы и безопасная бритва (лезвие). Сначала пленку отмывают от эмульсии, затем четырехугольник линейки размером 40 x 17 мм размещают на куске пленки, иглой наносят едва заметные точки на расстоянии 1,6 мм друг от друга, с помощью линейки и лезвия чертят 11 горизонтальных и 26 вертикальных линий, которые иглой по краю сетки нумеруют. Пленку с сеткой вырезают по размеру предметного стекла и приклеивают канадским бальзамом начертенной сеткой вверх. После высыхания бальзама сетка готова к длительному употреблению. Для подсчета яиц берут 1-3 г фекалий и проводят исследования по методу последовательных смызов. Затем осадок энергично встряхивают и пипеткой с отпиленным кончиком набирают 0,1 мл взвеси и наносят на сетку. Взвесь накрывают тонким предметным стеклом (толщина 1 мм), укороченным на 1 см. Обнаруженное число яиц умножают на весь объем осадка в миллилитрах, что составляет количественное выражение изучаемой массы фекалий.

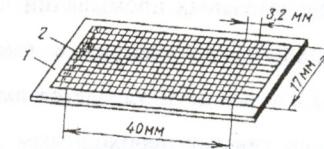


Рис.9 Сетка для подсчета яиц гельминтов (М.Ш.Акбаев)

1-предметное стекло; 2-пленка с сеткой

Сравнительная эффективность методов исследований

Методы гельмитоовоскопических исследований, несмотря на их многочисленность далеко не всегда достоверно отражают существующую эпизоотическую ситуацию по гельмитозам. Многие методы громоздки, трудоемки или дороги и не могут применяться при массовых исследованиях.

Эванс (S. Evans, 1938) на основании сравнительных испытаний различных гельмитоовоскопических методов диагностики пришел к выводу, что седиментационный метод при диагностике фасциолеза эффективней флотационного. Учитывая несовершенство копрологической диагностики, он предлагал, в случае получения отрицательного результата, для окончательного ответа исследовать фекалии в течение трех дней.

Гаджиев К.Ш. (1951) естественно инвазированных фасциолезом овец и коз исследовал параллельно тремя методами: осаждения, центрифугирования и Телеммана. При этом автором были получены следующие результаты: методом осаждения - 44% овец и 18% коз; методом центрифугирования - 72% овец и 28% коз; методом Телеммана - по 39% соответственно. На основании

полученных результатов, Гаджиев рекомендует при массовых исследованиях применять центрифужный метод Дарлинга.

Никулин Т.Г.(1953) в опытах установил, что диагностическая эффективность обычного метода последовательных промываний не превышает 39%, так как в момент слива верхнего слоя жидкости взмучивается осадок, поэтому часть яиц (до 24,5%) вслыхивает и удаляется вместе с жидкостью. Исходя из этого, исследователь считает необходимым заменить сливание жидкости отсасыванием ее спринцовкой, наконечник которой при погружении в стаканчик не доводят до дна на 1,5-2 см. Эффективность метода последовательных отсасываний жидкости спринцовкой, по данным Никулина, достигает более 80%. Метод отсасываний позволяет также стандартизировать исследование, что имеет важное значение в отношении количественной диагностики фасциолеза. Исследования Никулина еще раз подтверждают большую диагностическую эффективность метода последовательных промываний при условии сифонирования надосадочной жидкости.

Серлио и Анжело (K.Serlio, B.Angelo, 1955) при изучении диагностической эффективности метода Ривера и Мартинеса, являющегося несколько улучшенной модификацией метода Суансона и Хоппера (L.E.Swanson, H.H.Hoppe, 1950), установили, что она составляет 100% и только громоздкость метода не позволяет применять его при массовых диагностических исследованиях.

Леонтьев К.А.(1956) рекомендует брать для исследования на фасциолез большие пробы фекалий. В его исследованиях при навеске фекалий крупного рогатого скота (59 голов) по 5-6 г фасциолез выявлен в 10% случаев, а при 20-25 г – в 27%; время первого отстаивания 15 минут, второго - 10 минут. Осадок микроскопируют в чашке Петри.

Игнатьев И.Б.(1956) сравнивал эффективность трех диагностических методов (последовательных промываний, Болховитинова и Дарлинга), учитывая количество зарегистрированных яиц фасциол в препарате и во всем осадке. Исследователем были получены следующие результаты: при методе последо-

вательных промываний в препарате 91,6%, во всем осадке – 100%, при методе Болховитинова в препарате 50%, во всем осадке – 100%, при методе Дарлинга с флотационной жидкостью удельного веса 1,4 (раствор гипосульфита) – 100%, с флотационной жидкостью удельного веса 1,36 (раствор азотнокислого натрия)-75%. Среднее количество яиц во всем осадке: при методе последовательных промываний – 38,16; при методе Болховитинова – 11,00; при методе Дарлинга с гипосульфитом – 75,91, с азотнокислым натрием – 3,91. На основании полученных данных, исследователь пришел к выводу, что наилучшим для копрологической диагностики фасциолеза является центрифужный метод Дарлинга.

Карбаллейра (D. Carballera et al.,1959) проверил диагностическую эффективность своего метода на 300 пробах и установил, что она составляет 99,2%, в то время как другие методы дают ошибки в 26,3-47,3%.

Нюмарк (M.Njumark,1961) изучал диагностическую эффективность «метода трубки» (C. Gregoire, L. Pouplard, C.Cotteler, P. Schyns, L. Thomas, A. Deberdt,1956) по сравнению с методом седиментации и пришел к выводу, что «метод трубки» более эффективен. По его данным, метод седиментации только при интенсивной и средней инвазии дает достоверные результаты.

Патнаик и Дасс (B.Patnaik, K.Dass,1961) при исследовании на фасциолез крупного рогатого скота также рекомендуют брать пробу фекалий не менее 5 г. С диагностической целью авторы испытывали растворы поташа (удельный вес 1,56) и фтористого натрия (удельный вес 1,335), но не получили хороших результатов. Исследователи также изучили сравнительную диагностическую эффективность трех методов: осаждения, Бруггемана и Бенедека-Немешери. Эффективность этих методов, по результатам исследований, составила соответственно: 42%, 85,7% и 95,2%.

Демидов Н.В.(1963) критически проанализировал и провел проверку сравнительной диагностической эффективности свыше 30 методов гельминтохимической диагностики фасциолеза, описанных в литературе, и пришел к выводу, что большинство этих методов не могут быть рекомендованы

для широкой практики – главным образом по причине громоздкости, сложности, затрат большого количества времени, дороговизны или дефицитности необходимых для выполнения того или иного метода реагентов. По его мнению (Н.В.Демидов,1969), наиболее перспективным является метод Вишняускаса А.Ю (1964).

