

Учреждение образования
« Пинский государственный аграрный технологический колледж»

Рассмотрено на заседании
цикловой комиссии
ветеринарных предметов
Протокол №__ от ____
Председатель ЦП ____ Е.А.Диковицкая

Предмет «Паразитология и инвазионные болезни животных»

Учебная практика № 1

Тема: «Лабораторная диагностика гельминтозов животных»

Цель: научиться проводить взятие проб экскретов. Оформлять сопроводительные документы для отправки проб в лабораторию. Проводить копроскопические исследования различными методами. Проводить гельминтологическое вскрытие печени

Время: 6 часов

Место проведения: учебная аудитория

Дидактическое и методическое обеспечение: пробы кала животных, пробирки, воронки, ситечки, насыщенный раствор соли, вода, вата, марля, шпатели, центрифуги, стекла предметные и покровные, микроскопы, мини-плакаты №1,2,3, муляжи, макро- и микропрепараты

Охрана труда и пожарная безопасность: согласно инструкции

Порядок и последовательность выполнения работы

1. Внеурочная подготовка

- 1.1. Изучите теоретический материал по теме «Диагностика гельминтозов» (учебник А.И. Ятусевич «Паразитология и инвазионные болезни животных» стр. 17-22)
- 1.2. Подготовьте рабочую тетрадь к выполнению работы, оденьте спецодежду (халат).
- 1.3. Изучите инструкцию по охране труда.

2. Работа в лаборатории

- 2.1 Пройдите входной контроль (устный опрос).
- 2.2. Изучите методические рекомендации.
- 2.3. Выполните задания:
 1. Ознакомьтесь с методикой отбора проб фекалий у животных для копрологических исследований, почвы и воды открытых водоемов на наличие яиц гельминтов, промежуточных хозяев трематод
 2. Составьте сопроводительный документ для отбора проб фекалий, взятых у животных для копрологического исследования
 3. Проведите макроскопическое исследование проб фекалий животных
 4. Проведите исследование кала методом нативного мазка
 5. Проведите исследование кала методом флотации Кофоида-Барбера в модификации Фюллеборна.
 6. Проведите исследование кала методом последовательных промываний.
 7. Проведите исследование кала методом Бермана
 8. Изучите сроки проведения массовых копрологических исследований для диагностики на отдельные инвазионные болезни у жвачных животных.
 9. Проведите гельминтологическое вскрытие печени.
- 2.4. Пройдите выходной контроль (тестирование).
- 2.5. Приведите рабочее место в порядок.

3. Вопросы входного контроля:

- 3.1. Как проводится отбор копрологического материала?
- 3.2. Что такое гельминтоскопия? Как она проводится?
- 3.3. Что такое гельминтоовоскопия?
- 3.4. Как проводится гельминтоовоскопия методом последовательных промываний?
- 3.5. В чем сущность флотационных методов?
- 3.6. Что такое гельминтолارвоскопия?
- 3.7. На чем основаны методы гельминтоларвоскопии?
- 3.8. Как проводят исследования методом Бермана-Орлова?

Разработали преподаватели

Е.Н.Корнейчук

К.Ю.Литвинчук

4. Методические указания по выполнению работы

Задание 1. Ознакомьтесь с методикой отбора проб фекалий у животных для копрологических исследований, почвы и воды открытых водоемов на наличие яиц гельминтов, промежуточных хозяев трематод

Отбирают *пробы кала* у животных из одного стада, станка или же стаи с учетом числа животных в группе. Если количество животных в группе менее 100, кал берут не менее чем от 20 животных; в группе с числом животных от 101 до 500 - 10%; с числом животных от 501 до 1000 - 5% и свыше 1000 - 2% животных. Кал берут из прямой кишки животного. От каждой головы крупного рогатого скота берут 50 г кала, овец, коз и свиней - 20 г, домашней птицы и кроликов — 10 г. Отобранные пробы смешивают, получая объединенную пробу. В случае проведения исследований кала от каждого животного смешивание проб не производят.

В дальнейшем пробы фекалий помещают в кульки из пергаментной бумаги, полиэтиленовые или целофановые пакетики, пенициллиновые флакончики или баночки, оформляется сопроводительный документ, где указывается название хозяйства, фермы, вид животного, его возраст, цель исследований, дату и заверяется подписью ветспециалиста.

