

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького
Факультет громадського розвитку та здоров'я
Кафедра паразитології та іхтіопатології

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
щодо проходження навчальної практики з дисципліни «Паразитологія та
інвазійні хвороби» для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої
освіти спеціальності 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»

ЛЬВІВ 2023

УДК 619:616 (075)

Методичні вказівки щодо проходження навчальної практики з дисципліни «Паразитологія та інвазійні хвороби» для здобувачів другого магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»

Укладачі:

Прийма О. Б., кандидат ветеринарних наук, доцент;
Юськів І. Д., доктор ветеринарних наук, професор;
Стибель В. В., доктор ветеринарних наук, професор;
Данко М. М., кандидат біологічних наук, доцент;
Мазур І. Я., кандидат ветеринарних наук, доцент;
Соболта А. Г., кандидат ветеринарних наук, доцент.

Рецензент:

Гутий Б. В., завідувач кафедри гігієни, санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М. В. Демчука,
доктор ветеринарних наук, професор

Друкується за рішенням навчально-методичної ради факультету громадського розвитку та здоров'я Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького від 04 вересня 2023 року, протокол № 1

ЗМІСТ

Мета та завдання практики.....	4
Організація проведення практики.....	5
Структура навчальної практики.....	6
Зміст практики.....	7
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів у тварин, птиці та риби.....	7
Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів у тварин, птиці та риби.....	14
Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об'єктів зовнішнього середовища на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів тварин та птиці.....	17
Тема 4. Паразитологічні методи контролю деяких молочних продуктів, продуктів тваринництва та птахівництва, а також овочів, фруктів, ягід, столової зелені на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.....	22
Методи контролю.....	26
Критерії оцінювання результатів навчання.....	26
Рекомендована література.....	29
Додатки.....	30

1. Мета та завдання практики

Мета практики: закріплення теоретичних знань і оволодіння методологією з загальних питань паразитології, основних інвазійних хвороб та інспектування продуктів забою з метою виявлення інвазій для здійснення державного (внутрішнього) ветеринарно-санітарного контролю в установах різної форми власності.

Завдання практики: Відпрацювати техніку взяття матеріалу та дослідження на гельмінтози, протозоози, акарози та ентомози. Засвоїти основні методи досліджень пасовищ, водойм і об'єктів навколишнього середовища з метою профілактики паразитозів. Провести паразитологічне інспектування рибоводних господарств та паразитологічний розтин риб. Відпрацювати методи основних досліджень, що застосовуються за ветеринарно-санітарного контролю продуктів тваринного походження (дослідження на трихінельоз, опісторхоз, цистицеркози, ценуроз церебральний, ехінококоз ларвальний, дифілоботріоз):

- технікою неповних паразитологічних розтинів;
- методикою дослідження м'яса великої та дрібної рогатої худоби, а також свиней за допомогою ультрафіолетової лампи ОЛД-41 для діагностики цистицеркозів;
- технікою тріхінелоскопії м'яса свиней та інших тварин для діагностики трихінельозу;
- методикою дослідження риби на виявлення личинок гельмінтів;
- методикою збору та фіксації паразитологічного матеріалу;
- методикою фарбування мазків і шкап-препаратів для виявлення найпростіших, важливих щодо ветеринарно-санітарного контролю (токсоплазми, саркоцисти);
- методикою виявлення та диференціювання ларвоцист цестод за післязуб'яного огляду туш великої рогатої худоби, овець, свиней;
- методикою дослідження туш і шкіряної сировини щодо акарозів та ентомозів, важливих у господарському відношенні (демодекоз, саркоптоз, гіподермоз);
- паразитологічним методом дослідження риби;
- технікою ведення журналу паразитологічних досліджень за ветеринарно-санітарного контролю продуктів тваринного походження.

2. Організація проведення практики

Навчальна практика студентів проводиться за безпосереднім керівництвом викладачів.

В обов'язки викладача входить:

- проведення ввідного інструктажу з техніки безпеки та безпосередньо на кожному робочому місці;
- контроль роботи студентів на робочих місцях і надання їм необхідної методичної допомоги;
- проведення підсумків навчальної практики.

Обов'язки здобувачів вищої освіти:

- дотримуватися техніки безпеки, охорони праці та виробничої санітарії;
- виконання завдань, що обумовлені програмою практики;

- нести відповідальність за виконану роботу;
- хід виконання практики зробити запис у щоденник з навчальної практики.

Охорона праці і техніка безпеки при проведенні практики.

Керівник практики звертає увагу студентів на необхідність бути обережними при проведенні діагностичних досліджень, гельмінтологічному розтині тварин та дослідженні об'єктів навколишнього середовища.

Кожний студент в період навчальної практики повинен засвоїти правила поведінки та поводження з тваринами, їх фіксації, а також дотримання техніки безпеки при використанні дослідного та патологічного матеріалу.

3. Структура навчальної практики

3.1. Розподіл навчальних занять за розділами навчальної практики

Назви тем	Кількість годин (ДФЗО)		
	усього	у тому числі	
		пр. з.	с. р.
Розділ 1. Діагностика та комплекс профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо паразитозів овець			
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів овець.	2.5	2	0.5
Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів овець.	2.5	2	0.5
Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об’єктів зовнішнього середовища на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів овець.	2.5	2	0.5
Тема 4. Паразитологічні методи контролю деяких молочних продуктів, продуктів баранини, а також овочів, фруктів, ягід, столової зелені на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.	2,5	2	0.5
Разом за розділом 1	10	8	2
Розділ 2. Діагностика та комплекс профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо паразитозів худоби			
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів худоби.	2.5	2	0.5
Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів худоби.	2.5	2	0.5
Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об’єктів зовнішнього середовища на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів худоби.	2.5	2	0.5

Тема 4. Паразитологічні методи контролю продуктів яловичини.	2.5	2	0.5
Разом за розділом 2	10	8	2
Розділ 3. Діагностика та комплекс профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо паразитозів свиней			
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів свиней.	2.5	2	0.5
Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів свиней.	2.5	2	0.5
Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об'єктів зовнішнього середовища на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів свиней.	2.5	2	0.5
Тема 4. Паразитологічні методи контролю продуктів свинини.	2,5	2	0,5
Разом за розділом 3	10	8	2
Розділ 4. Діагностика та комплекс профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо паразитозів коней			
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів коней.	2.5	2	0.5
Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів коней.	2.5	2	0.5
Разом за розділом 4	5	4	1
Розділ 5. Діагностика та комплекс профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів щодо паразитозів птиці та риби			
Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів у птиці та риби.	2.5	2	0.5
Тема 2. Паразитологічні методи дослідження ставкової риби, риби в садках і басейнах.	2.5	2	0.5
Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об'єктів довкілля на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів птиці.	2.5	2	0.5
Тема 4. Паразитологічні методи контролю деяких молочних продуктів, продуктів птахівництва та рибництва, а також овочів, фруктів, ягід, столової зелені на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.	2.5	2	0.5
Разом за розділом 5	10	8	2
Усього годин (1,5 кредити)	45	36	9

4. Зміст практики

Тема 1. Відпрацювання методів зажиттєвої діагностики ендо- та ектопаразитозів у тварин, птиці та риби.

Лабораторні дослідження проб фекалій.

Щоб виявити дрібніших паразитичних червів, досліджують методом послідовного промивання одночасно всю порцію фекалій, а у великих тварин – частину фекалій. Зібрані фекалії після попереднього огляду кладуть у велику банку, розбавляють 10–кратною кількістю води і ретельно розмішують паличкою. Після 10–15-хвилинного відстоювання верхній шар рідини зливають, а осад знову змішують з водою і відстоюють до осідання гельмінтів, їх фрагментів і важких частинок фекалій. Періодичне промивання і відстоювання фекалій повторюють до прояснення верхнього шару. Верхній шар рідини востаннє зливають, а осад невеликими порціями переглядають в кюветах з чорним і білим дном. Виявлених гельмінтів збирають за допомогою пінцетів, препарувальних голок, переглядають під мікроскопом. Щоб не допустити швидкого висихання та кристалізації крапель на предметних скельцях в теплий період року і при низькій вологості, а також в тому випадку, коли готують велику кількість препаратів для дослідження, до кожної краплі, знятої з поверхні рідини, додають краплю гліцерину, розведеного водою 1:1.

Для дослідження проби фекалій повинні бути свіжовібрані або ті, які зберігалися не більше однієї доби. Для діагностики трематодозів (фасціольоз, дикроцеліоз, парамфістоматидози) проби фекалій досліджують методом послідовного промивання. Нематодози, кокцидіози (еймеріози) у тварин діагностують дослідженням фекалій за методом Фюллеборна, а на диктіокаульоз – проби фекалій досліджують методами Бермана і спрощеної ларвоскопії.