Хренов В.М.(1976) изучил сравнительную диагностическую эффективность при трематодозах жвачных (дикроцелиозе, парамфистоматозах и фасциолезе) пяти методов - последовательных промываний, комбинированного по Демидову Н.В.(1963), седиментации с целлофановыми пленками по Котельникову Г.А., Хренову В.М (1972), флотации с раствором нитрата свинца по Котельникову Г.А., Хренову В.М.(1976) и седиментации в пробирках и пришел к выводу, чьль наиболее эффективным оказался метод флотации с раствором нитрата свинца плотности 1,5 и комбинированный метод Демидова.

Деккер с соавторами (Decker J. et al.,1980) в Германии (ветеринарный институт округа Котбус) изучали возможность применения метода Като для диагностики гельминтозов животных. Параллельно стандартными флотационным и седиментационным методами, методом обогащения, а также модифицированным методом Като (1954) копроскопически исследовали 100 проб фекалий крупного рогатого скота, овец, свиней, кошек и собак. Для просветления окраски яиц гельминтов применяли смесь 100 мл глицерина, 95 мл дистиллированной воды и 1 мл 3%-ного раствора малахитового зеленого. Продолжительность просветления окраски – 24 ч. Чувствительность стандартных методов и модифицированного метода Като при исследовании фекалий крупного рогатого скота составила 56 и 16%, фекалий овец – 89 и 42%, фекалий жвачных в целом 72,5 и 29%, фекалий свиней 43 и 47%, фекалий плотоядных 30 и 34% соответственно, а после обогащения фекалий крупного рогатого скота – 90 и 60%, фекалий овец 90 и 70, составив в целом по опыту 83,3 и 63,3%. Таким образом, из-за консистенции фекальных масс крупного рогатого скота и овец метод Като для

копроскопического обследования этих видов животных непригоден вследствие низкой диагностической чувствительности. Однако средняя продолжительность одного стандартного копроскопического исследования составляет 109,5 мин, исследования по методу Като – 84 мин, средняя стоимость одного исследования 10 и 0,25 марки соответственно. Поэтому метод Като можно рекомендовать для гельминтологического обследования поголовья свиней и плотоядных.

Факторы, влияющие на эффективность гельминтоовоскопии

Основные приемы овоскопии основываются на принципах флотации, седиментации и их комбинации. В качестве флотационного средства используют такую соль, раствор которой обеспечивал бы высокую плотность, благодаря чему усиливается эффект всплыивания яиц. Если плотность раствора ниже или равна плотности (удельному весу) яиц, последние не всплывают. Флотационный раствор должен обладать достаточной плотностью, показатель которой превышает минимум на 0,25-0,30 единиц удельного веса яиц. Но повышение плотности раствора не во всех случаях увеличивает диагностическую эффективность исследования. При обработке пробы некоторыми растворами с повышенной плотностью происходит скопление грязи в верхнем слое, что затрудняет диагностику яиц.

Увеличение плотности флотационной жидкости часто приводит к ее быстрой кристаллизации на стекле при исследовании как при понижении, так и повышении окружающей температуры. Образующиеся в жидкости кристаллы, опускаясь на дно, увлекают за собой и яйца гельминтов. Кристаллы на предметном стекле, закрывая яйца, мешают их выявлению.

Важным фактором является коагулирующая способность флотационного раствора в отношении грязевых частиц. Чем она выше, тем более прозрачен поверхностный слой, где концентрируются яйца. Так, раствор нитрата свинца, коагулируя и осаждая частицы непереваренных остатков пищи,

одновременно флотирует в поверхностный слой яйца фасциолы, дикроце-лиума и многих других гельминтов. В капле прозрачной жидкости яйца, особенно пигментированные (фасциол), хорошо заметны. Раствор нитрата аммония обладает такими же свойствами, но в меньшей степени. Применя-емый в диагностике раствор нитрата натрия флотирует и яйца гельминтов и значительную часть кормовых частиц. При этом большинство яиц находится под этими частицами, в результате диагностическая достоверность исследования резко снижается (Г.А.Котельников, 1984).

Очень большое значение при овоскопических исследованиях имеет вязкость флотирующего раствора, т.е. его внутреннее трение. Растворы с высокой вязкостью непригодны для флотационной овоскопии. В них из-за высокой сопротивляемости перемещению частей собственной массы и тем более яиц гельминтов, находящихся во взвешенном состоянии, флотации происходит крайне медленно. В результате желаемый диагностический эффект не достигается даже при высокой плотности флотационной жидкости.

Применяемые для получения флотационного раствора соли, вступая во взаимодействие с поверхностью яиц, повышают или уменьшают их гидрофильтность. Повышение гидрофильтности способствует седimentации, понижение – наоборот, а некоторые соли, способствуя липофильности оболочки яиц, усиливают флотационный и уменьшают седиментационный процесс. Например, при применении флотационного раствора йодита ртути, вследствие активизации липофильности усиливается вспытывание яиц фасциол, некатора, трихоцефалюса и др.(I. Bailenger, G. Paymartin, A.Cabannes, I. Changuaud, 1977).

В фекалиях плотоядных, свиней и человека имеется неусвоенный жир. Этот фактор липофильности препятствует седиментации яиц и его следует учитывать. При исследовании фекалий собак и кошек методами седимен-тации с целью выявления яиц описторхиса и клонорхиса, имеющих высокий удельный вес, не достигается желаемый диагностический эффект без

предварительной обработки проб жирорастворяющими веществами. Для этой цели необходимо применять метод Телеммана и его модификации с применением жирорастворяющих веществ - эфира, спирта и других растворителей. Также следует учесть, что в фекалиях домашних жвачных также содержатся остатки жирных кислот и желчных ферментов, участвующих в формировании каловых масс. Для этих целей, по нашему мнению, достаточно применение детергентов, которые уменьшая липофильность яиц гельминтов, способствуют образованию однородной гомогенной взвеси фекалий перед применением флотационного раствора, а также методов седиментации. Такие методы пока что известны только в медицинской практике.

По истечению короткого периода времени, флотационные растворы, действуя на яйца, увеличивают их удельный вес и способствуют оседанию. При этом, растворы одних солей действуют быстро, других – медленнее. Этот фактор неодинаков по отношению к яицам гельминтов разных видов. Так, йодит ртути повышает удельный вес яиц аскарид и цепня небооруженного и тем самым задерживает процесс флотации (I. Bailenger et al., 1981). Этот факт объясняет давно замеченное явление уменьшения регистрируемых яиц со временем со всеми известными флотационными растворами. Поэтому, при работе методами флотации не следует одновре-менно готовить большое количество проб для исследования. Пробопод-готовку для последующего исследования нужно проводить небольшими партиями с таким расчетом, чтобы от времени фильтрации пробы до микроскопии проходило не более 50 мин.

