

**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 № 2

Тема: Комплексная диагностика трематодозов крупного, мелкого рогатого скота, домашних плотоядных

Цель: приобрести практические навыки клинического исследования жвачных животных на фасциолез, парамфистоматоз и дикроцелиоз, домашних плотоядных – на описторхоз, отбора проб фекалий, исследования их на содержание яиц трематод. Сформировать умения дифференциальной диагностики трематод жвачных (фасциолез, парамфистоматоз, дикроцелий) и отличать их яиц.

Время выполнения: 6 часов

Место проведения: учебная аудитория

Дидактическое и методическое обеспечение: микроскопы, кюветы, шпатели, плотная бумага, перчатки, лабораторное оборудование, мини-плакаты №1, муляжи, макро- и микропрепараты, антигельминтики

Охрана труда и пожарная безопасность: согласно инструкции

Порядок и последовательность выполнения работы

1. Внеурочная подготовка

- 1.1. Изучите теоретический материал по теме «Диагностика гельминтозов» используя М.Ш. Акбаев «Паразитология и инвазионные болезни с/х животных» стр. 53-63
- 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 морфологией трематод жвачных (фасциолез, парамфистоматоз, дикроцелий) и домашних плотоядных (описторхоз) и зарисуйте их.

2. Ознакомьтесь с правилами исследования предметов окружающей среды и промежуточных хозяев трематод на наличие личинок, яиц трематод

3. Проведите исследование проб фекалий жвачных для диагностики на трематодозы.

4. Заполните таблицу дифференциальной диагностики на трематодозы животных.

- 2.4. Пройдите выходной контроль (тестирование).

- 2.5. Приведите рабочее место в порядок.

3. Вопросы входного контроля:

- 3.1. Дайте определение термину «Трематодозы».

- 3.2. Какие заболевания входят в эту группу?

- 3.3. Какую форму тела имеют трематоды?

- 3.4. Назовите основные стадии развития трематоды.

- 3.5. Почему при фасциолезе у крупного рогатого скота развивается нарушение работы ЖКТ и наступает снижение продуктивности и истощение организма?

- 3.6. Как устанавливается диагноз на фасциолез?

- 3.7. Перечислите основные лекарственные средства, применяемые для лечения животных при фасциолезе.

- 3.8. Перечислите общие принципы профилактики при фасциолезе

Разработали преподаватели

Е.Н.Корнейчук

К.Ю.Литвинчук

4. Методические указания по выполнению работы

Задание 1. Ознакомьтесь с морфологией трематод жвачных (фасциолез, парамфистоматоз, дикроцелий) и домашних плотоядных (описторхоз)

Фасциолёз. Возбудители. *F. hepatica* (обыкновенная фасциола) листовидной формы, длиной 2-3 см, шириной около 1 см, коричневого цвета с зеленоватым оттенком. Кутикула покрыта мелкими шипиками. Ротовая и брюшная присоски слабо развиты, сближены между собой и расположены в передней части тела. Матка имеет розеткообразную форму. Яичник и семенники ветвистые, занимают среднюю и заднюю части тела паразита. Желточники хорошо развиты, занимают боковые поля тела. Яйца фасциол большие (длиной 0,12-0,15 мм, шириной 0,07-0,09 мм), желтого цвета, овальной формы, с крышечкой на одном из полюсов. Развиваются они во внешней среде.

Парамфистоматоз. Гельминты конической формы, розового цвета, размером 5-20 мм. Ротовое отверстие переходит в хорошо развитую глотку чашеобразной формы. Имеется хороша развитая брюшная присоска, является органом фиксации, расположена в задней части тела. Два семенника размещаются друг за другом в задней части тела. Яичник находится впереди от брюшной присоски. Матка и желточники хорошо развиты. Половые отверстия открываются в передней части тела, на уровне разветвления кишечника. Циррус размещен в клоаке, окруженной циркулярными мышцами, напоминающими половую присоску. Яйца трематод большие, овальные, серого цвета, незрелые. Половозрелые гельминты паразитируют в рубце, реже в сетке и книжке, молодые - в 12-типерстной кишке, сычуге.