Проба почвы с обследуемого участка берется с поверхности и глубины 10-20 см в нескольких местах и тщательно перемешивается. Средняя проба, подлежащая исследованию, должна быть массой 50-100 г.

Пробы воды открытых водоемов для исследования берут 0,5-5-10 л воды и процеживают через планктонную сетку или фильтровальную бумагу. С фильтра осадок соскабливают острым скальпелем или безопасной бритвой, смешивают с каплями 5%-ного раствора глицерина.

Сбор промежуточных хозяев гельминтов (моллюсков, дождевых червей, насекомых, ракообразных и паукообразных) имеют дополнительное значение в изучении распространения гельминтозов, выявлении гельминтологической ситуации, прогнозировании паразитозов и т.д.

На наличие малого прудовика осматривают прибрежную часть водоемов, берега, растительность, дно у берега водоемов на глубину до 20 см. Определяют плотность популяции из расчета на 1м². Обследование пастбищ проводят в теплое время года при температуре воздуха не ниже 20°C. Планорбид(катушка) отыскивают в мелиоративных каналах, небольших водоемах, богатых травянистой растительностью, с дерново-глинистыми и перегнойно-иловато-глеевыми почвами. Моллюсков, собранных в одном биотопе, помещают в отдельную банку, на дно которой кладут увлажненную фильтровальную бумагу или зеленые листья (воду не наливать!). В банку кладут этикетку из плотной бумаги, на которой простым карандашом указывают дату и место сбора материала, вид и количество собранных моллюсков, номер пробы и фамилию специалиста. Банки, закрытые капроновыми крышками, срочно доставляют в лабораторию для исследования.

Задание 2. Составьте сопроводительный документ для отбора проб фекалий, взятых у животных для копрологического исследования.

В сопроводительном документе указывается куда направляется отобранный материал, место отбора проб, вид животного, которое исследуется, его возраст, цель исследований, дату взятия проб и другие сведения. Заверяют документ подписью ветспециалиста, который проводил отбор проб материала для исследования (приложение 1).

Задание 3. Проведите макроскопическое исследование проб фекалий животных.

Учащиеся разбиваются на группы по 2-4 человека и проводят исследования проб фекалий животных согласно методике, соблюдая правила работы с лабораторным оборудованием.

Методика проведения макроскопического исследования. Исследование начинают с осмотра всех фекалий, выделившихся при дефекации, невооруженным глазом или с помощью лупы. В свежевыделенных фекалиях обнаружение живых подвижных гельминтов или их фрагментов не представляет труда (в более поздние сроки вследствие выхода гельминтов из фекалий, подсыхания и гибели их выявление затрудняется). Затем проводят метод отстаивания.

Методика проведения метода отстаивания. В высоких стеклянных банках (простоквашницах) смешивают фекалии с водой в соотношении 1:10-1:20, отстаивают 5-10 минут (до формирования осадка). Жидкость сливают, а осадок снова разбавляют водой. Так поступают несколько раз, пока надосадочный слой не станет прозрачным. Осадок небольшими порциями исследуют в чашках Петри на черном или белом фоне. И еще проводят метод отсеивания.

Методика проведения метода отсеивания. Используют набор из 2-4 металлических сит с отверстиями убывающего диаметра. Струей воды промывают фекалии, при этом частицы фекалий уносятся водой, а гельминты, в зависимости от величины, задерживаются на разных ситах. Затем гельминтов выбирают и исследуют.

Макроскопическое исследование позволяет обнаружить острицы, членики или обрывки стробилы свиного и бычьего цепней, лентеца широкого. Этот вид исследования широко используется для обнаружения мелких гельминтов после проведения дегельминтизации при анкилостоматидозах, дипилидиозе, аскаридатозах и др.

Задание 4. Проведите исследование кала методом нативного мазка

Методика проведения методом нативный мазок. Самый простой и быстрый способ диагностики. Пробу фекалий перемешивают (для равномерного распределения в ней паразитов). Берут небольшой кусочек фекалий (величиной со спичечную головку — горошину), помещают на предметное стекло и смешивают стеклянной или деревянной палочкой с

равным количеством 50%-ного водного раствора глицерина, физиологического раствора или воды. Твердые частицы удаляют препаровальной иглой (пинцетом) или сдвигают на край стекла, мазок накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Для эффективной микроскопии прозрачность мазка материала должна позволять увидеть сквозь него газетный шрифт. На одном предметном стекле можно делать два мазка. От одного животного исследуют не менее 2-3 мазков.

