**Практическое занятие № 8**

**Тема:** Трематодозы

**Цель занятия:** Приобретение навыков по диагностике заболеваний, вызываемых трематодами.

**Литература:** М.Ш.Акбаев Паразитология и инвазионные болезни.

**Задание № 1.** Приобрести навыки по диагностике и дифференциальной диагностике трематодозов.

**Задание № 2.** Ознакомиться с антигельминтиками, применяемыми при трематодозах.

**Задание № 3.** Ознакомится с техникой отбора проб фекалий.

**Задание № 4.** Ознакомиться с методикой гельминтоовоскопических исследований.

**Методика выполнения.**

**Задание 2.**

Четыреххлористый углерод

Сarbonei tetrachloridum (углерода тетрахлорид).

Бесцветная летучая жидкость с запахом, слегка напоминающим запах хлороформа. Список Б.Форма выпуска - в бутылях, в желатиновых капсулах по 1 и 10 мл.

Обладает раздражающим действием. Угнетающе действует на кровеносную систему, обладает гемолизирующим действием. Может проявлять канцерогенные и тератогенные свойства.

На центральную нервную систему действует наркотизирующе, сильнее хлороформа.

Мелкому рогатому скоту вводят внутрь в капсулах или в рубец в дозе 2 - 3 мл. Крупному рогатому скоту применяют в форме 50 % раствора на вазелиновом масле в дозе 0,1 мл/кг ж. м. внутримышечно в области крупа в 2 - 3 места.

При отравлении животным дают внутрь молоко, метионин, вводят в/м 5 % раствор кальция глюконата и в вену - СаСl2.

Токсическое действие препарата проявляется в меньшей степени, когда животных перед дегельминтизацией содержат на рационе с высоким содержанием углеводов и малым количеством жиров.

Вследствие высокой токсичности применяют в исключительных случаях.

Гексахлорпараксилол

Hexachlorparaxilolum (хлоксил).

Белый кристаллический порошок без вкуса и запаха, почти нерастворим в воде.

Форма выпуска - порошок.

При фасциолезе: овцам - 0,4 г на 1 кг однократно групповым способом утром в смеси с дробленым зерном или комбикормом (1 : 5 - 1 : 6); крупному рогатому скоту - 0,5 г/кг однократно с 0,5 - 1 кг дробленого зерна или комбикорма, взрослым из индивидуальных кормушек, телятам - из групповых по 10 15 животных; свиньям - однократно - 0,5 г/кг в виде кашки с комбикормом индивидуально или групповым способом.

За 2 дня до дегельминтизации и 2 дня после нее не скармливают легко бродящие корма (барда, свекловичный жом и др.). При появлении признаков угнетения животным внутрь задают натрия гидрокарбонат: коровам по 50 - 200 г, овцам - 5 - 15 г 3 раза в день в течение 1 - 2 дней.

Механизм действия - вызывает нарушение углеводного обмена у трематод и нарушает их окислительно-восстановительные процессы.

Гексихол

Haexycholum.

Белый смачивающийся порошок без вкуса и запаха (лечебная форма гексахлорпараксилола).

При фасциолезе и дикроцелиозе крупного рогатого скота применяют в дозе 0,3 г/кг, мелкому рогатому скоту - 0,2 г/кг.

Для уменьшения осложнений прекращают применять корма, усиливающие бродильные процессы и препарат назначают совместно с натрием хлоридом из расчета 0,15 - 0,25 г/кг. Овцам смесь гексихола с натрия хлоридом назначают вольным способом.

Разработана также лучшая лечебная форма - гексихол С. Препарат более эффективен при фасциолезах, его можно применять без изменения рациона. Назначают внутрь с концентрированными кормами.

Политрем Politremum.

Лекарственная форма гексахлорпараксилола.

Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом, нерастворимый в воде. Форма выпуска - мешки по 20 кг. Для теплокровных малотоксичен.

Задают внутрь в смеси с кормом (1 : 5 - 1 : 6) индивидуально или групповым методом. При фасциолезе - крупному рогатому скоту - 0,2 г/кг; мелкому рогатому скоту - 0,14 г/кг однократно; при дикроцелиозе - крупному рогатому скоту и овцам - 0,3 г/кг 2 -кратно с месячным интервалом.

Гексахлорофен Haexachlorophenum.