Гельмінтоскопічний метод. При гельмінтоскопії (огляді) фекалій тварин можна виявити гельмінтів або їх фрагменти. Цей метод використовують для виявлення під час огляду фекалій цестод та їх члеників, великих нематод тощо. Щоб виявити дрібніших паразитичних червів, досліджують методом послідовного промивання одночасно всю порцію фекалій, а у великих тварин – частину фекалій. Зібрані фекалії після попереднього огляду кладуть у велику банку, розбавляють 10-кратною кількістю води і ретельно розмішують паличкою. Після 10-15-хвилинного відстоювання верхній шар рідини зливають, а осад знову змішують з водою і відстоюють до осідання гельмінтів, їх фрагментів і важких частинок фекалій. Періодичне промивання і відстоювання фекалій повторюють до прояснення верхнього шару. Верхній шар рідини востаннє зливають, а осад невеликими порціями переглядають в кюветах з чорним і білим дном. Виявлених гельмінтів збирають за допомогою пінцетів, препарувальних голок, переглядають під мікроскопом. Щоб не допустити швидкого висихання та кристалізації крапель на предметних скельцях в теплий період року і при низькій вологості, а також коли готують велику кількість препаратів для дослідження, до кожної краплі, знятої з поверхні рідини, додають краплю гліцерину, розведеного водою 1:1.

Гельмінтоовоскопічні методи.

Метод нативного мазка. На предметне скло наносять краплю рівних частин води і гліцерину та фекалій величиною з горошину, старанно перемішують скляною паличкою. Після видалення твердих частинок фекалій вміст накривають покривним (накривним) скельцем і досліджують під мікроскопом.

Метод послідовного промивання. Пробу фекалій розчиняють у воді (1:20) і додають декілька крапель плинну, ретельно розмішують та проціджують, відстоюють 5 хв. Надосадову рідину зливають, а до осаду додають воду і знову відстоюють. Так повторюють 3-5 разів до повного прояснення рідини. Після чого, надосадову рідину зливають, а осад досліджують під мікроскопом.

Метод Фюллеборна. 5-10 г фекалій поміщають у стакан. Поступово додають насичений розчин кухонної солі до половини стаканчика. Ретельно перемішують. Проціджують через металеве сито чи марлю в інший стаканчик і відстоюють упродовж 40-60 хв. За цей час яйця або ооцисти кокцидій випливають на поверхню рідини. Дротяною петлею з поверхні беруть пробу і у вигляді трьох крапель переносять на предметне скло. Розглядають під мікроскопом. Підраховують кількість яєць. Спливши, яйця гельмінтів та ооцисти найпростіших можуть триматись на поверхні рідини кілька годин, а потім осідають на дно.

Стандартизована методика флотації з розчином нітрату амонію за Котельниковим – Хреновим. Пробу фекалій (3 г) кладуть у склянку, заливають розчином нітрату амонію (1500 г на 1 л води) і розмішують паличкою. При помішуванні додають розчин порціями до об'єму 50 мл. Великі частини, які випливають на поверхню, збирають за допомогою палички або паперу. Потім рідину фільтрують через чисте сито у другу склянку. Профільтровану рідину залишають у спокої 15-20 хвилин. Потім металевою петлею знімають 3-4 краплі з різних місць рідини і переносять на предметне скло для мікроскопії при малому збільшенні для знаходження яєць гельмінтів, ооцист та цист. Металеву петлю перед дослідженням кожної проби фламбують або послідовно промивають водою в двох банках (воду в банках міняють після дослідження 50 проб).

Метод фекалайзер.



1. Відкрийте кришку фекалайзера і круговими рухами витягніть зелену вставку.



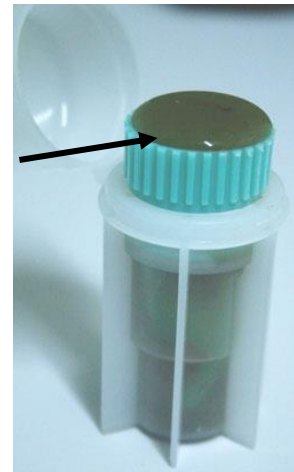
2. Зеленою вставкою наберіть невелику кількість фекалій(1 г, розміром з горошину) до лінії де закінчуються вертикальні розрізи.



3. Вставити зелену вставку з фекаліями у фекалайзер і заповнити флотаційним розчином до вказаної позначки, ретельно перемішуючи.



4. За допомогою піпетки додайте флотаційний розчин до утворення випукло-опуклих бульбашок (менісків) (показано стрілкою).



5. Накрити меніск накривним склом і дати відстояти до 15-20 хв, щоб яйця (ооцисти) сплипли на поверхню.



6. Зняти накривне скло, покласти його на предметне скло та розглядати під мікроскопом.

7. Закрийте кришку фекалайзера та утилізуйте його, щоб запобігти забрудненню навколишнього середовища.

Кількісний метод за М. Тейлором для визначення кількості яєць гельмінтів, ооцист найпростіших та личинок. Даний метод використовується для визначення кількості яєць гельмінтів або ооцист найпростіших в 1 г фекалій. Кількість розраховується за формулою: $ЯГФ / ОГФ = y \times 15/x \times 1,2$, де:

- ЯГФ – кількість яєць гельмінтів або ооцист найпростіших в 1 г фекалій;
- ОГФ – об'єм досліджуваного гною (15 мл);
- y – кількість підрахованих яєць або ооцист;
- x – місткість пробірки (15 мл);
- 1,2 – коефіцієнт корекції.

Модифікований метод Мак-Мастера використовується для визначення ступеня інвазування тварин збудниками паразитарних захворювань. Було описано ряд методів Мак-Мастера, і одним з найбільш часто використовуваних є наступний:

1. Відібрати 3 г калу (або 3 мл у випадку діареї).
2. Змішати фекалії з 42 мл води в пластиковій ємності (за допомогою гомогенізатора або в закупореній пляшці з скляними кульками).
3. Процідити суспензію крізь дрібне сито.
4. Відібрати 15 мл фільтрату, заповнити ним пробірку.
5. Центрифугувати пробірку 2 хвилини при 1500 об/хв.
6. Злити супернатант, струсити осад і заповнити пробірку флотаційним розчином до попереднього рівня.
7. Перевернути пробірку 6 разів, відібрати суспензію піпеткою і заповнити лічильну камеру Мак-Мастера.
8. Кількість яєць або личинок в одній камері помножити на 100 (або на 50, якщо підрахунок проводили у двох камерах).

Скорочений варіант методики: Гомогенізувати 3 г калу з 42 мл флотаційного розчину, процідити суспензію крізь сито і заповнити камеру Мак-Мастера.

Проте, важливо: Отриманий препарат може мати темне забарвлення, що ускладнює виявлення яєць.

Чутливий метод визначення кількості яєць з використанням центрифуги.

1. Відібрати 3 г фекалій, помістити у пластикову ємність та перемішати з 42 мл води.
2. Отриману суспензію процідити крізь дрібне сито.
3. Відібрати 15 мл фільтрату, заповнити ним пробірку.
4. Центрифугувати пробірку 2 хвилини при 1500 об/хв.
5. Злити супернатант, струсити осад і заповнити пробірку флотаційним розчином до попереднього рівня.
6. Помістити пробірку в центрифугу і долити насичений розчин солі до утворення поверхневої плівки у формі опуклої лінзи.
7. Накрити пробірку накривним скельцем 19×19 мм, переконавшись, що під ним немає бульбашок повітря.

8. Центрифугувати пробірку 2 хвилини при 1000 об/хв.

9. Обережно зняти накривне скельце вертикальним рухом.

10. Помістити накривне скельце на предметне скло та підрахувати всі яйця.

Кількість яєць в 1 г калу вираховується за наступною формулою:

$ЯГК = y \times 15/x \times 1,2$ де:

- ЯГК - кількість яєць гельмінтів або ооцист найпростіших в 1 г калу
- y - кількість підрахованих яєць або ооцист
- x - місткість пробірки (15 мл)
- 1,2 - коефіцієнт корекції

Ідентифікація яєць трематод.

Методи, описані нижче, для ідентифікації яєць та личинок більшості нематод, цестод та кокцидій не підходять для виявлення яєць трематод, які мають більшу щільність. Для них потрібно використовувати флотаційні розчини з більшою питомою вагою, зокрема, розчин сульфату цинку ($ZnSO_4$).

Яйця трематод: Великі, овальні, з кришечкою на одному кінці. Забарвлені в коричневий колір. Слід диференціювати від яєць трематод *Paramphistomum*, *Cotylorphoron* та інших, чийі яйця значно світліше за кольором.

Кількісний метод підрахунку яєць трематод з використанням флотаційного розчину цинку сульфату. Процедура аналогічна методу Мак-Мастера, але з використанням $ZnSO_4$ замість $NaCl$.

1. Відбір та гомогенізація: Відібрати 3 г калу (або 3 мл при діареї) і перемішати з 42 мл води в пластиковій ємності. Можна використовувати гомогенізатор або закупорену пляшку зі скляними кульками.

2. Проціджування: Процідити суспензію крізь дрібне сито (250 мкм).

3. Центрифугування: Заповнити 15 мл пробірки фільтратом, струсити. Центрифугувати 2 хвилини при 1500 об/хв.