Задание 5. Проведите исследование кала методом флотации Кофоида-Барбера в модификации Фюллеборна.

Методика проведения. Примерно 5,0 г фекалий гомогенизируют деревянной или стеклянной палочкой в 20-кратном количестве насыщенного раствора поваренной соли. Смесь готовят в высокой фарфоровой или стеклянной баночке объемом 100,0-200,0 мл. После размешивания этой же стеклянной палочкой сразу же удаляют всплывшие на поверхность крупные частицы или же смесь фильтруют через металлическое сито и отстаивают в течение 30-90 минут. За это время яйца гельминтов, имеющие меньший удельный вес, чем насыщенный раствор соли, всплывают в поверхностный слой жидкости. После отстаивания проволочной петлей (диаметром 0,8 см), согнутой под прямым углом, снимают поверхностный слой жидкости, переносят на предметное стекло, накрывают покровным и микроскопируют.

Этот метод хорошо выявляет яйца нематод, а также некоторых цестод. Также применяются другие флотационные методы: метод Калантаряна с насыщенным раствором азотнокислого натрия (селитры), метод Маллори с насыщенным раствором сахара, метод Котельникова-Хренова с раствором азотнокислого свинца, метод Котельникова-Хренова-Дугина с раствором аммиачной селитры и др.

Задание 6. Проведите исследование кала методом последовательных промываний.

Этот метод относится к группе методов осаждения (седиментационные)

Методика проведения. Фекалии размешивают в стакане с водой (1:20), взвесь фильтруют через марлю или металлическое сито в стаканы, отстаивают 5 минут, сливают верхний слой, доливают воду, взбалтывают и снова фильтруют в небольшие конические стаканчики емкостью 40,0 мл. Процедуру последовательных промываний с 5-минутным отстаиванием повторяют 4-5 раз до полного просветления жидкости над осадком. Затем надосадочный слой жидкости сливают, а осадок микроскопируют.

Метод применяют при исследовании фекалий на наличие яиц трематод, яиц некоторых нематод, цестод. Также можно использовать модифицированный метод по Никулину, метод Горшкова, метод Пауликони и др. А также часто используются комбинированные методы исследований - метод Дарлинга, метод Вишняускаса, метод Горкиной, метод Фауста с сернокислым цинком и др.

Задание 7. Проведите исследование кала методом Бермана

Методика проведения. 5,0-10,0 г свежевыделенных фекалий помещают на металлической сетке (или завернутыми в марлю) в стеклянную воронку, закрепленную в штативе. На узкий конец воронки надета резиновая трубка с зажимом Мора. Воронку заполняют теплой водой (38- 40°C) так, чтобы фекалии едва соприкасались с ней. Личинки активно выползают в теплую воду и постепенно скапливаются в нижней части воронки, над зажимом. Через 1-3 часа зажим открывают и жидкость спускают в 1-2 центрифужные пробирки. После центрифугирования в течение 2-3 минут верхний слой жидкости сливают, а осадок переносят на предметное стекло и исследуют. Можно на конец резиновой трубки надеть центрифужную пробирку. В этом случае личинки скапливаются на дне пробирки.

Этот метод относится к ларвоскопическим, и применяется для диагностики личинок анкилостом, диктиокаулюсов, других стронгилят. Экспозиция при исследовании фекалий крупного рогатого скота и лошадей составляла 12 часов, мелкого рогатого скота — 6 часов.

Этой группы методов также есть множество модификаций: по Шильникову, по Щербовичу, по Котельникову – Хренову и др.

Задание 8. Изучите сроки проведения массовых копроскопических исследований для диагностики на инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. Основные массовые копроскопические исследования на некоторые инвазионные заболевания у жвачных животных указаны в таблице 1.

Таблица 1. Сроки копроскопических исследований

Группы и виды животных	виды паразита	Методы диагностики	Время массовых исследований
1	2	3	4
Крупный рог. скот, овцы, козы и др. жвачные	Эймерии	флотационные и комбинированные методы	В течение всего года
Крупный рог. скот, овцы, козы и др. жвачные	Криптоспоридии	Методы нативных и окрашенных мазков, флотационные и комбинированные	В течение всего года
Крупный рог. скот, овцы, козы и др. жвачные	Фасцмолы, парамфистомы	седиментационные, флотационные и комбинированные (плотность р-ра выше 1,39)	Конец осени, зима, начало весны.

Крупный и мелкий рогатый скот.	Мониезии	флотационные и комбинированные	Весна, осень. Пастбищный сезон.
1	2	3	4
Круп. рог. скот	Неоаскарисы	флотационные и комбинированные	Лето, исследуют с 12- 14 дн.рожд.
Домашние и дикие жвачные.	Нематоды п/отр. Strongyhlta, паразитирующие в ЖКТ	флотационные и комбинированные	Весна, лето, осень
Крупный рог. скот (молодняк)	Диктиокаулюсы	Ларвоскопия: по Берману-Орлову; Шильникову и др.	Вторая половина июля, август, осень.
Овца, коза и др. мелкие жвачные	Диктиокаулюсы	Ларвоскопия: по Берману-Орлову, Вайду, Душкину и др.	Вторая половина лета, осень, весна
Крупный рог. скот	Нематоды рода телязия	Гельминто- и лярвоскопия конъюнктив. содержимого слезноносового канала	В течение всего года. Наибольшее выделение личинок весной.
Крупный рог. скот	Онхоцерки	Дермоларвоскопия кусочков кожи методом Гнединой или Кивако	Лето, начало осени

Задание 9. Проведите гельминтологическое вскрытие печени.

Учащиеся разбиваются на группы и соблюдая правила работы с лабораторным оборудованием проводят неполное гельминтологическое вскрытие печени.

Извлеченную печень помещают в таз с водой или теплым изотоническим раствором натрия хлорида. Желчный пузырь отпрепаровывают, помещают в отдельную кювету, вскрывают и оставляют в таком состоянии на некоторое время. Воды наливают столько, чтобы, смешавшись с желчью и слизью, она оставалась достаточно прозрачной. Печень в посуде с водой вскрывают ножницами по ходу всех крупных желчных ходов и кровеносных сосудов, затем разрезают на мелкие кусочки и далее обрабатывают методом последовательных промываний.

5. Вопросы выходного контроля: на отдельном листе

Литература:

Паразитология и инвазионные болезни животных /А.И. Ятусевич и др. Минск, « Дизайн ПРО» 2004г – стр. 17-22

АКТ
отбора проб биологического и патологического
материала, взятых у животных

№ ____ от ____ 20 ____ г

Наименование подведомственной организации уполномоченного в области ветеринарии органа государства – члена Евразийского экономического союза: _____

Место отбора проб _____

(адрес объекта, подлежащего ветеринарному контролю (надзору))

Пробы отобраны _____

в присутствии _____

(должность, Ф.И.О. владельца животного или его представителя)

Направляется _____ проба фекалия, взятая _____

(количество)

(вид животного)

Находящихся _____

(наименование хозяйства, фермы, двора, бригады, отары, гурта, табуна)

для проведения _____

(вид и метод лабораторного исследования)

на _____

(какое заболевание)

Сведения о вакцинации _____

(указать вакцину, дату вакцинации)

Исследования проводятся _____

(первично, повторно – указать нужное)

Дата и результат предыдущих исследований, № экспертиз _____

Дата отбора проб: _____

Дата отправки проб _____

Условия хранения и условия доставки проб: _____

Список животных, у которых взяты пробы на лабораторные исследования, прилагается на _____ странице, в _____ экземплярах.

Представитель подведомственной организации уполномоченной в области ветеринарии органа государства – члена Евразийского экономического союза, осуществивший отбор проб _____

(должность)

(подпись)

(Ф.И.О.)

М.П.

Мною, _____, подтверждается факт

(должность, Ф.И.О.)

отбора указанных проб биоматериала и их маркировка

Приложение к акту отбора № _____
от _____ 20 ____ г

Список животных у которых взяты пробы биологического материала на исследования:

№ п/п	Сведения о владельце (представителя владельца животного)	Сведения о животном			Результаты исследования по
		Идентификационный № (кличка)	Пол	Возраст, мес	Методическим указаниям по лабораторной диагностике животных № 02-1-30/291 Утв. «БГВЦ» 19.12.2016г.п.2.2.7

(должность)

(подпись)

(Ф.И.О.)

Владелец животного _____

(подпись)

(Ф.И.О.)