Белый кристаллический порошок, плохо растворимый в воде, хорошо в органических растворителях. Обладает антгельминтными, антисептическими и фунгицидными свойствами. Форма выпуска - порошок, суспензия.

Применяют при фасциолезе овец и при мониезиозе. Применяют внутрь в дозах 15 - 20 мг/кг.

Гексахлорэтан

Hexachloraethanum (фасциолин).

Белый кристаллический порошок с запахом камфоры, почти нерастворим в воде. Список Б.

Форма выпуска - порошок.

Механизм действия - действует на центральную нервную систему трематод, вызывает угнетение, иногда после предварительного возбуждения, паралич и гибель гельминтов.

Применяют внутрь в дозах 100 - 400 мг/кг, обычно однократно.

Дертил Derthilum (никлофолан).

Белый кристаллический порошок без запаха, нерастворимый в воде.

Выпускается венгерским химзаводом “Гедеон Рихтер” в таблетках для внутреннего применения и в растворе для инъекций.

Таблетки: дертил “О” - таблетки для овец (одна таблетка содержит 0,1 г АДВ); дертил “Б” - таблетки для крупного рогатого скота с содержанием в каждой 0,3 г АДВ.

Применяют индивидуально внутрь в дозах (по АДВ): 0,008 г/кг при острой форме фасциоллеза и 0,004 г/кг - при хронической.

Дегельминтизацию проводят однократно и строго индивидуально по живой массе животного.

Ацемидофен Acemidophenum. Мелкий светло-коричневый порошок.

Выпускают в виде 19,4 % суспензии. Применяют в форме 10 % водной суспензии крупному рогатому скоту при острой форме фасциолеза в дозе 0,2 г/кг (по АДВ) однократно без ограничения в режиме кормления.

При острой форме фасциолеза овец - 0,15 г/кг в форме 10 % водной суспензии.

Дисалан Disalanum (урсовермит, рамид, рафоксанид).

Белый или слегка желтоватый порошок, нерастворимый в воде.

Применяют внутрь в форме 2,5 % суспензии в дозе 7,5 - 10 мг/кг по АДВ. Не применяют лактирующим коровам. Препарат является одним из лучших антгельминтиков для жвачных животных, обладает низкой токсичностью.

Клосантел Closanthelum (роленол, фасковерм, флукивер).

Форма выпуска - стерильный раствор во флаконах по 100 мл, пилюли.

Препарат применяют внутримышечно крупному рогатому скоту, подкожно и внутримышечно овцам в дозе 2,5 - 5 мг/кг в зависимости от вида возбудителей и животных.

Нитроксинил Nitroxynilum (фасциолид, довеникс, тродакс).

Желтый кристаллический порошок, плохо растворимый в воде.

Форма выпуска - порошок, 25 % раствор для инъекций.

Подкожно применяют в дозах 10 - 12,5 мг/кг (по АДВ) или 1 мл раствора на 1 кг ж. м.

Нарушает у гельминтов процессы окислительного фосфорилирования.

При отравлении: атаксия, адинамия, одышка. После инъекции возможно развитие отека.

Оксинид Oxynidum.

Мелкий кристаллический порошок желтоватого цвета, нерастворимый в воде.

Эффективен при фасциолезе овец в дозе 50 мг/кг при индивидуальной даче и 60 мг/кг при групповом применении методом вольного скармливания в смеси с комбикормом. При индивидуальной даче оксинид размешивают в 50 - 100 мл воды и выпаивают из бутылки, а при групповой даче - общую дозу препарата, рассчитанную на 10 - 15 голов, смешивают с комбикормом из расчета 100 - 150 г на одно животное и скармливают из кормушек после выдерживания животных на 12 - 18 часовом голодании.

Фазинекс Phasinex (триклабендазол).

Белый кристаллический порошок, плохо растворимый в воде.

Форма выпуска - 5 % суспензия для овец;

10 % суспензия для крупного рогатого скота; таблетки.

Задают внутрь в дозах:

Крупному рогатому скоту - 6 - 12 мг/кг;

мелкому рогатому скоту - 5 - 10 мг/кг.

Эффективен против молодых фасциол. Не противопоказан для применения сильно инвазированным или ослабленным животным.

Минимальная токсическая доза для крупного рогатого скота - 200 мг/кг.