Дикроцелиоз. Гельминт ланцетовидной формы, длиной 5-15 мм, шириной 1,5-2,5 мм. Имеет слабо развитые присоски одинакового размера, расположенные в передней трети тела. Матка находится в задней части тела паразита. Семенники размещены косо один напротив другого. Яичник находится сзади семенников. Желточники слаборазвиты. Возбудитель паразитирует в желчных протоках, желчном пузыре, иногда в поджелудочной железе животных. Яйца мелкие, овальной формы, темно-коричневого цвета, с крышечкой, асимметричные, зрелые (содержат мирадиий).

Описторхоз. *Opisthorchis felineus*, *O. viverrini* и *O. sinensis* — ланцетовидные паразитические черви мелких размеров. *O. felineus* имеет нежное вытянутое тело, длина которого составляет 0,8-1,3 см, ширина - 1,2-2,5 мм. Присоски недоразвиты. Два лопастных семенника находятся в задней части тела, наискосок друг за другом. Петли матки помещаются между кишечными ветвями в средней трети тела. Желточники сравнительно слабо развиты, находятся латеральнее матки. Половые отверстия открываются возле переднего края брюшной присоски. Яйца возбудителей очень мелких размеров (0,01...0,035 x 0,017...0,03 мм), светло-желтого цвета, овальной формы, с нежной двухконтурной гладкой оболочкой, с крышечкой на одном и бугорком - на другом полюсе, зрелые.

Задание 2. Ознакомьтесь с правилами исследования предметов окружающей среды и промежуточных хозяев трематод на наличие личинок, яиц трематод

Исследование травы и сена на наличие личинок трематод

Адолескариев фасциол и парамфистоматат собирают с растений в биотопах - на влажных участках пастбищ. Их обнаруживают как невооруженным глазом, так и при помощи лупы с увеличением в 5-8 раз. На прикорневой части стебля и нижней поверхности листьев водных и надводных растений личинки имеют вид точек диаметром 0,3 мм; молодыеadolескарии молочно-белого цвета, позднее они желтеют, а затем становятся буро-коричневыми. При микроскопии в цистах находят подвижныхadolескариев с двумя присосками, глоткой и кишечными стволами.

Церкарии фасциолы локализуются не только на листьях, траве, но и на поверхности воды. В биотопах, где обитают малые прудовики, ставят стекла размером 8*13 см и толщиной 2 мм примерно одно стекло на площади 2,5 м². Их ставят так, чтобы поверхность стекла была обращена с востока на запад. Через неделю стекла просматривают. Церкарии прикрепляются на стекла и инфицируются, превращаясь вadolескариев. Adolескарии видны даже невооруженным глазом в виде белых точек. При работе сadolескариями необходимо соблюдать меры личной профилактики.

Выявление фасциологенных очагов на пастбище

Основным промежуточным хозяином для фасциолы обыкновенной служит пресноводный моллюск - малый или усеченный прудовик (*Lymnaea truncatula*). Обследование пастбищ на наличие малого прудовика в Беларуси следует проводить с июня до середины сентября. На плане пастбища наносят все места наиболее вероятного обнаружения моллюска. Благоприятны для малого прудовика перегнойно-глеевые и дерново-подзолистые почвы, богатые гумусом с наличием солей железа. Его обнаруживают в мелких водоемах (до 20 см), хорошо прогреваемых солнцем: лужах, высыхающих болотцах, прудах, придорожных канавах и т.д. Малый прудовик обитает не только в воде, но и длительное время может находиться на суше, в условия достаточной влажности, погибают при влажности ниже 45%.