Яйца гельминтов одного вида часто различаются по массе. Поэтому при флотации и седиментации эти яйца неодновременно поднимаются и оседают. Установлено, что при исследовании методом флотации до 25% яиц остаются в фильтрате не достигнув поверхности взвеси (M.O.Grady, J. Scolombe, 1980)

Одним из важнейших факторов, определяющих достоверность исследования является температура окружающей среды (воздуха). Поэтому, при работе необходима оптимальная температура в лаборатории 20-22° С.

Факторами, определяющими достоверность исследования являются методы пробоподготовки. Наружная оболочка яиц гельминтов не гладкая, она имеет выпячивания, складки и углубления. Вследствие этого яйцо прочео сцепляется с окружающей средой (на этом принципе основаны некоторые методы диагностики). Для того, чтобы увеличить число освобождающихся яиц от массы необходимо тщательное растирание пробы фекалий, первоначально в небольшом количестве воды, и постепенно ее добавлении. При необходимости, добавлять различные вещества, способствующие освобождению яиц от каловых частиц (едкий натр, растворители, детергенты и т.д.). Основным фактором, обеспечивающим достоверность исследования является получение гомогенной однородной взвеси, которая в дальнейшем применяется в зависимости от метода для того или другого способа. Необходимо учитывать, что обычном размешивании пробы в воде или флотационном растворе до 50% яиц остаются в ее массе (Г.А.Котельников, 1984). Чтобы увеличить выделение яиц из фекальных масс, необходимо тщательно растирать пробы. Лучше растирание проб проводить пестиком в ступке. Однако при такой обработке некоторые яйца стронгилят и рабдидат могут разрушаться.

Для увеличения числа освобождающихся яиц от массы и повышения их выявления пробы тщательно растирают и размешивают вначале в малом количестве воды или раствора, затем жидкость добавляют. Каждую пробу фекалий размешивают в чистом стаканчике чистой палочкой, чтобы не занести яйца гельминта из пробы фекалий от инвазированных животных в пробу от незараженных. Грязные палочки, стаканчики и фильтрационные сита моют под струей воды. На каждый стаканчик берут чистое ситечко.

Фильтрацию взвеси пробы после растирания и размешивания применяют для освобождения ее от излишних органических загрязнителей, мешающих

выявлению яиц. Фильтр с крупными ячейками пропускает избыточное количество грязи, а с малыми ячейками задерживает грязь и вместе с нею яйца. Поэтому важно подобрать оптимальный фильтр с тем, чтобы повысить диагностическую эффективность. Происходит естественная потеря яиц гельминтов на разных стадиях обработки пробы, причем некоторое число яиц гельминтов остается в пробе, часть - во взвешенном состоянии, незначительное количество - прилипшими к стенкам стаканчиков и т.д. По данным некоторых специалистов, при исследовании методом флотации в поле зрения микроскописта попадает лишь 3-7% (M.O.Grady, I. Scolombe). По данным других – этот процент выше.

Учет факторов, влияющих на выявляемость яиц, и соблюдение стандартизации исследований повышает их диагностическую эффективность.

Стандартизация и унификация диагностических параметров

гельминтооскопии

На результаты исследования независимо от его метода влияют величина массы пробы, время флотации или седиментации, размер ячеек фильтрационной сетки, диаметр кольца петли, форма, высота и объем стаканчиков и т.д. (Г.А. Котельников, В.М.Хренов, 1984).

С увеличением массы пробы должна бы увеличиваться вероятность обнаружения яиц. Однако увеличение обнаруживаемых в препарате яиц идет до определенного предела массы пробы, равной 3 г. При дальнейшем увеличении массы пробы, особенно выше 5 г, число обнаруживаемых в препарате яиц уменьшается, так как с увеличением пробы увеличивается напластование массы на фильтрационной сетке. Вместе с этим в ней увеличивается и число задерживающихся яиц гельминтов. При фильтрации проб массой до 3 г. задерживается незначительное число яиц. При исследовании взвеси без фильтрации диагностическая результативность не достигается по причине загрязнения осадка или поверхностного слоя взвеси,

тем более при завышенной массе пробы (Г.А.Котельников, В.М.Хренов, 1984).

Применение объема флотационной жидкости менее 50 мл снижает диагностические показатели даже при исследовании пробы массой 3 г. Увеличение же объема раствора не повышает результативность. Отсюда применять завышенный объем флотационных растворов экономически невыгодно.

При исследовании методами седиментации вполне хороший результат достигается при обработке поробы водой в объеме 50 мл. Увеличение высоты столба воды задерживает время седиментации яиц.

Большое значение на результаты гельминтоовоскопических исследований имеет время флотации яиц и продолжительность нахождения их на поверхности взвеси. Яйца гельминтов быстро всыпаются при обработке проб растворами нитрата свинца, нитрата аммония и нитрата натрия. Большинство яиц аскариды и трихоцефалюса в мениске жидкости при работе с растворами нитрата аммония обнаруживаются через 10 мин. После начала флотации практически микроскопировать препарат можно даже через 5 мин. Через 60 мин. В связи с увеличением удельного веса яиц они начинают опускаться. Кроме этого, яйца прилипают к образующимся кристаллам соли и вместе с ними опускаются на дно сосуда. Такое явление наблюдается и при работе с растворами нитрата свинца в отношении яиц фасциолы и дикроцелиума.

Наиболее объективные результаты исследований достигают при соблюдении следующих параметров (Г.А.Котельников, 1984):

1. Масса пробы фекалий при овоскопии методами флотации, седиментации и комбинации равна 3 г.
2. Объем флотационного раствора составляет 50 мл. (отсюда соотношение массы к раствору равняется 3:50).
3. Время флотации с применением раствора нитрата аммония с плотностью 1,3 в пределах не менее 5 мин и не более 60 мин, наилучшие результаты исследования отмечают в интервале между

10-15 мин, а с применением раствора нитрата свинца с плотностью 1,5 в пределах 10-60 мин, причем высокие результаты достигаются в интервале 15-45 мин (при исследовании на фасциолез и дикроцелиоз).

4. Применение в качестве емкостей (сосудов) для обработки проб стаканчиков формы усеченного конуса с расширенным верхним диаметром 40 мм, в котором высота столба взвеси 59 мм. При этом лучшей емкостью является стеклянная мензурка, рассчитанная по градации на 30 мл, но полный объем ее составляет 50 мл.
5. Использование для фильтрации взвеси металлической сетки или из капроновой (чулочной) ткани, в которых величина ячеек равна 0,25-0,30 мм.
6. Применение петли для снятия яиц с поверхности взвеси с диаметром кольца 8-10 мм. При уменьшении диаметра затрудняется сбрасывание капли на предметное стекло, при увеличении – пленка в кольце лопается. Для исследования целесообразно брать не менее трех капель с разных мест поверхности взвеси. Если яйца в каплях не обнаружены, снимают повторно 3 капли и микроскопируют.