**Задание 3**. Порядок взятия и доставки материала для исследований

Фекалии у животных берут либо из прямой кишки, либо с земли (или пола) в зависимости от вида гельминта в количестве 4-10 г. При взятии их из прямой кишки на руки надевают тонкие резиновые перчатки или напальчники. При исследовании на кишечные стронгилятозы и легочные гельминты (особенно при диктиокаулезе) фекалии нужно брать только из прямой кишки во избежание загрязнения исследуемого материала личинками свободно живущих гельминтов. Допустимо отбирать пробы с пола, когда исследования проводят на заболевания, при которых го яиц не выходят личинки (фасциолез, дикроцелиоз, мониезиозы, аскаридиозы и т.д.).

У крупного рогатого скота, лошадей, собак фекалии берут индивидуально, указывая кличку и номер животного. У свиней, овец, оленей, кроликов и пушных зверей не всегда удается индивидуальное взятие проб, у этих животных фекалии чаще берут групповым методом, при этом указывают группу, отару, № станка и клетки.

Исследуют не менее 10% животных отары, фермы, хозяйства. Доставляют пробы фекалии в стеклянной, пластмассовой таре, целлофановых мешочках или пергаментной бумаге с обязательной описью проб в сопроводительном документе. При этом указывают, хозяйство, отделение, бригаду, участок, ферму, вид животного, их возраст, на какие гельминты исследовать, дату взятия и направления материала. Клички, номера животных, станка, клетки должны соответствовать номеру пробы фекалий на упаковке.

**Задание 4.**

Гельминтоовоскопия (от латинского ovum– яйцо, греческогоskopeo– смотрю) объединяет группу методов исследования, с помощью которых выявляют яйца возбудителей гельминтозов.

Удельный вес яиц тяжелее обычной воды, вследствие этого яйца гельминтов, как более тяжелые частички вымываются из фекалий водой и оседают на дно сосуда с различной скоростью, в зависимости от удельного веса, Быстрее всего оседают яйца более крупного размера.

В растворах же солей высокого удельного веса яйца гельминтов наоборот всплывают (явление флотации) в верхний слой и концентрируются в нем.

На использовании этих физических закономерностей основала технология всех современных методов гельминтоовоскопии, которые подразделяются на три группы:

а) Методы осаждения (седиментации) яиц гельминтов;

б) Методы флотации яиц гельминтов;

в) Комбинированные методы (осаждения и флотации) яиц гельминтов.

Методы осаждения (седиментации)

Основаны на принципе осаждения взвешенных в жидкости яиц гельминтов, промывки осадка и исследования его. Эти методы применяются в основном для диагностики тех гельминтозов, возбудители которых выделяют яйца с высоким удельным весом (фасциолез, дикроцелиоз, парамфистоматоз, описторхоз и др.). Методики осаждения менее эффективны и более трудоемки, чем флотации. Это связано со сложностью отыскания яиц гельминтов в осадке взвеси.

1. Метод последовательных смывов

Пробу фекалий весом 3-5 г кладут в стакан, вливают небольшое количество воды и размешивают палочкой или пинцетом до получения жидкой кашицеобразной массы, затем добавляют воду порциями до объема 50 мл при постоянном размешивании; После взвесь процеживают через металлическое сито или марлю в другой стакан, в нем отстаивают в течение 5-10 мин. Затем верхний слой жидкости над осадком сливают, а к осадку добавляют новую порцию воды и вновь отстаивают в течение 5 – 10 мин. Описанная процедура повторяется до тех-пор, пока вода не станет прозрачной. Ее в последний раз сливают, а осадок (около 5 мл) разливают на предметные стекла или стекла большего размера (12x19) и микроскопирутот.

Эта методика широко применяется в ветеринарных лабораториях для диагностики фасциолеза, дикроцелиоза, парамфистоматоза, эуриггрематоза и других гельминтозов жвачных. Вместе с тем, она трудоемка и по диагностической эффективности значительно уступает специальным флотационным и комбинированным методам гельминтоовоскопии.

1. Метод Горшкова.

Этот метод предложен ял я диагностики драйшеоза и габромематоза лошадей. Основан на принципе осаждения и концентрации яиц 150-30° г фекалий помещают на металлическом сите или марле в большую воронку с верхним диаметром 15-20 см. Предварительно на нижний конец воронки надевают резиновую трубку длиной 10-15 см с зажимом на конце. Воронку укрепляют в штативе. Фекалии разрыхляют, заливают доверху теплой водой (38 – 39°С) и выдерживают 4-24 часа. Затем зажим осторожно открывают, и жидкость выпускают в центрифужную пробирку и центрифугируют при 1500 об/мин, в течение 3-х мин. Верхний слой жидкости сливают, а осадок наносят на предметное стекло и микроскопируют.