При обнаружении моллюсков определяют плотность их популяции. Для этого на площадку накладывают квадрат из деревянных планок размером 50x50 см и подсчитывают прудовиков внутри квадрата. Плотность моллюсков выражают в количестве экземпляров на м². Для чего количество прудовиков, обнаруженных на участке, ограниченном рамкой, умножают на 4. Обследование пастбищ желательно проводить в теплую, с температурой воздуха не ниже 20°C, погоду. На карте схемой отмечают биотопы малого прудовика с указанием его численности на 1 м .

Выявление парамфистоматогенных очагов

Промежуточные хозяева парамфистоматид - окаймленные катушки (*P1anorbis planorbis*) - обитают в стоячих и медленно текущих водах, на глубине 60 см. Обычно это водоемы, заросшие влаголюбивой растительностью с торфянистыми берегами и дном. Собирают моллюсков и при помощи

гидробиологического сачка. В первой половине пастбищного сезона наибольшее количество планорбид, зараженных личинками парамфистоматид, встречается во временных водоемах. С конца июля по сентябрь большинство моллюсков, зараженных личинками парамфистоматид, встречаются на растениях в постоянных, не пересыхающих водоемах. Обычно к августу количество зараженных моллюсков увеличивается. В октябре вышедшие из моллюсков церкарии иadolескарии парамфистоматид погибают. Поздней осенью и весной водоемы обычно безопасны.

Исследования промежуточных хозяев гельминтов

Исследование моллюсков.

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. В бактериологической чашке или на часовом стекле вскрывают моллюсков, освобождая их от раковины остроконечными ножницами. У мелких моллюсков раковину не снимают, их тело расчленяют на части и исследуют компрессорным методом. Под микроскопом обнаруживают личиночные формы гельминтов.

Малого прудовика исследуют полностью или отрезают верхушку раковины, где расположена печень с развивающимися в ней личинками: спороцистами, редиями и церкариями.

Катушек исследуют с помощью компрессориума. При этом личинок па-рамфистоматид можно обнаружить как в самом моллюске, так и в жидкости, вытекающей при раздавливании их между стеклами компрессория. С апреля до первой половины июля обычно проводят исследование взрослых перезимовавших моллюсков, а молодых моллюсках - с середины июля до октября.

Исследование моллюсков рода *Bithynia*. У моллюска отсекают верхушку. Раздавливают между предметными стеклами и микроскопируют. При инвазировании их личинками trematod находят спороцисты, редии, церкарии, которые дифференцируют по морфологическим особенностям.

Исследование наземных легочных моллюсков. Моллюска раздавливают, извлекают из него пищеварительную железу. Ее помещают в каплю воды на предметное стекло, измельчают и микроскопируют. В печени моллюсков обнаруживают материнские и дочерние спороцисты и церкарии, а в дыхательной полости - слизистые комочки, в каждом из которых содержится до 200 и более церкариев.

Исследование насекомых

Исследование муравьев проводят для обнаружения у них личинок дикроцелиев. Для этого отыскивают и устанавливают зараженность только у техмуравьев, которые находятся в состоянии "оцепенения". Насекомых помещают в пробирку и на 3-5 мин. кладут туда влажный тампон, смоченный

эфиrom. Затем на предметном стекле препаровальными иглами у муравьев вскрывают брюшко и просматривают под микроскопом или лупой на наличие метацеркариев. Они видны заключенными в цисту длиной 0,28-0,4 мм и шириной 0,2-0,26 мм.

Исследование стрекоз и их личинок осуществляют для выяснения благополучия местности по простогонозной инвазии (наличие метацеркариев). Стрекоз с растительности снимают рано утром или после дождя, а личинок - весной, когда они выползают на берег. В неглубоких водоемах их вылавливают со дна сачками. Этих насекомых можно исследовать методом переваривания в искусственном желудочном соке. Также можно их тело, в частности брюшко, размельчить препаровальными иглами и просмотреть под микроскопом.

Задание 3. Проведите исследование проб фекалий жвачных для диагностики на trematodозы.

Метод последовательных сливов (седиментационный) (Демидов Н.В.). 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 жидкости над осадком. Затем надосадочный слой жидкости сливают, а осадок просматривают под микроскопом при малом увеличении на предметных стеклах размером 6-7x9-13 см или в чашке Петри.

Метод применяют при исследовании фекалий на фасциолез и дикроцелиоз. Паразитологи из западной Европы для микроскопии помещают осадок в чашку Петри, на дне которой нанесены параллельные линии с интервалом, равным ширине поля зрения микроскопа при используемом увеличении.

Метод Дарлинга (комбинированный). Фекалии смешивают с водой до полужидкой консистенции, а затем центрифугируют 3—5 минут. Затем жидкость из пробирки сливают, к осадку добавляют жидкость Дарлинга. Осадок размешивают и снова центрифугируют 3—5 минут, после чего яйца гельминтов всплывают в поверхностный слой. Гельминтологической петлей снимают поверхностную пленку, переносят на предметное стекло, покрывают покровным и исследуют под микроскопом.

Метод Демидова(флотационно-седиментационный). 3,0-5,0 г фекалий помещают в стакан и тщательно размешивают с насыщенным раствором поваренной соли, отстаивают 15—20 минут. Совочком или ложкой удаляют всплывающие на поверхность грубые частицы. Надосадочную жидкость отсасывают спринцовкой или сливают. К осадку доверху доливают воду и размешивают. Взвесь фильтруют через металлическое сито или марлю в стакан. Фильтрат отстаивают 5 минут. Затем отсасывают поверхностный слой, оставив на дне 15,0-20,0 мл осадка. Переливают осадок в конический стаканчик (объем 30,0-40,0 мл, внутренний диаметр дна 1,5—2,0 см),

отстаивают взвесь 5 минут, отсасывают жидкость и повторяют процедуру. Осадок переносят на стекло и исследуют.

Метод Котельникова и Вареничева. Предназначен для диагностики описторхоза. В качестве флотационных жидкостей применяют насыщенные растворы цинка хлорида и кадмия нитрата. Помещают в стаканчик формы усеченного конуса с градацией 30,0 мл (весь объем 50,0 мл) 3,0 г фекалий, пробу тщательно растирают стеклянной палочкой. Затем при постоянном помешивании добавляют малыми порциями воду до полного объема стаканчика. Взвесь фильтруют через металлическую сетку в стакан и отстаивают 5 минут, затем верхний слой сливают. Над осадком оставляют небольшое количество воды и вновь добавляют воду до 50,0 мл, еще раз отстаивают 5 минут. После этого надосадочную жидкость сливают, осадок оставляют с таким количеством воды, чтобы он поместился в центрифужную пробирку и 1,5-2,0 минуты центрифицируют при 1000 об/минуту. Надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют один из предлагаемых флотационных растворов. Осадок в растворе взбалтывают и вновь центрифицируют в том же режиме. Затем металлической петлей диаметром 8,0 мм снимают с поверхности взвеси не менее трех капель, переносят их на предметное стекло и микроскопируют. Перед исследованием в каждый препарат добавляют одну каплю глицерина, разбавленного 1:1 водой, и накрывают покровным стеклом. Метод имеет 100%-ную эффективность.

Задание 4. Заполните таблицу дифференциальной диагностики на trematodозы животных.

Название trematод	Форма тела, размер	Отличия от других trematод	Где локализация в организме дефинитивного хозяина	Промежуточный хозяин	Дополнительный хозяин	Морфология яиц trematод

5. Вопросы выходного контроля: на отдельном листе

Литература:

Паразитология и инвазионные болезни животных. А.И. Ятусевич и др. - Минск, «Дизайн ПРО», 2004г.- стр. 24-45

Практикум по паразитологии и инвазионным болезням животных. Под редакцией Ятусевича А. И. - Минск, ИВЦ Минфина, 2011 г.- стр. 27-51

Паразитология и инвазионные болезни животных. А.И. Ятусевич и др.-Минск, ИВЦ Минфина, 2007г.- стр. 50-91