4. Додавання флотаційного розчину: Злити супернатант, перемішати осад. Додати насичений розчин $ZnSO_4$ до попереднього рівня.

5. Перемішування та заповнення камери: Перевернути пробірку 6 разів. Відібрати суспензію піпеткою і заповнити обидва відділення лічильної камери Мак-Мастера.

6. Запобігання осіданню яєць: Струсити пробірку 6 разів, центрифугувати. Долити $ZnSO_4$ до утворення меніска.

7. Накриття та центрифугування: Накрити пробірку накривним скельцем (19 × 19 мм), уникаючи бульбашок повітря. Центрифугувати 2 хвилини при 1000 об/хв.

8. Зняття накривного скельця: Обережно зняти накривне скельце, злити вміст у пробірку з 10 мл води.

9. Центрифугування та видалення рідини: Центрифугувати 2 хвилини при 1500 об/хв. Видалити надосадову рідину.

10. Переміщення осаду на предметне скло: Перевернути осад (близько 0,1 мл) на предметне скло. Промити пробірку 0,1 мл води і додати до осаду.

11. Підрахунок яєць: Накрити рідину покривним склом (22 × 40 мм). Підрахувати всі яйця.

12. Розрахунок: Кожне яйце відповідає 1 ЯГК (яйцям в грамі калу).

Метод Бермана: Для дослідження фекалій використовують апарат, що складається з лійки, гумової трубки довжиною 10-15 см, сполученої верхнім кінцем з лійкою затискача, закріпленого на нижньому кінці гумової трубки, металевого сита або марлі та штатива. 15-20 г свіжих фекалій кладуть на сито або загортають у марлю, опускають у лійку та заливають теплою водою (35-38°C). Фекалії від ДРХ витримують в апараті 3-6 годин, а від ВРХ та коней - 6-12 годин. Потім затискач на трубці послаблюють, а рідину, що витікає, збирають у пробірку і центрифугують 2-3 хвилини. Після цього верхній шар рідини зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії.

Метод спрощеної ларвоскопії: 5 г свіжих фекалій загортають у марлю або кладуть на ситечко, поміщають в конусоподібний стаканчик (ємністю 30-50 мл) так, щоб фекалії не торкались дна, і заливають теплою водою (37-40 °C). Проби від овець акуратно знімають із стаканчиків через 6 годин, а від ВРХ та коней – через 12 годин. Надосадову рідину через 10-15 хвилин зливають, а осад переносять на велике предметне скло і розглядають під мікроскопом, підраховуючи кількість личинок у препараті.

Метод Вайди: Кілька кульок фекалій від дрібних жуйних тварин кладуть у чашку Петрі або годинникове скло і зволожують теплою водою. Через 15-20 хвилин фекалії видаляють, а рідину, що залишилась, досліджують при малому збільшенні мікроскопа. Ефективність цього методу нижча порівняно з попередніми.

Дослідження мазків крові

Приготування тонкого мазка: Кров у домашніх тварин беруть з вушної вени або вени кінчика хвоста, у птиці - з гребінця або сережок. Місце взяття крові обробляють (вистригають шерсть, протирають спиртом). Вену проколюють стерильною голкою. Для дослідження беруть перші краплі крові, в яких, як правило, найбільше паразитів. Предметним склом доторкуються до краплі крові і під кутом 45° швидко проводять по скельцю другим предметним скельцем (підготовка товстої краплі). Мазок висушують на повітрі і фіксують.

Метод фарбування за Романовським-Гімзою: Для приготування розчину беруть 1-2 краплі основного розчину на 1 мл води. При фарбуванні розчин підливають під препарат, розміщений на спеціальних паличках мазком вниз. Фарбують від 20 хвилин до 1 години. Згодом мазки промивають водою, висушують на повітрі і досліджують під мікроскопом.

Приготування та дослідження розчавленої краплі: Цей метод використовується для спостереження за найпростішими в живому стані. При трипаносомозі кожену краплю крові наносять на чисте предметне скло і накривають покривним. Краплі крові не повинні виходити за краї покривного скла. При трихомонозі великої рогатої худоби досліджують краплину змиву або виділень з статевих органів, сперму. Препарат не фарбують, а досліджують в затемненому полі мікроскопу.

Дослідження зіскрібків шкіри з метою виявлення кліщів (акарозів).

Відбір матеріалу для досліджень. Лабораторні дослідження ґрунтуються на виявленні в зіскрібках зі шкіри, взятих від хворих тварин, кліщів або їх яєць. Зіскрібки слід брати у тварин притупленим скальпелем не менш ніж з 2-3 місць на межі здорової та ураженої ділянок (в цих місцях паразитує найбільша кількість кліщів). Зіскрібки треба робити глибокими (в об'ємі не більш ніж 0,5 см³), щоб у них була сукровиця. Відібраний матеріал досліджують одразу або не пізніше 72 год після взяття зіскрібка.

Матеріал можна досліджувати мортальними методами (виявлення мертвих кліщів) і вітальними (виявлення живих кліщів, личинок та яєць).

Вітальні методи.

Метод дослідження зіскрібків з додаванням рослинної олії: Зіскрібок поміщають у лабораторну чашку і додають подвійну за об'ємом кількість рослинної олії. Кірки ретельно розщеплюють скальпелем і залишають на 10-15 хвилин, а потім досліджують під мікроскопом у висячій краплі.

Метод Алфімової: Зіскрібок шкіри кладуть у лабораторну чашку, накривають її кришкою і поміщають у термостат на 5-10 хвилин при температурі 35-40 °С. Кліщі-свербуни починають активно рухатися на дні чашки, що добре помітно в полі зору мікроскопа.

Метод Приселкової: Зіскрібок шкіри кладуть у лабораторну чашку, перевертають її догори дном і ставлять у такому положенні на джерело тепла для підігрівання до 45 °С. Через 12-15 хвилин з кірок зіскрібка виходять свербуни. Після цього кришку переглядають під мікроскопом або лупою і виявляють живих кліщів.

Метод дослідження зіскрібків шкіри із застосуванням води: Матеріал кладуть в лабораторну чашку та додають 5-8 кратну за об'ємом кількість води. Після ретельного перемішування зіскрібка з водою одержану суміш ставлять на 15 хвилин в термостат при температурі 30-40 °С. Потім лабораторну чашку ставлять на предметний столик мікроскопу і досліджують вміст у затемненому полі зору. Кліщі, які знаходяться у теплій воді, роблять активні рухи кінцівками та хоботком і дуже добре помітні.

Мортальні методи.

Метод компресорного дослідження: Одержаний зіскрібок кладуть на предметне скло. Додають 1-2 краплі 5-10% розчину КОН або NaOH і накривають іншим предметним склом. Під впливом луку кірки розм'якшуються. Внаслідок чого під малим збільшенням мікроскопу при злегка затемненому полі зору стає добре видно свербунових кліщів на різних стадіях розвитку.

Метод мацерації зіскрібків: Пробу шкіри кладуть на предметне скло або в лабораторну чашку. Додають подвійну за об'ємом кількість 10% розчину луку. Змішують і залишають на 25-40 хвилин для розм'якшування і розчинення кірок. Для прискорення дослідження суміш підігрівають до температури 60-70°C. Потім краплю суміші наносять на предметне скло, накривають покривним скельцем і досліджують під мікроскопом.

Метод Добичіна: Зіскрібок шкіри кладуть у пробірку. Додають 1 мл 10% розчину КОН і підігрівують протягом 1-2 хвилин. Через 3-5 хвилин пробірку заповнюють 55% розчином цукру або 60% розчином гіпосульфиту калію. З поверхні розчину металевою петлею беруть краплі і переносять їх на предметне скло, накривають покривним скельцем і досліджують під мікроскопом.

Метод Шика: В центрифужну пробірку кладуть зіскрібок шкіри, додають 10-12 мл 10% КОН і підігрівують при помішуванні протягом 10 хвилин. Після центрифугування протягом 3-5 хвилин розчин луку обережно зливають, а осад наносять на предметне скло і проглядають під малим збільшенням мікроскопу.

Метод просвітлення кірочок у гліцерині за Вайдою (1938): Зіскрібок зі шкіри поміщають у центрифужну пробірку. Заливають 2-3 мл води, підігрівують на водяній бані при температурі 50-60°C протягом 15-20 хвилин. Потім у пробірку доливають гліцерин. Витримують пробу протягом однієї години при кімнатній температурі або центрифугують 15 хвилин при 1000 об/хв. Основна маса кліщів спливає на поверхню рідини. Металевою петлею беруть краплю з поверхневої плівки. Переносять її на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Клінічний огляд тварин на наявність ектопаразитів та діагностика комах (ентомозів).

Виявлення ектопаразитів: Виявлених на шкірі тварин комах-ектопаразитів (вошей, волосоїдів, блох, рунців) збирають у флакони або пробірки для подальшої їх ідентифікації під мікроскопом.

Діагностика гіподермозу: Гіподермоз у великої рогатої худоби діагностують шляхом огляду та пальпації шкіри у ділянці спини та поясиці. У випадку хвороби виявляють обмежену набряклість (жовна) з отворами (норицями) по центру.