1. Метод соскоба с перианальных складок

Эту методику применяют для диагностики оксиуроза лошадей и пассалуроза кроликов. Из деревянной палочки или щепочки делают лопаточки (можно и спички), смачивают смесью глицерина с водой (1:1) и делают соскоб с перианальных складок с внутренней стороны хвоста в области промежности. Соскоб переносят на предметное стекло с указанной смесью, накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом.

Флотационные методы

Все методы флотации (от англ. Flotation- всплывание) основаны на единой физической закономерности, обеспечивающей всплытие яиц гельминтов в насыщенных, растворах солей. Для этого рекомендуются растворы различных солей, но предпочтительнее дешевых и повсеместно доступных.

Отдельные методы флотации называются по именам авторов, впервые предложивших ту или иную соль для приготовления флотационной жидкости.

1. Метод Фюллёборна

Для этой методики нужен насыщенный раствор поваренной соли, который готовят путем кипячения 400-420 г соли на 1 л воды.

Пробу фекалий весом 3 – 5 г помещают в стакан, заливают небольшим количеством флотационной жидкости, тщательно размешивают, затем добавляют 50-100 мл этого раствора и процеживают через металлическое сито или марлю в один спой в сухой, чистый стакан. Взвесь отстаивают 40-60 мин., затем прикосновением петли снимают поверхностную пленку, переносят ее на предметное стекло для микроскопирования.

Этот метод в отечественной лабораторной практике может применяться для диагностики аскаридоза, стронгилятозов и стронгилоидоза свиней, неоаскаридоза, стронгилятозов стронгилоидозов, мониезиоза,. тизанизиоза, жвачных, параскаридоза, стронгилятозов кишечника лошадей

Плотность насыщенного раствора поваренной соли невысокая -1,18-1,20. Тогда как удельный вес яиц аскариса равен 1,10-1,14:а у неоплодотворенных яиц - 1,26, а трихоцефалюса - 1,16-1,22. Поэтому насыщенный раствор поваренной соли способен флотировать только масть яиц аскарид и трихоцефалюсов, по этой причине диагностическая эффективность данной методики невысокая. Кроме того, раствор на предметном стекле быстро кристаллизуется.

Комбинированные методы

Эти методы основаны на комбинации совершенно противоположных приемов обработки проб фекалий, то есть седиментации и флотации. Поэтому их называют седиментационногфлотационными или, наоборот, флотационно-седиментационными методами.

Несмотря на усложнение приемов обработки проб ли методы являются более эффективными, на исследования расходуется значительно меньше флотационной жидкости, следовательно, они более экономичны

Благодаря комбинации противоположных приемов достигается обогащение осадка и поверхностной пленки яйцами гельминтов и удаление излишних посторонних частиц взвеси, которые мешают микроскопированию. Применение двойного центрифугирования взвеси – вначале с водой, а затем с флотационным раствором способствует в первом случае быстрому осаждению яиц в результате воздействия центростремительной силы, а во втором - всплыванию их за счет воздействия центробежной силы.

Впервые комбинированный метод гельминтоовоскопии был предложен американским паразитологом Дарлингом (1911). В последующем на основе этого метода были разработаны различные методики и модификации.

1. Метод Дарлинга

Пробу фекалий весом 3-5 г помещают в химическим стаканчик и тщательно размешивают с 18-20 мл воды, процеживают через сито в другой стаканчик, полученную жидкость переливают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 1-2 мин. при 3000 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют флотационную жидкость, состоящую из равных частей глицерина и насыщенного раствора хлорида натрия. Плотность такой жидкости равна 1,205 при 18°С Содержимое взбалтывают и вновь центрифугируют в том же режиме при этом яйца всплывают, их снимают проволочной петлей с поверхностной пленки и микроскопируют на предметном стекле.

Этот метод применяют для диагностики аскаридатозов и других нематодозов у животных.

1. Метод Шербовича

В качестве флотационных жидкостей автором предложены три раствора из насыщенных солей: нитрата натрия, сульфата магния и тиосульфата натрия.