ЛИТЕРАТУРА

- Абуладзе К.И. 1982. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных.// М.-«Колос»-496 С.
- Автушенко Е. Г. 1969. Сравнительная оценка флотационных методов при гельминтологических исследованиях.// Труды ВИГИС-М-С. 19-23.
- Ажинов С. А., Иванова Т.В. Копрологическая диагностика дикроцелиоза.// Труды Ростовской НИВС-Ростов-В.12-С. 274-276.
- АЗимов Д.А. 1968. Диагностика орнитобильхарциоза.// Материалы конф. Узбекского НИВИ, посвященой памяти Н.В.Баданина-С. 33-35.
- Акбаев М.Ш. 1998. Паразитология и инвазионные болезни животных.// М.-«Колос»-443С.
- Алафузов В.Н.1928. К методике обработки кала на яйца глист по способу Телемана.// Врачебная газета -№ 9-С. 691-692.
- Александров Н. А.1944. Пробирочный способ овоскопии.// Ветеринария-№ 4-С.32-33.
- Алексеев Л.1931. К методике микросгельминтологических исследований по Фюллеборну.// Лабораторная практика.-№ 7-С.18-19.
- Альтгаузен А. Я. 1928. К унификации методов обработки экскрементов на яйца кишечных паразитов.// Лабораторная практика;-№8-С. 7-10.
- Аннабаева Л.З. 1959. Модификация копрологического метода Фюллеборна при обследовании на гименолепидоз в условиях жаркого климата.// Здравоохранение Туркмении-№ 1-С. 33-35.
- Антонов В.Я., Блинова П.Н. 1974. Лабораторные исследования в ветеринарии.// М.-Колос-1974.
- Анисимов В.К.1963. К диагностике анкилостомидозов.//Лабораторное дело-№ 3-С. 44-45.
- Бабянскас М., Вишняускас А., Баракаускас А., Свабонас З. 1967. О копрологической диагностике фасциолеза.// Ветеринария-№ 6-С.58-59.

- Белозерова О.М., Литуновская М.Н.1944. К методике исследования фекалий на яйца глист с азотокислым натрием.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни.-№ 5-С.32-36.
- Берендей В.М. 1963. Об удобной для массовых исследований модификации гельминтоовоскопического анализа кала.//Медицинская паразитология и паразитарные болезни.-№6-С.687-688.
- Блахин А.Н. 1932. Наблюдения яиц глист на темном фоне.// Лабораторная практика -№ 4.
- Болотов М. П.1957. О применении сахарно-солевых растворов для выявления яиц гельминтов.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни - прилож. к № 1-С.65.
- Болховитинов Д.З. 1950. Новые принципы овоскопической диагностики гельминтозов.// Ветеринария-№ 4-С. 47-49.
- Болховитинов Д.З. 1950. Овоскопическая диагностика гельминтозов на основе использования закономерностей диффузии растворов.// Сб. реф. Н.-произв. Конф. Ветер. Фак. Ульяновского СХИ-В.1-С. 83-87.
- Болховитинов Д.З. 1958. Овоскопическая диагностика дикроцелиоза овец с помощью растворов гипосульфита.// Труды Свердловской НИВС-В.5-С.223-229.
- Бондарева В.И., Боеv С.Н. 1950. Исследования по копрологической диагностике тизаниезиоза.// Труды НИВИ Казахского филиала ВАСХНИЛ-Т.5-С. 294-298.
- Бубнов В. Д. 1963. Применение азотокислого аммония в гельминтологической практике.// Труды Всес. Ин-та вет. санитарии-В.22-С.201-207.
- Вайвариня Г.Ф.1960. Перспективы развития научно-исследовательской работы по паразитологии в Латвийской ССР в период 1959-1965 гг.// Тез. Докл. 2-й научно-координац.конф. по пробл. Паразитол. ЛатвССР, ЛитССР и БССР-С 5-6-Рига.

- В а с и л ь к о в а З. Г. 1955. Методы гельминтологических исследований.// М.-228 С.
- В и т т е н б е р г Г.Г., 1925. Современные методы обнаружения яиц паразитических червей в экскрементах.// Профилактическая медицина-№ 6.
- В и ш н я у с к а с А. 1965. Копрологический метод флотационной концентрации и его эффективность при фасциолезе.// Научно-техн. Информация Литовск. НИВИ.-С. 18-23.
- В о л ь ф З. В.1940. Овоскопическая диагностика дикроцелиоза.// Труды Казахского НИВИ-Т.3-С.292-302.
- В о р о б ъ е в а М. М., Г о р б а н ь Н.И. 1950. К изучению методов профилактики и борьбы с макрокантаринхозом свиней.// Труды Киевского вет. ин-та-Т.10-С.27-31.
- Г а д ж и е в К.Ш. 1951. Сравнительная оценка методов гельминтокопрологических исследований на фасциолез жвачных.// Ветеринария-№ 4-С.29.
- Г е н и с Д. Е. 1979. Медицинская паразитология.// М. Медицина, 342С.
- Г е ф т е р В.А. 1941.Сравнительная оценка методов гельминтологического исследования овощей.// «Медицинская паразитология и паразитарные болезни»-В.2-С.228-231.
- Г е ф т е р В.А. 1942. Сравнение эффективности лабораторных методов диагностики стронгилоидоза.// «Медицинская паразитология и паразитарные болезни»-В 1-2-С. 69-64.
- Г е ф т е р В.А. 1969. Разработка методов лабораторной диагностики гельминтозов.// В кн.: Строительство гельминтологической науки и практики в СССР-Т.4.-С. 81-113.
- Г и н з б у р г С.А. 1925. Улучшенный метод обработки кала на яйца глист. //Врачебная газета -№ 22-С.548.
- Г н е д и н а М.П. 1936. Изыскание методов гельминтологического анализа воды открытых водоемов.// Докл. ВАСХНИЛ-В.2-С. 89-93.

- Г н е д и н а М. П. 1937.Изыскание методов исследования травы на яйца и личинки гельминтов.// В сб.: «Работы по гельминтологии»-М.-Из-во ВАСХНИЛ-С. 183-188.
- Г н е д и н а М.П.1938. Изыскание методов исследования почвы на яйца и личинки гельминтов.// В сб.: «Работы по гельминтологии»-М.-Из-во ВАСХНИЛ-С. 134-138.
- Г о р д а д з е Г.Н., З и р а к и ш в и л и Л.М.1963.К упрощению количественного гельминтологического анализа.// Сб. трудов Грузинского НИИ Мед. Паразитологии и тропической медицины им. С.С.Вирсаладзе;-Разд. 2-С.99-102.
- Г о р д и н а Р.В.1930. Быстрота всплыивания и оседания яиц некоторых видов глист при исследовании кала по методу Фюллеборна.// Сб. гельм. раб. каф. эпидемиологии Одесского медиц. ин-та-Т.5-В.1-2-С. 175-186.
- Г о р к и н а С.Н. 1928. К методике гельминтокопрологической диагностики.// Лабораторная практика-Т.4-№ 4-С.1-3.
- Г о р ш у н о в а О. К.1937. Сравнительная оценка копрологических методов диагностики метастронгилезов свиней.// Сб. посвящ. К.И.Скрябину-Изд-во ВАСХНИЛ-С. 203-206.
- Г о р ш к о в И.П. 1944. Прижизненная диагностика габронематозов лошадей.// Сборник –«Военно-ветеринарная практика»-С.80-82-М.
- Г о р я ч е в П. П.1949. К методике копрологического анализа на описторхоз.// Труды Омского мед. Ин-та-№ 11-С.191-193.
- Г и н з б у р г Э.Д. 1911. Новый способ исследования кала на яйца глист.// Врачебная газета-№ 36.
- Г и н з б у р г Э.Д. 1913. О значении предложенного мною нового способа исследования кала на яйца глист.// Врачебная газета.-№ 6.
- Г и н з б у р г Э.Д. 1925. Улучшенный метод обработки кала на яйца глист.// Врачебная газета.-№ 22.

- Грачев А. В., Яхонтов Б. В., Попов Ю. А., Нагимидинов К. 1974. К диагностике фасциолеза овец.// Ветеринария-№ 1-С. 62-63.
- Данилин Н.Ф. 1961. Прибор для взятия проб фекалий.// Ветеринария-№ 7-С.58.
- Демидов Н. В. 1963. Новый способ копрологической диагностики фасциолеза.// Материалы ВОГ-Ч.1-М.-С. 95-96.
- Демидов Н. В. 1966. Методы гельминтокопрологической диагностики фасциолеза.// Тематический сборник работ по гельминтологии- М.-ВИГИС-В.12-С.53-74.
- Демидов Н. В. 1969. Изучение методов прижизненной диагностики, патогенеза, клиники, терапии гельминтозов сельскохозяйственных животных и организация мероприятий по борьбе с ними.// В кн.: Строительство гельминтологической науки и практики в СССР-Т.4-С.254-308.
- Дроzdov V.N. 1961. О новом методе применения красителей для определения жизнеспособности яиц гельминтов.// Лабораторное дело-№ 1-С.34-35.
- Дроzdov V.N. 1961. Сравнительная оценка методов гельмитооскопических исследований и их выбор при массовых осмотрах населения.// Лабораторное дело-№ 4-С.14-16.
- Душкин В. А. 1973. К вопросу диагностики скрябиниоза и хоанотениоза кур.// Ветеринария-№ 1-С. 66-68.
- Ершов В. С., Крикунов М. С., Плахотня Р. А. 1953. Новый метод диагностики аскаридоза свиней.// Работы по гельминтологии к 75 летию К.И.Скрябина-240-244.
- Жогло О. И. 1961. Новая модификация метода Фюллеборна микрогельминтологического исследования.// В кн.: Материалы 1-й научно-практической конференции Респ. Сан. Эпидемиол. Станций и научн. Об-ва гигиенистов, микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов ЛатвССР-Рига-С.77-80.

- Жогло О. И. 1961. Применение петли копрологической для забора материала при массовом обследовании на гельминты.// Там же-С.82-83.
- Захарлов Я. Н. 1962. К вопросу прижизненной диагностики гельминтозов свиней.// Труды Дальневосточного НИВИ-В.4-С.105-106.
- Зотов В. А. 1974. Диагностика фасциолеза методом осаждения.// Труды Смоленской НИВС-В.4-С. 25-27.
- Игнатьев И.Б. 1956. Сравнительная эффективность гельминтокопрологических методов диагностики фасциолеза домашних животных.// Рефер. Студ. Научн. Работ Воронежского зоовет. Ин-та-В.1-С. 79-80.
- Ионов П. С., Мухин В. Г., Федотов А.И., Шарабрин И.Г. 1953. Лабораторные исследования в ветеринарной клинической диагностике.//»Сельхозгиз»-287 С.
- Исайчиков И.М. 1929. Диагностика глистных болезней методом копрологических исследований.// Ветеринарная практика-№ 8-С.221-224; № 9-С.288-294; № 10-С.347-353; 1930-№ 1, 2.
- Кадыров Н.Т. 1964. О повышении качества гельмитооскопического исследования по методу Фюллеборна при удлинении экспозиции.// Вестн. Сельскохозяйств. Науки (Алма-Ата)-№ 7-С. 129-130.
- Калантарян Е.В. 1938. Использование азотокислого натрия в гельминтологической практике.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни-В.1-С. 142-143.
- Кац Л. С. 1981. Усовершенствование метода прижизненной диагностики трепматодозных заболеваний.// Научно-техн. Бюллетень ИЭВС и ДВ СО ВАСХНИЛ-Новосибирск-В.50-С.31-34.
- Кебина В.Я., Плющева Г.Л. 1965. Изучение эффективности различных гельмитооскопических методов.// В кн.: Материалы к научному конф. ВОГ.-Ч.3- С. 114-117.

- Копп Ф.И., Дмитриева М.А. и Цветкова-Григорьева А.Э.1928. К методике гельминтологического исследования экскрементов.// Лабораторная практика-Т.4-№4.-С. 3-4.
- Котельников Г.А. 1970. Проблемы диагностики гельминтозов.// Ветеринария-№ 11-С. 28-30.
- Котельников Г.А., Хренов В.И. 1972. Сравнительная оценка методов диагностики аскаридоза свиней.// Ветеринария-№ 10-С. 87-88.
- Котельников Г.А., Хренов В.И. 1973. Усовершенствование методов диагностики трихоцефалеза.// Ветеринария-№11-С. 65-66.
- Котельников Г. А. 1974. Диагностика гельминтозов животных.// М. «Колос»- 240 С.
- Котельников Г.А., Корчагин А.И., Хренов В.И. 1975. Аппарат для гельминтологических исследований.// ВИГИС. Авт. св. СССР № 466017.
- Котельников Г.А., Хренов В.М. 1982. Очистка и использование отработанных флотационных растворов. // Ветеринария-№ 10-С. 33-35.
- Котельников Г.А., Хренов М.В. 1983. Использование отработанных флотационных растворов по замкнутому циклу для диагностики гельминтозов.// Бюллетень ВИГИС-В.33-С.13-18.-Москва.
- Котельников Г.А., Корчагин И.А., Хренов М.В. 1983. Аппарат для лабораторной диагностики гельминтозов и гельминтологических исследований объектов окружающей среды.// Бюллетень ВИГИС-В.33-С. 10-13.-Москва.
- Котельников Г.А. 1984. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды.// М-«Колос»-208 С.
- Кудрявцев В.И., Сченснович В.Б.1930. Трихостронгилез человека в Ленинграде.// Микробиологический журнал.-приложение № 1 к Т.10-Л.
- Кузнецов В.Г.1955. К методике концентрации яиц гельминтов при гельминтоовоскопических обследованиях.// Здравоохранение Таджикистана-№ 5-С. 31-35.

- Леткова И. Ф., Класко Т. М. 1986. Комбинированный метод гельминтоовоскопии фасциолеза.//Информац. листок Калининградского ЦНТИ-4C.
- Лысенко А. А., Кривошта Е. Е. 1957. Краткие методики по организации и проведению диагностических и лечебно-профилактических мероприятий против важнейших гельминтозов сельскохозяйственных животных и птиц в колхозах и совхозах Ростовской области. (Методическое пособие для студентов).// Новочеркасск-24 С.
- Любченко С.Д. 1936. Сравнительная оценка гельминтоовоскопических методов исследования по данным лаборатории Ткварчельской тропической станции (Абхазия).// Труды Тропич. Ин-та НКЗдрава Абхаз.АССР.-И.2-С. 128-136.
- Маркевич А. П.1961.Методы изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитозами сельскохозяйственных животных.// Из-во АН УССР-Киев-352 С.
- Матевосян Е.М. 1940. Методика и техника изучения ленточных червей животных и человека.// Лабораторная практика-№ 6-С.14-16.
- Михайлов Г.Н. 1959. Новый метод консервирования яиц стронгилят.// Сб. раб. Ленинградского вет. ин-та.- В.22-С. 59-61.
- Музиковский А.М. 1963. Счетные приспособления для копрологических исследований.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни-№ 2-С.224-225.
- Мурашкинцев Н.С.1940. Диагностика и терапия аскаридиоза кур.// Вестник с-х науки.-Ветеринария.-В.1-С.58-78.
- Мицкевич В.Ю. 1953. Гельминтоово-ларвоскопическая диагностика у северных оленей.// Сб. научн. Трудов Ленинградского ин-та усоверш. Вет. врачей-В.9-С. 20-28.

- Никольский Я.Д. 1961. Методика прижизненной имагинальной диагностики мониезиоза, тизанизиоза и авителлиоза овец и коз в полевых условиях.// Труды Узбекского НИВИ-Т.14-С.161-164.
- Никольский Я.Д. 1961. Упрощенный метод гельминтоовоскопической диагностики мониезиоза мелкого рогатого скота.// Труды Узбекского НИВИ-Т.14-С.165-168.
- Никулин Т.Г. 1953. К диагностике фасциолеза домашних животных.// Уч.зап. Витебск. Зоовет.ин-та-Т.12-С.71-74.
- Осипов П., Карапендин О., Губайдулин Н. 1972. Сравнительная эффективность копрологических методов диагностики немотодиоза овец.// Труды Алма-Атинского ЗВИ-И.20-С.338-341.
- Орлов И.В. 1937. Методы прижизненной дифференциальной диагностики стронгилятозов жвачных. // Сб.: «Работы по гельминтологии» - М.- из-во ВАСХНИЛ-С. 433-439.
- Паулюкonis Ф. 1961. Пути увеличения эффективности и точности копрологического (гельминтоовоскопического) метода последовательных промываний и приспособление этого метода для количественных исследований фасциолеза.// Acta parasitologica Lithuanica-V.3-P/ 99-109.
- Петров А.М., Джавадов М.К., Гайбов А.Д. 1935. Прижизненная диагностика цестодозов кур и экспериментальная терапия райетиноза.// Труды Азербайджанского НИВИ-С.65-74.
- Петров А.М., Гагарин В.Г. Прижизненная дифференциальная диагностика стронгилеза, делафондиоза, альфортиоза, триодонтофороза и трихонематодозов лошадей.// Работы по гельминтологии. Сборник посвященный профессору К.И.Скрябину-Изд. ВАСХНИЛ-С.508-528.
- Петров А.М. 1963. Гельминтологические исследования.// В кн.: «Ветеринарная лабораторная практика»-Т.2-М.-С. 211-240.
- Подъяпольская В.П. 1926. Диагностика глистных инвазий методом исследования экскрементов.//Москва-38С.

- Подъяпольская В.П. 1929. Гельминтологические методы исследования.// Большая медицинская энциклопедия-Т.- С. 442-443.
- Подъяпольская В.П., Капустин В.Ф. 1937. Глистные заболевания человека.// 1. Биомедгиз-М.-366С.; 2. 2-е изд.- 1950-Медгиз-608 С.; 3. 3-е изд.-Медгиз-1958-663 С.
- Подъяпольская В.П. 1943. Метод соскоба в диагностике гельминтозов.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни -№1-С.83-85.
- Потемкина В.А. 1941. Диагностика и терапия простогонимоза кур.// Ветеринария-№ 4-С.20-21.
- Потемкина В.А., Демидов Н.В. 1956. Справочник по диагностике и терапии гельминтозов животных.// М. 352 С.
- Рээк Х. 1964. О диагностике и терапии фасциолеза у овец.// Сб. научн. Трудов Эст.СХА-Т.38-С.193-197.
- Симонович Е.Н., Грушевский В.Е., Соколова М.Н. 1956. Дополнение к методу Фюллеборна.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни.-№ 3-С. 249-252.
- Симонович Е.Н., Тяпкина Н.П. 1961. Удобная модификация метода Фюллеборна.// Медицинская паразитология и паразитарные болезни.-№6-С.677-680.
- Сковронский Р.В. 1961. К методике исследования кала на наличие яиц фасциол.// Проблемы паразитологии АН УССР. Труды украинского республиканского научного общества паразитологов.-№ 1-Киев-С. 361-362.
- Скрябин К.И., Шульц Р.С. 1931. Курс ветеринарной гельминтологии.// Трематодология.//М.-Л.-Сельхозгиз-47С.
- Скрябин К.И., Петров А.М., Потемкина В.А., Озерская В.1933. Изыскание методов диагностики метастронгилятоза свиней.// «Современная ветеринария»-№ 10-С.43-46.
- Скрябин К.И., Шульц Р.С. 1935. Фасциолезы животных и меры борьбы с ними.// М.-Сельхозгиз-174С.

- С к р я б и н К.И., Р.-Эд. С. Ш у л ь ц .1937. Гельминтозы крупного рогатого скота и его молодняка.// ОГИЗ-Сельхозгиз-722С.
- С к р я б и н Р.С., Ш у л ь ц Р.С. 1940. Основы общей гельминтологии.//М 470С.
- С м и р н о в Г.Г. 1929. Количественный гельминтологический анализ (методы исследования).// Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии-Т.8.-В.1-С. 63-78
- С м и р н о в Г.Г.1953. Методы гельминтологической диагностики.// Изд. АМН СССР-60С.
- С о л о н и ц ы н И.А.1931. Методика обследования фекальных масс на присутствие в них паразитических червей.// Вет.зоотехнический вестник-№1-С. 7-27; Отдельное издание-Казань 22 С.
- С о с и п а т р о в Г.В.1962. Прижизненная и посмертная диагностика эхинохазмоза свиней.// В кн.: Тезисы докл. Научн.конференции ВОГ 10-14 декабря-Ч.1-М.-С.157-159.
- С о с и п а т р о в Г.В. К методике копрологической диагностики фасциолеза и парамфистоматозов.// В кн.: Материалы к научн.конференции ВОГ-Ч.1-М.-С. 203-205.
- С т а р и к о в С.В. 1929. Упрощение техники гельминтокопроскопии.// Лабораторная практика.- № 9-С.26.
- С т а ш к е в и ч Н.1909. Диагностика на присутствие глистов у лошади и собаки по способу доктора Ефимова.// Сб. трудов Харьковского вет. ин-та-Т.7- В.2.
- С т е п а н о в Д.Ф. 1969. Прижизненная диагностика орнитобильхарциоза.// Ветеринария-№ 6-С.53-54.
- Т а р а с о в а В. А. 1927. К вопросу о диагностике глистных заболеваний.// Врачебная газета-31-№ 7-С. 489-493.
- Т е р в и н с к и й С.К. 1929. К методике гельминтологических исследований проточной воды.// Русский журнал тропической медицины-?-№ 7-С. 457-460.

- Т и м о ш и н Д. Г.1964. Основные методы лабораторной диагностики. (Гельминтозы).// Методические материалы по оздоровлению населения от гельминтозов.-М.-Изд-во «Медицина»-С.95-110.
- Т о п а л ь с к и й Н. Н. 1910. Новый способ отыскания яиц глист в испражнениях.// Военно-медицинский журнал-февраль.
- Х а н б е г я н Р.А. 1960. Новый метод диагностики фасциолеза.// Ветеринария-№ 10-С. 76-77.
- Х а р ч е н к о О.Н. 1960. Сравнительная оценка методов гельминтологической диагностики гименолепидозов домашних уток.//«Проблемы паразитологии» (Тр. 3-й научн. конф. паразитол. УССР)-С.214-215-Киев.
- Х л ы с т о в а З.С. 1950. Дифференциально-гельминтологическая диагностика гетеракидоза и аскаридиоза кур.// Труды Чкаловской областной опытно-ветеринарной станции-Т.1-С. 67-78.
- Х о р у ж е н к о П.Ф., Д о ц е н к о М. С. 1930. К методике гельминтокопрологической диагностики.// Лабораторная практика-№4- С.12-13.
- Х р е н о в В.М. 1976. Совершенствование диагностики дикроцелиоза, фасциолеза и парамфистоматозов.// Ветеринария-№ 9-С. 49-50.
- Ш а х н а з а р о в а М. Ф. 1946. Гельминтоовоскопическая диагностика эхинуриоза водоплавающих птиц.// Труды Московского зоопарка-Т.III-С. 130-134.
- Ш е в ц о в О. О. 1970. Диференціальна діагностика гельмінтоїзів свійських тварин.// Київ-35С.
- Ш е в ч е н к о Н. Х.1958. Гельминтоовоскопическая диагностика тизанизиоза мелкого рогатого скота.// ДАН Уз.ССР -№ 12-С. 63-66.
- Ш р е д е р А. Е. 1897. Гельминтологические исследования.// Спб.-101С.
- Ш у л ь ц Р.-Эд. С. 1925. Методы гельминтокопрологического исследования и их оценка.// Лабораторная практика-№ 1.

- Шульц Р.С., Канкрон А.А. 1928. Оксиуроз лошадей и методы его диагностики.// Вестник современной ветеринарии.-№ 24-С. 720-723.
- Шульц Р.С., Раевская З.А., Лосев Л.А. 1930. Опыты проведения мероприятий по борьбе с фасциолезом крупного рогатого скота в совхозах.// Вестник современной ветеринарии-№ 15-16-С. 395-398.
- Щастный Н.М., Макарова З.А. 1927. К оценке некоторых методов гельминтологических исследований.// Лабораторная практика-Т.3-№ 8-С. 4-5.
- Щербович И.А. 1952. Новое в копрологической диагностике гельминтов домашних животных.// Ученые записки Витебского зоовет. ин-та -Т. 11-С. 45-50.
- Щербович И.А. 1952. Диагностика макракантонхоза свиней.// Ученые записки Витебского зоовет. ин-та -Т.2-С.50-62.
- Эранова В.Г. 1960. Методы лабораторной диагностики главнейших гельминтозов сельскохозяйственных и промысловых животных и сравнительный анализ их эффективности.// Ученые записки Казанского вет. института-№ 72 - 418 С.
- Alcaino H. A., Baker N. F. 1974. Comparison of two flotation methods for detection of parasite eggs in feces.// Journal American Veterinary Medicine Association-V/164-N.6-P. 620-622.
- Brailsford J.E. 1926. The X-ray Diagnosis of Animal Parasites (Helminthes) in Man.// Proc.Roy. Soc.Med.-V.XIX-N.10-P. 41-52.
- Brumpt E. 1923. Utilisation de l' antiformine pour l'epuration des selles destinees a la culture de certains oeufs d'helminthes.// Ann/ Paras. Hum. Of Comp.-V. 1-N.3-P.301.
- Cuchemez L.1925. La methode de Willis modifie apploque a l'examen des dejection d'herbivores.// Ann. Paras. Hum. Et compt.-V.III-N.2-P. 206-207.
- Cort W.W., Ackert J. E., Payne F. K. and Payne G.C. 1922. The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil.// Amer/ Journal of Hygiene-V.2- P.1-16.

- Contribution au diagnostic corposcopique des maladies parasitaires par amelioration de la technique de flottaison a l' iodomercurate de potassium.// Rec. Med. Veter. 1975-V.151-N. 5-P. 299-303.
- Decker J. et al. 1980. Prufung eines koprologischen Untersuchungsverfahrens (Modifikation nach KATO) auf seine Anwendbarkeit in der veterinarmedizinisch-parasitologischen Diagnostik.// Mh. Veter.-Med.-Bd.35-N. 7-S. 258-260.
- Duvel D., Reisenleiter R. 1984. Fasciola hepatica: coproscopic diagnosis compared with the worm burden in the sheep.// Helminthologia-V.21-N.2-P. 151-159.
- Fulleborn F. 1920. Neue Methode zum Nachweis von Helmintheneiern.// Arch. f. Sch. Tr. H.-Bd. 24-S. 174.
- Fulleborn F. 1925. Eine Methode zur Isolierung von Haekenwurm u. anderen thermitaktischen Larven aus Gemischen mit frei lebenden Erdnematoden.// Arch. f. Sch. Trop. Hyg.-Bd.29-S. 470-478.
- Gates W.H. 1921. A method of concentration of parasitic eggs in feces.// Journ. Paras. -V..VII-N.1.-P.49.
- Hall M.C. 1911. A comparative study of methods of examining faeces for evidences of parasitism.// Bur. Of Anim. Ind. Bull.-N.135.-Wash-36 P.
- Hall M.C. 1917. Apparatus for use in examining feces for evidences of parasitism.// The Journ. of Laboratory and Clinical Medicine-V. II-N.5.
- Hall M.C. and Cram E.B.1925. Some Laboratory Methods for Parasitological Investigations.// Jl. Agric. Res.-V.30-N. 8-P. 773-776.
- Hein G.E.1927. Cedar Oil as an aid in finding Parasitic ova in Feces.// Jl. Labor. Clin.Med.-V. 12-N. 11-P. 1117-1118.
- Hung S. L.1926. Uber den Nachweis von Hakenwurmmeiern im Kot, den Wert ihrer quantitativen Bestimmung und eine einfache neue Methode fur letztere.// Arch. Sch. Trop. Hyg.-Bd.30-N.9-S. 399-419.
- Jager 1921. Beitrage zur Anreicherung der Parasiteneier im Kot der Haustiere.// Dissertation-Munchen.

- K o f o i d and B a r b e r .1918. Rapid method of detection of ova of internal parasites in human stools.// Journ/ Amer. Med. Ass.-V.171-P.1557-1561.
- L i e s s J. 1925. Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Flotationsmedien zum Nachweis von Parasiteneiern im Kot der Haustiere.// Inaug. Dissertation-Hannover-64 S.
- N i e c R. 1972. La camara "KR" en el diagnostico de distomatosis y paramphistomatosis en vacunos y ovinos.// Rev/ Med. Veter.-V.53-N.3-P. 229-232.
- N i e s c h u l z O. und H o f k a m p H.S.1930. Ueber den Wert der sogenannten D.C.F. Methode von Lane als Anreicherungsverfahren für Nematodenier und Kokzidienzysten.// Deut. Tier. Woch-Bd.38.-N.8-S. 116-117.
- P e v e r e l l i P. 1928. Het zicken naar Wermeieren met behulp van Ceder oliepreparaten.// Genelsk. Tijdschr. Nederl-Indie-V. 68-N.7.-P. 992-995.
- R e i c h e n o w Ed. und W u l k e r G. 1929. Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustiere.// Leipzig.II Teil: Vermes (Wurmer)-S.106-200.
- R i v a s d e D. 1928. An efficient and rapid method of concentration for the detection of ova and cysts of intestinal parasites.// Amer. Journ. Trop. Med.-V. VIII-N.1-P. 63-72.
- R o m a n i u k K. 1973. Nowa technika koproskopowej diagnostyki fasciozozy bydla.// Med.wet.-V.29-N/1-P.31-32.
- R u s z k o w s k I J.S. 1925. Essai du proce de Leslie Sheather pour concentrer les oeufs d'helminthes destines a l'experimentation.// Ann. Paras.hum. et comp.-V.III-N.2-P. 207-208.
- S c o t t J.A. 1937. The effect of various solutions on helminth eggs in feces.// Journ. Parasitology-V. 23-N.1-P. 109-112.
- S c o t t J.A. 1937a. A simple substitute for antiformin for parasitological uses.// Journ. Parasitol.-V.23-N.1-109 P.

- S i g a l a s R et P i r o t R. 1924. Un nouveau procede d'enrichissement en coprologie.// C/R/ Soc. Biol.-V.90-N.11-P. 755-757.
- S c h o o p G. 1925. Ueber die Diagnose der Entoparasiten des Schafes mittels der Kotuntersuchung.// Dissertation.-Hannover.
- S h e a t h e r A.L. 1923. The detection of worm eggs in the feces of animals and some experiments in the treatment of parasitic gastritis in cattle.// Journ. comp. Path. & ther.-V. 36-N.2-71P.
- S o p e r F.L.1926. Comparison of the Stoll and Lane egg count methods for the estimation of hookworm infestation.// Amer. Journ. of Hyg.-V.VI-July Suppl.-62 P.
- S t o l l N.R. 1923. An effective method of counting hookworm eggs in feces.// Amer. Journ. of Hyg.-V.3-P. 59-70.
- S t u b e n d o r f G.1893. Die Diferenzialdiagnose der tierischen Parasiteneir und pflanzlicher Sporen.// Dissertation-Rostock-33 S.
- S u p p e r e r R. 1973. Einführung in die Kotuntersuchung auf Parasitenbefall.// Wien-Bd.60-N 5.-S. 178-181.
- T i p r e z J. et M o u l i n H. 1928. Comparison des resultants fournis dans la recherché des oeufs de parasites dans les selles, par récolte unique ou par récoltes multiples.// C/R/ Soc. Biol.-V.99-N.21-P.231-232.
- Т р и ф о н о в Т. 1973. Овоизълчилство и копрооводиагностика при някои трематоди по овцете.// Вет. Сбирка-г.70-№ 12-С. 17-19.
- U e n o H. et al.1975. Appearance of *Fasciola cercariae* in rice fields determined by a metacercaria-detecting buoy.// Nat. Inst. Anim. Health Q.-V.15-N/3-P.131-138.
- U l l r i c h K. 1929. Gedanken über Kotuntersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der Hamburger Deckglasmethode.// Prag. Arch. Tiermed.-Bd.IX-Tl. A.H. 3-4-S. 113-114.
- Y a o i t a S. 1912. Ein neues Verfahren zur Auffindung sparlicher Parasitenier in Faeces.// D/M/W/-Jg.38-N. 33-S.1540.

Zarachó Z.A. 1974. El diagnóstico de la distomatosis con la cámara "KR".// Rev. Med.Vet.-V. 55-N.1-P. 45-50.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

1. ВВЕДЕНИЕ.....	3
2. МЕТОДЫ ГЕЛЬМИНТООВОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
История вопроса.....	4-5
Микроскопия фекалий.....	5-8
Метод седиментации и его модификации.....	8-24
Метод флотации и его модификации.....	24-36
Метод комбинированный (флотационно-седимента- ционный) и его модификации.....	37-47
Применение растворителей для обработки фекалий	47-51
Методы количественных исследований.....	51-65
Сравнительная эффективность методов исследований.....	65- 69
Факторы, влияющие на эффективность гельминтоовоскопии	69-73
Стандартизация и унификация диагностических параметров гельминтоовоскопии.....	73-75
3. ЛИТЕРАТУРА.....	76-92