Діагностика інших ентомозів: Діагностику ентомозів проводять за допомогою отоскопу, спеціального гребінця для вичісування ектопаразитів, а також клейкої стрічки, яку після щільного контакту з шкірним покривом кладуть на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

Тема 2. Відпрацювання методів посмертної діагностики паразитозів у тварин, птиці та риби.

Принцип посмертної діагностики паразитозів полягає у виявленні паразитів на різних стадіях розвитку в органах і тканинах тварин та птиці. Тому збір паразитів і подальше їх визначення забезпечується розтином паразитологічним.

Види розтину:

- повний паразитологічний розтин тварин і птиці;
- повний паразитологічний розтин окремих органів;
- неповний паразитологічний розтин.

Розтин паразитологічний повний тварин і птиці.

Перший захід: огляд і зняття шкіри. Уважно розглядають новоутворення, нарости, горбки. За правилами патологоанатомічного розтину знімають шкіру, оглядають підшкірну клітковину на наявність паразитів.

Розрізають грудну і черевну порожнини: Витягують всі органи травної, дихальної, кров'яної, сечостатевої систем та інші тканини. Поміщають їх у кювети, відра, тази та інший посуд. Ретельно оглядають черевну і грудну порожнини. Збирають кров з цих порожнин у кювети для промивання. Витягують спинний і головний мозок. Досліджують вміст кон'юнктивальних порожнин. Вилущують очі. Розкривають синовіальні порожнини суглобів і досліджують їх вміст. Розкривають лобні пазухи і носову порожнину. Роблять зіскрібки зі слизових оболонок носових ходів. Оглядають слизову оболонку ротової порожнини. Досліджують окремі групи м'язів на наявність личинок трихінел (свині, коні і інші сприятливі тварини).

Розтинають внутрішні органи і досліджують двома методами: «мокрим» і «сухим»:

«Мокрий» метод: Багаторазове послідовне промивання водою або фізіологічним розчином порожнин внутрішніх органів.

- Дослідження зливу в серії циліндрів.
- Компресорне дослідження зіскрібків.
- Розчавлювання шматочків тканин паренхіматозних органів між скельцями.
- Дослідження матрикса (відмитого вмісту порожнин різних органів) на чорному і білому фоні.
- Дослідження матрикса, зіскрібків і подрібнених тканин за допомогою лупи.

«Сухий» метод: Розчавлювання органів між двома скельцями до прозорості і перегляд їх під лупою.

Дослідження стравоходу: Розрізають ножицями, розглядають внутрішню і зовнішню оболонки, знімають слизову оболонку і досліджують її під лупою.

Дослідження шлунку: Розрізають за великою кривизною. Вміст поміщають в окрему посудину і досліджують за методикою послідовного промивання. Рідину, якою промивають шлунок, досліджують окремо. Зі слизової оболонки беруть зіскрібок.

Дослідження тонких і товстих кишок: Розрізають ножицями на боці, протилежному прикріпленню брижі. Заливають їх разом із вмістом води і відмивають водою. Вміст кожного відділу кишечника досліджують за методикою послідовного промивання. Зі слизової оболонки роблять глибокий зіскрібок.

Дослідження кишок травоядних тварин: Розведений водою вміст кишечника виливають у 5-6 циліндрів і декілька раз по чергово промивають водою.

Дослідження печінки: Поміщають у посуд білого кольору. Відділяють жовчний міхур, розрізають ножицями за ходом жовчних ходів, заливають водою і розминають руками. Отриманий детрит послідовно промивають. Осад досліджують мікроскопічно під лупою.

Дослідження жовчного міхура: Розрізають і заливають водою. Отриману суспензію відстоюють, осад ретельно оглядають на білому фоні.

Дослідження інших органів: Гортань, трахею, великі бронхи (за можливості і легені) розрізають, оглядають і досліджують зіскрібок зі слизової оболонки компресорним методом. Паренхіму легень (розім'яту руками) заливають водою і досліджують методом послідовного промивання.

Статеві органи досліджують методами зіскрібка, послідовного промивання і розчавлювання тканин.

Очі розтинають, повіки, кон'юнктивальний мішок і досліджують методом послідовного промивання.

Мозок (головний і спинний) розрізають на шматочки, розчавлюють і проглядають під лупою.

Серце і великі кров'яні судини розтинають у фізіологічному розчині, досліджують методом послідовного промивання. М'язи серця розрізають на пластинки і проглядають на наявність личинок цистицерків, ларвоцист ехінококів. Вміст грудної і черевної порожнини також досліджують методом послідовного промивання.

Розтин паразитологічний неповний (окремих тканин та органів) тварин і птахів.

Цей метод відрізняється своєю спрощеністю. Він полягає у зборі паразитів, випадково виявлених у тих чи інших органах тварин. Велике значення цього методу полягає в тому, що за допомогою нього легко визначити наявність, екстенсивність та інтенсивність інвазії: при вимушеному забої тварин; під час огляду органів на бойнях; на конвеєрі м'ясокомбінату.

Метод неповного розтину паразитологічного окремих органів застосовують для обліку ураження окремих органів: наприклад, у разі фасціол у печінці, диктіокаул у легенях тощо.

Метод посмертної діагностики дикроцеліозу в овець за І. С. Дахном:

Після забою тварини та зняття шкіри, виймають печінку і кладуть разом із жовчним міхуром на шкіру з боку міздри. Печінку щільно загортають у шкіру і витримують 1,5–2 години. Потім шкіру розгортають, а печінку переносять у посудину для змивання з її поверхні гельмінтів. Трематод, які знаходяться на поверхні шкіри, знімають препарувальною голкою і переносять у посудину з водою. Рідину відстоюють 10 хвилин, верхній шар зливають, а осад порціями досліджують і підраховують кількість гельмінтів.

Метод визначення мігруючих личинок аскарисів із легень та печінки. Легені і печінку поросят окремо ріжуть на дрібні шматочки, загортають у марлеві серветки і закладають в апарат Бермана. Заливають теплою водою температурою 38–40°C і відстоюють протягом 3–6 годин. Далі з пробірок зливають надосадову рідину, а осад досліджують під мікроскопом з метою виявлення личинок аскарисів. У разі виявлення поодиноких личинок аскарисів та стронгілоїд захворювання мігруючою стадією аскарозу та стронгілоїдозу вважають, як вторинний фактор, який не відіграє головної ролі в загибелі поросят.

Паразитологічний розтин риби.

Для дослідження використовують живу або свіжу рибу. Визначають її вид, зважують і вимірюють (для уточнення віку). Потім рибу поміщають у ванночку і починають дослідження.

Зовнішній огляд: Оглядають луску, шкіру, плавці. Збирають знайдених паразитів. Беруть зіскрібки зі слизу шкіри, плавців і оглядають під мікроскопом компресорним методом. Виявляють моногенетичних сисунів з роду *Gyrodactylus*, личинок (метацеркаріїв) трематоди *Metagonimus yokogami*, личинок трематод *Postodiplostomum cuticola*, нематод – філометроїдесів.

Дослідження зябрового апарату: Проводять макроскопічний огляд. Роблять зіскоби і переглядають під мікроскопом. Виявляють моногенетичних сисунів, трикутні яйця сангвінікол.

Розтин риби: Розрізають рибу вздовж серединної лінії від анального отвору до ділянки серця. Вирізають стінку (в основному лівий бік) для огляду внутрішніх органів. Виявляють лігулів, філометроїдесів, личинок дифілоботриїд.

Дослідження внутрішніх органів:

- *Серце:* розтинають, осад мікроскопують. Виявляють статевозрілих сангвінікол й їх личинок – метацеркаріїв.
- *Шлунково-кишковий тракт:* переглядають неозброєним оком, роблять зіскрібки слизу, досліджують компресорним методом. Виявляють трематод, скребликів, стьожкових гельмінтів й їх личинок, личинок нематод.
- *Печінка:* роблять зіскрібки, розрізають, переглядають, беруть кусочки для досліджень компресорним методом. Виявляють личинку *Philometroides lusiana*.
- *Плавальний міхур:* роблять зіскрібок, розрізають, переглядають під мікроскопом. Виявляють личинки нематод – філометроїдесів, інцистовані личинки тетракотил.
- *Нирки:* переглядають під мікроскопом компресорним методом. Виявляють личинки нематод філометроїдесів.
- *Очі:* вирізають, розрізають оболонки, звільняють кришталік і скловидне тіло. Виявляють личинки трематод диплостом.

Тема 3. Обстеження ґрунту, водойм та інших об'єктів зовнішнього середовища на наявність інвазійних яєць та личинок гельмінтів, а також безхребетних – проміжних і резервуарних хазяїв гельмінтів тварин та птиці.

Взяття проб: З поверхні (1–3 см) та глибини (10–60 см) ґрунт відбирають відповідно ложкою/шпателем та лопатою/буром Некрасова. З кожної ділянки беруть 5-10 наважок по 50 г ґрунту по діагоналі (з відстанню між місцями не більше 10 м). Після перемішування наважок відбирають 100–200 г ґрунту, який поміщають в банку з етикеткою (місце взяття, глибина, характеристики ґрунту, рослинність, інші фактори).

Зскрібки відбирають з підлоги, стін, станків, предметів догляду за тваринами та проходів тваринницьких приміщень/вигульних двориків зскрібки відбирають шпателем/совочком. З підлоги роблять зскрібки по діагоналях

(з відстанню не більше 5 м). Зі станків - по діагоналі, але не менше з трьох місць. Зскрібки з одного приміщення/об'єкта об'єднують, перемішують і відбирають 15–25 г для дослідження.

Метод Романенко М. О. і Гуджабідзе Г. Ш. для виявлення яєць гельмінтів у ґрунті. 25 г ґрунту (15 г для пробірки 80-100 мл) помістити в центрифугальну пробірку 250 мл, додати 3% розчин NaOH або KOH у співвідношенні 1:1, перемішати електромішалкою або паличкою 20 хв., залишити на 20-30 хв., центрифугувати 5 хв. при 800 об./хв., злити надосадову рідину, промити ґрунт водою 1-5 разів (до прозорої рідини), додати 150 мл (45 мл для пробірки 100 мл) насиченого розчину NaNO_3 , перемішати і центрифугувати, додати флотаційний розчин до 2-3 мм нижче країв пробірки, накрити предметним склом, залишаючи 10 мм для внесення флотаційного розчину, закрити пробірку предметним склом, через 20-25 хв. зняти скло, перевернути, нанести 50% розчин гліцерину і провести мікроскопію, повторити з другим склом.

Ефективність: 59,6% - 83,1% (в середньому 73,0%). Виявляються: яйця аскарисів, трихурисів, стронгілят (питома вага 1,064 - 1,185).

Для інших гельмінтів (фасціоли, парамфістоми, дикроцелії, макраканторинхуси, питома вага > 1,3): флотаційний розчин нітрату свинцю або суміш нітрату амонію та хлориду цинку (2:1) з щільністю 1,5.

Дослідження проб ґрунту з метою виявлення яєць опісторхісів за Г. О. Котельниковим і Л. О. Кузьменко. Пробу ґрунту вагою 15 г переносять у центрифугальну пробірку об'ємом 150 мл і заливають 3%-ним розчином їдкого калію чи натру у співвідношенні 1:1. Пробу ретельно перемішують і ставлять у шютель-апарат на 40-60 хвилин. Потім пробу залишають у спокої на 20-25 хвилин, а після цього центрифугують 5 хвилин при 800 об./хв. Надосадову рідину зливають, а осад промивають водою від 1 до 5 разів. Після останнього зливання води до осаду додають 100 мл розчину хлориду цинку (щільність 1,5), ретельно перемішують і центрифугують при тих же показниках. Пробірки переносять у штатив і накривають предметними скельцями, обробленими гліцерином, залишаючи отвір, куди додають флотаційний розчин, щоб він доторкався до нижньої поверхні скельця. Після цього скельцем повністю закривають отвір пробірки. Через 25-30 хвилин скельця знімають, перевертають нижню поверхню доверху і проводять мікроскопію. З однієї пробірки досліджують 3-4 скельця. На другому і третьому скельцях виявляється більша кількість яєць опісторхісів, проте вони під час дослідження деформуються.

Дослідження ґрунту з метою виявлення личинок гельмінтів.

Метод Бермана. Пробу ґрунту вагою 20–40 г загортають у марлю і переносять на металеве ситечко або ситечко для молока, яке знаходиться у лійці апарату Бермана. Лійку заповнюють водою, при температурі 40°C до повного занурення проби ґрунту у воду і залишають у спокої на 3– 4 години. Можна апарат Бермана із пробою ґрунту помістити в термостат при температурі 37°C. За цей час живі личинки гельмінтів під дією тепла виходять із ґрунту і опускаються на дно пробірки апарату Бермана. Після цього пробірку відокремлюють від лійки, поверхневий шар рідини зливають, а осад переносять на предметне скло для

мікроскопії. Ефективність дослідження підвищується, коли рідину у пробірці перемішують, переносять у центрифугальну пробірку і центрифугують 3 хв. при 1000 об./хв. Надосадову рідину зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії.

Метод В. С. Борисенко. Використовують з метою виявлення у ґрунті личинок *Strongiloides stercoralis*. Пробу ґрунту вагою 20 г загортають у марлю, переносять до склянки і заливають теплою водою. Через 1.5 години (за цей час личинки виходять із ґрунту у воду) пробу викидають, а осад переносять до центрифугальної пробірки, центрифугують 22 3 хв. при 1000 об./хв. Надосадову рідину зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії. Спосіб не поступається за ефективністю методу Бермана. Метод Гнедіної. Пробу ґрунту вагою 10 г переносять до склянки, заливають водою, ретельно перемішують паличкою зі скла і залишають у спокої на 5 хв. Після цього поверхневий шар рідини зливають в іншу склянку, а до осаду додають нову порцію води і знову відстоюють 5 хв. Промивання ґрунту проводять декілька разів, доки вода у склянці над осадом не буде прозорою. Потім воду, якою промивали ґрунт, переносять до центрифугальної пробірки і центрифугують 3 хв. при 1000 об./хв. Надосадову рідину зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії.

Дослідження водойм з метою виявлення яєць та личинок гельмінтів.

Дослідження проб води за методом З. Г. Василькової: Пробу води переносять у лійку Гольдмана і пропускають через фільтр з діаметром отворів 3–5 мкм або фільтрують за допомогою насоса Камовського. Після фільтрації фільтри переносять на предметні скельця для мікроскопії. З метою підвищення ефективності виявлення яєць гельмінтів роблять зскрібок із фільтра, який переносять на предметне скло у краплю 50%-го розчину гліцерину, накривають покривним скельцем для проведення мікроскопії. Воду можна фільтрувати через лійку Гольдмана з використанням паперового фільтру з подальшим дослідженням осаду. Замість паперового фільтру можна використовувати тканину – ситцеву, бавовняну, бязеву або шовкову. Тканину складають у два шари і кріплять за допомогою гумових кілець до нижнього краю металевої лійки. Після фільтрації води фільтр знімають з лійки, вирівнюють на рівній поверхні кювета і за допомогою предметного скла роблять зскрібки, які переносять у краплю 50%-го розчину гліцерину для мікроскопії. Якщо осад на фільтрі густий, то його переносять у склянку з розчином нітрату натрію (щільність 1,38–1,4) і досліджують за методом флотації. Після взяття зскрібків чи самого осаду фільтр переносять на предметне скло, вирівнюють і переглядають під малим збільшенням мікроскопу з метою виявлення яєць гельмінтів.

При відсутності лійки Гольдмана і фільтрів: Пробу води відстоюють протягом однієї доби. Осад відбирають піпеткою, переносять до центрифугальної пробірки і центрифугують 1–2 хв. при 1500 об./хв. Надосадову рідину зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії.

Дослідження стічної води за методом З. Г. Романенко: У скляний циліндр місткістю 1200–1500 мл поміщають 1 л стічної води і додають один з коагулянтів

– сульфат алюмінію, сульфат заліза або сульфат міді в дозі 0,4-0,6 г/л, ретельно перемішують. Утворені в лужному середовищі стічної води рясні пластівці коагулянту протягом приблизно 40-50 хвилин повністю освітлюють воду, захоплюючи з собою в осад усі зважені частинки, в тому числі і яйця гельмінтів. Потім надосадовий шар води відсмоктують піпеткою або сифоном, а осад переносять у центрифужні пробірки місткістю 250 мл (на пробірку – 1 проба) і центрифугують 3 хвилини при 1000 об/хв. Воду зливають. До осаду додають 2-4 мл 3% розчину соляної кислоти, розчинюючи пластівці коагулянту. Повторно центрифугують, надосадовий шар води відсмоктують. Після цього в пробірки додають 50-100 мл насиченого розчину нітрату натрію, розмішують осад і знову центрифугують 3 хвилини. Потім пробірки поміщають в штатив, доливають піпеткою цей же розчин до утворення опуклого меніска і накривають предметним склом. Через 20-30 хвилин відстоювання скло знімають і проводять мікроскопію. Вміст пробірки перемішують скляною паличкою, знову центрифугують і процедуру повторюють. Рясний осад стічних вод рекомендується попередньо відцентрифугувати 2-3 рази з водою з метою його промивання при 1000 об/хв протягом 5 хвилин і 1 раз промити 0,5-1% розчином луку.

Взяття та дослідження проб гною на наявність яєць та личинок гельмінтів.

Взяття проб: 3 3-5 точок гноєзбірників, гноєвідстійників та інших ємкостей на промислових тваринницьких комплексах пробовідбірником збирають проби з поверхневого, середнього і нижнього шарів. Проби з однієї глибини перемішують, з суміші беруть 500-1000 мл гною, поміщають в поліетиленовий мішок або банку і доставляють в лабораторію, додавши 3-5 крапель толуолу.

Дослідження гною за методикою З.Г. Василькової і В.А. Гефтер з модифікаціями Н.А. Романенко і А.А. Черепанова. За даної методики досліджують щільну (100 г) та рідку (500 або 1000 г) фракції гною. Щільну фракцію змішують з водою, розтирають в ступці і фільтрують через подвійний шар марлі. Фільтрують під напором води, центрифугують 3 хв при 1500 об/хв, зливають надосадову рідину, додають до осаду розчин нітрату натрію і знову центрифугують. До пробірок наливають флотаційний розчин, накривають предметними стеклами і через 20 хв досліджують під мікроскопом. Рідку фракцію після фільтрації досліджують таким же комбінованим методом.

Збір та компресорне дослідження безхребетних, ракоподібних проміжних хазяїв біогельмінтів для виявлення личинок паразитів.

Всі трематоди, цестоди, акантоцефали та деякі нематоди розвиваються за участю проміжних хазяїв. Гельмінтологічні дослідження безхребетних тварин дозволяють виявити основні шляхи циркуляції та фактори передачі збудників інвазійних хвороб у природі, прогнозувати терміни можливого зараження тварин і птиці. Проміжних хазяїв збирають в місцях їх можливого інвазування личинками гельмінтів. Циклопів, дафній та інших збирають сачком, а прісноводних і наземних молюсків – руками, не менше 50 видів із кожного біотопу. Здобувачі вищої освіти визначають рід або вид безхребетних і досліджують їх

компресорним методом, рідко в краплі води (орібатидних кліщів) за допомогою мікроскопа.

Дослідження молюсків: Тіло молюска звільняють від раковини, поміщають в чашку Петрі або кювету і розчленовують на окремі частини. Верхню частину раковини, де розташована печінка і в якій розвиваються личинки, досліджують компресорним методом. Дрібних молюсків можна досліджувати компресорним методом навіть в раковині. Під мікроскопом виявляють личинок трематод на різних стадіях розвитку: церкарії нагадують пуголовків, метацеркарії – округлої форми.

Дослідження мурашок як додаткових хазяїв дикроцеліуму: Мурашки є додатковими хазяїнами дикроцеліуму. Інвазованих метацеркаріями дикроцеліуму мурашок знаходять біля мурашників та на рослинах. Для дослідження збирають задубілих мурашок. Метацеркарії локалізуються в черевці, рідше в голові та грудях. Черевце мурашки відсікають скальпелем, а потім під мікроскопом в краплі води розщеплюють голками.

У черевці мурашок іноді знаходять до 100 метацеркарій. Метацеркарії овальної форми, середніх розмірів. У фізіологічному розчині або розчині Рінгера личинка може самовільно звільнитися від цисти.

Дослідження вищих і нижчих ракоподібних: Бокоплави (гамаруси) - це великі рачки (до 20 мм завдовжки), які є проміжними хазяями збудників цестодозів (гіменолепідозів), спіруратозів птиці (тетрамерозу, стрептокарозу і поліморфозу). Вони живуть у водоймах з прісною і солоною водою. Інвазійні личинки поліморфуса мають оранжевий колір і овальну форму, а личинки стрептокари і тетрамера - черв'якоподібні.

Водяні ослики (до 15 мм завдовжки) - проміжні хазяї збудника філікольозу птиці, що живуть у прісноводних водоймах. Їх інвазійна личинка має овальну форму.

Дафнії (до 5 мм завдовжки) - проміжні хазяї збудників тетрамерозу і ехінуріозу птиці, які живуть у мілких водоймах.

Циклопи – дрібні ракоподібні (1-4 мм), проміжні хазяї гіменолепідозів качок і гусей. Їх інвазійна личинка (цистицеркоїд) має округлу форму з хвостовим придатком.

Дослідження дощових черв'яків: Дощові черви, які мешкають в перегної та вологому ґрунті, є проміжними хазяями збудника метастронгільозу свиней. Їх досліджують компресорним методом, розчавлюючи передню частину тіла черва та знаходячи інвазійних личинок.

Дослідження жуків: Жуки, їх личинки та лялечки (жук-носоріг, гнойовик, жужелиця, хрущ та ін.), що живуть в гної та ґрунті, є проміжними хазяями збудника макраканторинхозу свиней. Їх досліджують розтином, розрізаючи черевце жука маленькими гострокінечними ножицями та досліджуючи вмістиме. Інвазійні личинки помітні візуально, мають довжину до 5 мм та овальну форму.

Дослідження мух родини *Muscidae*: Дослідження мух родини *Muscidae*: Мухи живуть на пасовищах, літніх таборах для тварин і є проміжними хазяями збудників телязій жуйних і коней. Молоді личинки локалізуються в черевці мухи,

інвазійні – в голові, хоботку. Мух збирають на тваринах, поміщають на предметне скло спинкою догори і розкривають під малим збільшенням мікроскопа. Роблять надриви покриву тіла по колу і видаляють спинний щиток. Потім обрізають покрив по краях черевця і, відшаровуючи його від нутроців, також видаляють. Травний тракт за допомогою препарувальної голки обережно витягують і переносять в краплю 50% водного розчину гліцерину, розчавлюють, вміст мікроскопують з метою виявлення яєць та личинок гельмінтів.

Дослідження комарів родини Culicidae: Комарі роду *Aedes* є проміжними хазяями сетарій жуйних і коней. Личинки сетарії розвиваються в грудях, а інвазійні знаходяться в хоботку комара (нижній губі). Комарі видів *Culex pipiens*, *Ae. cospius* є проміжними хазяїнами дирофілярії (*Dirofilaria repens*). Інвазійні личинки знаходяться в хоботку комара, рідше в грудних м'язах і мальпігієвих судинах. Комарів збирають на тваринах, поміщують в краплю фізіологічного розчину і розтинають голками.

Дослідження мошок родини симуліїд проводять таким же чином, як і комарів. У хоботку і голові мошок зустрічаються мікроонхоцерки. Личинки рухомі, вони мають стравохід, кишечник, нервово кільце.

Дослідження панцирних кліщів. Кліщі родів *Sheloribates*, *Zygoribatula*, *Ceratozetes* є проміжними хазяїнами монієзій та інших цестод родини аноплоцефалід травоядних. Для дослідження відбирають поверхневі шари з мохом та підстилкою із рослинних залишків. Кліщів виділяють за допомогою апарату Тульгрена, розміщують на предметному склі в краплі води і досліджують під мікроскопом. Панцир кліща розщеплюють тонкими ентомологічними голками, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом. В тілі кліщів на різних стадіях розвитку зустрічаються личинки цестод. Цистицеркоїди монієзії та інших аноплоцефалід мають округлу форму, в цисті знаходиться сколекс з чотирма присосками і шийка. Вони дуже ніжні, тому не слід використовувати метод компресорного дослідження кліщів.

Тема 4. Паразитологічні методи контролю деяких молочних продуктів, продуктів тваринництва та птахівництва, а також овочів, фруктів, ягід, столової зелені на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.

Дослідження молочних продуктів (молока, сиру, масла) на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.

Молоко та молочні продукти можуть бути забруднені яйцями і личинками гельмінтів та паразитичними найпростішими, які паразитують у тварин. У молоко потрапляють із забруднених дійок та вим'я тварин личинки стронгілоїдесів, стронгілат, яйця неоскарисів, які дуже небезпечні для людини. Крім того, існує лактаційний шлях виділення личинок гельмінтів із організму тварин. Також молочні продукти можуть бути забруднені яйцями та личинками гельмінтів, які паразитують у людей, що працюють на фермах, молокозаводах, в сфері переробки та торгівлі. Це можуть бути яйця аскарисів, трихурисів, гостриків, ціп'яків карликового, бичачого, свинячого, личинками стронгілоїдесів та інші.

Дослідження молока. До проби молока 200-300 мл від корови та 20-50 мл

від кози чи вівці додають дистильовану воду у співвідношенні 1:1. Від загальної проби відбирають таку кількість молока, яка поміщається у центрифугальну пробірку і центрифугують 10 хв при 3000 об/хв. Після цього надосадову рідину зливають, а осад переносять на предметне скло для мікроскопії та виявлення личинок гельмінтів. За іншим способом до осаду додають флотаційний розчин нітрату натрію, ретельно перемішують і залишають у спокої. Через 15 хв знімають поверхневу плівку на предметне скло для мікроскопії. З метою виявлення личинок стронгілоїдесів та інших гельмінтів беруть пробу молока, розбавляють дистильованою водою, як у першому випадку і фільтрують через молочний фільтр. В подальшому молочний фільтр досліджують під мікроскопом.

Дослідження кисломолочного сиру. Пробу сиру переносять у банку, заливають водою у співвідношенні 1:10 і ретельно розмішують 4-6 разів через кожні 30 хвилин протягом 5 хвилин, а потім залишають у спокої на 1-1,5 години. Надосадову рідину зливають, а осад переносять у центрифугальну пробірку і центрифугують 5-10 хвилин при 3000 об/хв. Знову зливають надосадову рідину, осад переносять до склянки об'ємом 50-100 мл, заливають флотаційним розчином нітрату натрію і залишають у спокої на 20-30 хвилин. Поверхневу плівку знімають дрюткою петлею на предметне скло для мікроскопії.

Дослідження вершків проводять аналогічно до дослідження кисломолочного сиру, але з однією відмінністю: флотаційний розчин підігрівають до 37-38 °С з метою відокремлення яєць гельмінтів від жиру. Для диференціації яєць гельмінтів від зерен крохмалю на предметне скло до проби додають краплю 35% розчину Люголя на гліцерині. Зерна крохмалю при цьому фарбуються у синій колір.

Дослідження продуктів тваринництва на наявність яєць, личинок гельмінтів та найпростіших.

Сільськогосподарські та дикі тварини часто слугують джерелом збудників зоонозів для людей. Вживання незнезаражених продуктів, особливо м'ясних, може призвести до зараження людей небезпечними гельмінтами. Своєчасне виявлення личинок збудників у цих продуктах попереджує розвиток захворювань. З метою їх діагностики застосовують дослідження, які розглядаються нижче.

Дослідження м'язів великої рогатої худоби на виявлення цистицерків за допомогою люмінесцентної лампи ОЛД-41: Цистицерки у великої рогатої худоби найчастіше локалізуються в м'язах: жувальних, язика, серця, міжреберних, шийних, діафрагми, плеча, стегна та інших. При генералізованій формі уражаються майже всі м'язи і паренхіматозні органи. Бичий цистицерк – міхуроподібна личинка розміром з рисове зерно або горошину, всередині якої знаходиться ввернута головка з присосками та прозора рідина.

Під час експертизи туш, окрім загального огляду мускулатури і серця, роблять по два розрізи зовнішніх масетерів і по одному – внутрішньому масетеру, один-два поздовжніх і один поперечний (не наскрізний) розрізи м'язів серця, а також додатково – по два паралельних розрізи шийних м'язів у вийній ділянці, лопаточно-ліктевих, спинних, тазової кінцівки і діафрагми. Огляд проводять у темному приміщенні за допомогою люмінесцентної лампи ОЛД-41 на виявлення

личинки цистицерків, які світяться темно-вишневим або червоним світлом. Ефективність лампи досить висока, особливо при огляді фаршу. При заморожуванні м'яса личинки гинуть, але продовжують світитися, тому визначити їх життєздатність за допомогою лампи неможливо. Під час варіння м'яса люмінесценція личинок припиняється через 80–90 хвилин. Якщо на 40 см² розрізів м'язів туші знаходять більше трьох живих або мертвих фін, тушу, голову і внутрішні органи, крім кишечника, направляють на утилізацію. Внутрішній і зовнішній жир знімають і направляють на перетоплення для харчових цілей.

Дослідження м'яса на трихінельоз.

Метод компресорної трихінелоскопії: З ніжок діафрагми (або інших м'язів) беруть 2 проби по 80 г. З кожної проби роблять 12 зрізів (всього 48). Зрізи стискають у компресорії та досліджують під мікроскопом. Личинки трихінел мають спіралевидну форму та закручені в капсули. Форма капсул може бути лимоноподібною, овальною (у домашніх тварин та людей) або круглої (у диких тварин). Зрізи з мороженого, посоленого та копченого м'яса перед дослідженням фарбують метиленою синькою.

Метод перетравлення м'язів у штучному шлунковому соці: Використовується для більш точної діагностики трихінельозу та диференціації личинок трихінел від саркоцист, мікрофін тощо. Застосовується для дослідження свіжих м'язів, а також м'ясних продуктів (ковбас, котлет, солонини, копченостей тощо). Дослідження проводять від однієї туші або різної їх кількості: В умовах м'ясопереробних підприємств: від 10, 50, 100. Від 100 свинячих туш: відбирають 100 проб м'язів ніжок діафрагми. З кожної проби беруть 1 г м'язів, роблять фарш і поміщають у 2-літрову хімічну склянку з теплою водою. До фаршу додають 10 г свинячого пепсину та 16 мл 25%-ної соляної кислоти. Перетравлення проводять у магнітній мішалці при 44-46 °С протягом 30 хвилин. Перевар проціджують, фільтрують і відстоюють протягом 30 хвилин, згодом 40 мл осаду відбирають у мірну склянку і знову відстоюють, далі 30 мл надосадової рідини зливають, а 10 мл осаду досліджують під мікроскопом. Якщо личинку трихінел знайдено в осаді збірної проби, дослідження проводять від кожних 10 туш, а при необхідності – від кожної з 10 туш. На м'ясокомбінатах використовують апарати АВТ та АВТ-У, які працюють за принципом перетравлення проб м'язів у штучному шлунковому соці.

Прискорений метод переварювання м'язів в штучному шлунковому соці за Володимировою П. А. 10 г м'язів подрібнюють на м'ясорубці, поміщають у стаканчик або банку, заливають 250 мл штучного шлункового соку (пепсин медичний 3 г, соляна кислота 1 г, вода 100 мл), ретельно перемішують і ставлять у термостат при температурі 42-47 °С. Через 4-5 годин верхній шар обережно зливають, а осад наносять на стекла тонким шаром і досліджують під мікроскопом.

Дослідження овочів, фруктів, ягід, столової зелені на наявність яєць і личинок гельмінтів та найпростіших.

Овочі, фрукти, ягоди та столову зелень часто вирощують на земельних ділянках, які удобрюють перегноєм. Це може призвести до забруднення їх

життєздатними яйцями гельмінтів, насамперед аскарид та волосоголовців. Люди заражаються при вживанні в їжу таких забруднених яйцями гельмінтів продуктів.

Дослідження осаду, отриманого від промивання овочів, фруктів і ягід за методом М. О. Романенко: На пробу беруть 0,5-1 кг овочів (ягід, фруктів) або 100-200 г зелені, заливають водою в скляній банці і залишають на кілька годин або до наступного дня. Потім ретельно струшують протягом 10-15 хвилин вручну або на спеціальному апараті. Якщо на овочах є тонкий шар землі, їх можна протерти жорсткою щіткою в тій же банці. Після видалення овочів змивну воду з осадом переливають в скляний циліндр, відстоюють протягом години. Осад досліджують, як ґрунт, використовуючи в обох випадках метод М. О. Романенко.

Дослідження овочів, фруктів і ягід за методом З. Г. Василькової: 5-10 штук овочів, фруктів чи 100-200 г зелені заливають водою на кілька годин у скляних банках з притертими пробками в бідонах. Потім овочі в цих же банках струшують протягом 10-15 хвилин, обмивають у чистій порції води, після чого всі змивні води фільтрують через попередні фільтри в апараті Гольдмана. Фільтри досліджують під мікроскопом у вологому вигляді. При забарвленні фільтрів 25% розчином Люголя в гліцерині навіть безбарвні яйця гостриків набувають коричневого кольору і легко розпізнаються серед крохмальних зерен синього кольору.

Дослідження проб овочів і зелені на личинки нематод методом Бермана: Проби зелені в кількості 250-500 г промивають у воді протягом 24 годин. Воду зливають в апарат Бермана, а осад досліджують під мікроскопом.

5. Методи контролю

Поточний контроль здійснюється на кожному практичному занятті відповідно до конкретних цілей поточної теми. На всіх практичних заняттях проводиться об'єктивний контроль теоретичної підготовки та контроль засвоєння практичних навичок у вигляді усного опитування. Темі контролюється на заняттях (початковий контроль – як рівень готовності до проведення практичних занять та кінцевий – рівень знань та умінь, що набуті). При засвоєнні кожної теми розділу за поточну навчальну діяльність здобувачам вищої освіти виставляються оцінки за чотирибальною шкалою. Контроль та оцінювання самостійної роботи здобувачів вищої освіти, яка передбачена поряд з аудиторною роботою, здійснюється під час поточного контролю теми. Видами контрольних заходів є: поточний контроль. Контрольні заходи завершуються семестровим заліком.

6. Критерії оцінювання результатів навчання

Після закінчення навчальної практики здобувач вищої освіти повинен закріпити теоретичні знання з основних захворювань тварин, включаючи характеристику збудників, цикл їх розвитку та опис захворювання. Здобувач вищої освіти також повинен знати принципи проведення епізоотологічного аналізу та особливості біологічних циклів збудників з метою правильного спрямування діагностики та розробки комплексу профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів. Крім того, здобувач вищої освіти повинен вміти здійснювати відбір патологічного матеріалу, його фасування, маркування та транспортування до лабораторії, проводити дослідження патологічного матеріалу з метою виявлення та ідентифікації збудника, проводити профілактичні обробки, складати акти про проведені обробки. Також здобувач вищої освіти повинен вміти працювати в команді, вести звіт (щоденник) навчальної практики, в якому записувати аналізовані дані досліджень і висновки, підготуватися до захисту звіту (щоденника).

Навчальна практика «Паразитологія та інвазійні хвороби тварин» оцінюється за 100-бальною шкалою і формується з рейтингу виконання практичної роботи, з наступним усним опитуванням, оформлення, написання і захисту щоденника (таблиця 1).

Таблиця 1

Види робіт	Максимальна кількість балів
Виконання програми практики і набуття практичних навичок	45
Оформлення звітної документації практики	10
Захист звіту (щоденника)	45

Оцінювання практичної роботи і усне опитування здобувачів вищої освіти здійснюється з кожної теми навчальної практики за традиційною 5-бальною системою («відмінно» – 5, «добре» – 4, «задовільно» – 3, «незадовільно» – 2) з подальшим перерахунком оцінок у багатобальну шкалу. Сума оцінок за практичну роботу і усне опитування кожної теми $\times$ кількість тем навчальної практики ($5 \times 9 = 45$ балів).

Оформлення звіту (щоденника) навчальної практики залежно від змістовності опрацьованих тем, наявності ілюстрацій, аргументованості висновків оцінюється від 1 до 10 балів.

Критерії оцінювання оформлення звіту (щоденника) навчальної практики такі:

9–10 балів – теми навчальної практики опрацьовані в повному обсязі, результати виконаних завдань (досліджень) і висновки характеризуються логічністю викладу практичних знань. Записи у звіті (щоденнику) лаконічні, доповнені рисунками, оформлені охайно.

7–8 балів – результати окремих виконаних завдань (досліджень) є недостатньо змістовними, а висновки аргументовані. Записи у звіті (щоденнику) лаконічні, доповнені рисунками, оформлені охайно, інколи зустрічаються орфографічні помилки.

5–6 балів – всі теми навчальної практики описані в звіті (щоденнику), але зміст окремих тем не відповідає вимогам, результати виконаних завдань (досліджень) і висновки окремих тем не мають логічного викладу практичних знань.

1–4 бали – звіт (щоденник) оформлений неохайно, записи більшості тем відсутні, результати виконаних завдань (досліджень) і висновки не відповідають програмі навчальної практики.

Захист звіту (щоденника) оцінюється в балах від 1 до 45 з урахуванням виконання програми навчальної практики, відповідей здобувача вищої освіти на поставлені запитання, оформлення звіту (щоденника). Критерії оцінювання захисту навчальної практики такі:

35–45 балів – здобувач вищої освіти грамотно, логічно і бездоганно відповідає на всі поставлені практичні питання при захисті звіту (щоденника) навчальної практики; виявляє глибокі практичні знання з усього курсу; вміє застосовувати здобуті теоретичні знання у всіх видах практичної діяльності.

25–34 бали – здобувач вищої освіти вільно відповідає на всі поставлені практичні питання при захисті звіту (щоденника) навчальної практики, але у відповідях не може вийти за межі теми; порушена послідовність висвітлення алгоритму доповіді.

15–24 бали – здобувач вищої освіти при захисті звіту (щоденника) навчальної практики відповідає не на всі поставлені практичні питання, його знання зазвичай мають загальний характер; він слабо використовує набуті вміння у практичних ситуаціях; відсутня послідовність у відповіді, наявні помилки в паразитологічних термінах.

1–14 балів – здобувач вищої освіти нездатний аналізувати, узагальнювати, порівнювати, систематизувати всі поставлені практичні питання при захисті звіту (щоденника) навчальної практики; рівень знань паразитологічної термінології не дає змогу сформулювати відповідь; всі практичні навички на рівні розпізнавання.

Переведення підсумкових рейтингових оцінок з навчальної практики, виражених у балах за 100-бальною шкалою, у оцінки за національною шкалою та шкалою ECTS здійснюється відповідно до таблиці 2 і заноситься в додаток до диплому фахівця.

Таблиця 2

За 100– бальною шкалою	За національною шкалою	За шкалою ECTS
	Залік	
90 – 100	Зараховано	A
82 – 89		B
74 – 81		C
64 – 73		D
60 – 63		E
35 – 59	Незадовільно (незараховано) з можливістю повторного складання	FX
0 – 34	Незадовільно (незараховано) з обов’язковим повторним вивченням дисципліни	F

7. Рекомендована література

Основна

1. Глобальна паразитологія: підручник / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус, В.О. Євстаф'єва, М.В. Галат; за ред. В.Ф. Галата. Київ: ДІА, 2014. 568 с.
2. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин: Підручник. / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус; За ред. В.Ф. Галата. К: Вища освіта, 2003. 464 с.
3. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин: підручник. 2-ге вид., переробл. та допов. / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус; за ред. В.Ф. Галата. К: Урожай, 2009. 368 с.
4. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин: Практикум / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус; За ред. В.Ф. Галата. К: Вища освіта, 2004. 238 с.
5. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин: Практикум (для самостійної роботи) / Ю.О. Приходько, С.І. Пономар, О.В. Мазанний, О.В. Нікіфорова, А.А. Антіпов, В.П. Гончаренко; За ред. Ю.О. Приходька, С.І. Пономаря. Біла Церква, 2011. 313 с.

Допоміжна

1. Атлас гельмінтів тварин / І.С. Дахно, А.В. Березовський, В.Ф. Галат та ін К.: Ветінформ, 2001. 118 с.
2. Гельмінтози жуйних тварин / В.В. Стибель, О.А. Сварчевський, М.М. Данко, Р.І. Тафійчук, О.В. Федорова, Ю.В. Лобойко, Р.Л. Ковальчук. Львів: Сполом, 2011. 197 с.
3. Інвазійні хвороби коней: Навчальний посібник / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус; За ред. В.Ф. Галата. К.: НАУ, 2008. 154 с.
4. Інвазійні хвороби свиней: Навчальний посібник / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, Н.М. Сорока, М.П. Прус; За ред. В.Ф. Галата. К.: НАУ, 2006. 94 с.
5. Інвазійні хвороби риб. Навчальний посібник / В. В. Стибель, А. В. Березовський, Ю. Ю. Довгій [та ін.]. Житомир: Полісся, 2016. 142 с.
6. Стибель В.В. Гельмінтози свиней. Львів: СПОЛОМ, 2004. 160 с.
7. Юськів І.Д. Ветеринарна протозоологія: Навч. посіб. / За ред. К.В.Секретарюка. Львів: Каменярь, 1997. 142 с.
8. Юськів І.Д. Акарологічні дослідження тварин та акарициди: Навч.-практ. посібник. Львів: Каменярь, 1998. 95 с.

8. Додатки

Додаток 1

Титульний лист щоденника навчальної практики

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького
Факультет громадського розвитку та здоров'я
Спеціальність 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза»
Кафедра паразитології та іхтіопатології

Щ О Д Е Н Н И К

навчальної практики здобувача вищої освіти

(Прізвище, ім'я по батькові)
групи _____ курсу

Місце практики
(найменування установи)

Додаток 2

Форма записів у щоденнику навчальної практики

№ з/п	Дата	Назва теми та її виконання	К-сть годин	Оцінка
1	2	3	4	5

Додаток 3

Результати копроскопічного обстеження тварин господарства ..., проведеного студентами ... групи, ____ курсу факультету ветеринарної медицини під керівництвом (прізвище викладача, дата дослідження)

№ з/п	Вид, стать тварини	Кличка або інвентарний номер	Вік	Результати досліджень	Примітки
1	2	3	4	5	6

Додаток 4

Результати копроскопічного обстеження тварин, які належать жителям села ..., проведеного студентами ... групи, ____ курсу, факультету ветеринарної медицини під керівництвом (прізвище викладача, дата дослідження)

№ з/п	Вид, стать тварини	Вік	Власник	Результати досліджень
1	2	3	4	5

Додаток 5

Результати компресорного дослідження зіскрібків шкіри тварин проведеного студентами ... групи, ____ курсу, факультету ветеринарної медицини під керівництвом (прізвище викладача, дата дослідження)

№ з/п	Вид, стать тварини	Кличка або інвентарний номер	Вік	Результати досліджень	Примітки
1	2	3	4	5	6

Додаток 6

*Результати гельмінтологічного обстеження безхребетних
(під мікроскопом), проведеного студентами ... групи ____ курсу, факультету
ветеринарної медицини під керівництвом (прізвище викладача, дата
дослідження)*

№ з/п	Клас	Рід або вид	Кількість		Місце збору	Результати досліджень
			досліджених	уражених		
1	2	3	4	5	6	7

Додаток 7

*Протокол розтину паразитологічного риби проведеного
студентами ... групи, ____ курсу, факультету ветеринарної медицини
під керівництвом (прізвище викладача, дата дослідження)*

Дата дослідження _____

Водойма і місце вилову риби _____

Назва риби _____

Вік риби _____

Розмір риби: висота, довжина, обхват _____

№ з/п	Назва досліджуваного органу	Кількість паразитів і попереднє визначення виду	Остаточне визначення виду паразитів	Примітки
1	2	3	4	5
1	Кров			
2	Луска			
3	Шкіра			
4	Плавці			
5	Очі			
6	Ротова порожнина			
7	Зябра			
8	Порожнина тіла			
9	Серце			
10	Печінка і підшлункова залоза			
11	Шлунково-кишковий тракт			
12	Плавальний міхур			
13	М'язова тканина			