Пробу фекалий величиной с грецкий орех кладут в стакан, добавляют 40-60 мл воды и тщательно размешивают до появления равномерной взвеси. При постоянном помешивании взвесь процеживают через металлическое сито или марлю в чистый стакан. После 5 минутного отстаивания надосадачную жидкость сливают. На дне оставляют такое количество взвеси, которое бы вместилось в центрифужную пробирку и центрифугируют 1-2 мин. при 3000 об/мин., после чего всю жидкость до осадка сливают, а к осадку добавляют флотационный раствор нужной плотности. Осадок взбалтывают до получения взвеси и снова центрифугируют 1-2 мин. при 1500 об/мин. После этого петлей снимают пленку с жидкости, переносят на предметное стекло и микроскопируют.

При диагностике метастронгилеза свиней применяют насыщенный раствор сульфата магния (0,92 кг MgSO4на 1 л воды, р=1,28). При этом выявляются возбудители и других нематодозов, в частности трихсмефалеза, аскаридатозов, стронгилятозов пищеварительного тракта различных животных.

Насыщенные растворы тиосульфата натрия (1,75 кг Na2S2O3 на 1 л воды, р=1,40) и нитрата натрия (1 кгNaNO3на 1 л воды, р=1,38) рекомендуются для диагностики макракантаринхоза свиней, а также всех перечисленных гельминтозов разных животных. С любым из растворов методику можно применять для диагностики тениидозов собак и для диагностики спируратозов (тетрамероза, стрептокароза, эхинуроза) и полиморфоза уток.

Недостатком этого метода со всеми тремя флотационными жидкостями является то, что с его помощью не удается диагностировать тяжелые яйца трематод, в частности описторхоза, фасциолеза и парамфистоматоза.

**Отчет.**

**Задание 1.**

|  |  |
| --- | --- |
| Признаки дифференциации. | Болезни |
| Фасциоллез | Дикроцелиоз | Парамфистоматоз | Описторхоз |
| Возбудитель(наличие характерных особенностей) |  |  |  |  |
| Места локализации |  |  |  |  |
| **Эпизоотологическая дифференциация** |
| Дефинитивный хозяин |  |  |  |  |
| Промежуточный хозяин |  |  |  |  |
| Дополнительный хозяин |  |  |  |  |
| Резервуарный хозяин |  |  |  |  |
| Предрасполагающие факторы |  |  |  |  |
| Интенсивность инвазии |  |  |  |  |
| **Клиническая дифференциация** |
| Течение болезни |  |  |  |  |
| Температура тела, характер лихорадки |  |  |  |  |
| Состояние животного |  |  |  |  |
| Изменения на коже и видимых слизистых оболочках |  |  |  |  |
| Состояние сердечно-сосудистой системы |  |  |  |  |
| Состояние системы органов дыхания |  |  |  |  |
| Состояние системы органов пищеварения |  |  |  |  |
| Изменения со стороны костно-мышечной системы (суставов и пр.) |  |  |  |  |
| **Патологоанатомическая дифференциация** |
| Состояние серозных и слизистых оболочек (наличие кровоизлияний); изменения со стороны лимфатических узлов |  |  |  |  |
| Изменения со стороны печени, селезенки |  |  |  |  |
| Изменения со стороны желудочно – кишечного тракта Изменение со стороны органов дыхания |  |  |  |  |
| Изменение со стороны органов дыхания |  |  |  |  |
| **Дифференциация с помощью химиотерапевтических средств** |
| Сроки дегельминтизации |  |  |  |  |
| АнтигельминтикиОстрое течение |  |  |  |  |
| АнтигельминтикиХроническое течение |  |  |  |  |
| **Лабораторные исследования** |
| Сроки планового исследования |  |  |  |  |
| Методы копрологического исследования |  |  |  |  |
| Серологические исследования |  |  |  |  |
| Аллергические исследования |  |  |  |  |

**Задание 2.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Название препарата** | **Возраст (вид животного)** | **Кратность применения** | **Метод введения, доза, мл.** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

**Задание 3.**

|  |  |
| --- | --- |
| Вид животного | Метод взятия |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

**Задание 4.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Метод исследования** | **Диагностируемые инвазионные болезни**  | **Инструменты (оборудование)** | **Расходные материалы** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |