

**ОСТ 9388-022-00008064-2000**

**СТАНДАРТ ОТРАСЛИ**  
**Методы лабораторной диагностики нематодозов свиней**

ОСТ 9388-022-00008064-2000

## **Предисловие**

1. РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом гельминтологии им. К.И. Скрябина (Исполнитель Р.Т. Сафиуллин)

2. ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Департаментом ветеринарии Минсельхоза Российской Федерации 2000 года.

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Утвержден Департаментом ветеринарии МСХ РФ 08 августа 2000 г.

ОСТ 9388-022-00008064-2000

## **СОДЕРЖАНИЕ**

1. Область применения
  - 1.1. Методы отбора проб
2. Методы исследований
  - 2.1. Методы определения наличия яиц нематод в фекалиях
  - 2.2. Методы определения количества яиц в фекалиях
  - 2.3. Метод определения мигрирующих личинок аскаридов из легких и печени
  - 2.4. Метод исследования павших животных
  - 2.5. Метод исследования соскобов из объектов внешней среды на наличие яиц нематод
  - 2.6. Метод установления интенсивности инвазии
  - 2.7. Метод исследования почвы на наличие яиц нематод
  - 2.8. Метод исследования промежуточных и дополнительных хозяев нематод на зараженность.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Настоящий стандарт разработан в связи с изменением требований Госстандарта России к нормативным документам и необходимостью унификации применяемых в ветеринарной практике методов исследований для повышения их информативности и достоверности получаемых в разных условиях результатов.

Целесообразность разработки стандарта отрасли обусловлена также требованиями обязательной стандартизации методов лабораторной диагностики паразитозов животных и в частности нематодозов свиней.

**ОСТ 9388-022-00008064-2000**

**СТАНДАРТ ОТРАСЛИ**  
**МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**  
**НЕМАТОДОЗОВ СВИНЕЙ**

*Дата введения 2006 г.*

## 1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий стандарт распространяется на методы лабораторной диагностики нематодозов свиней, предназначенный для ветеринарных лабораторий, научно-исследовательских и учебных ветеринарных учреждений.

### 1.1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

Диагностические обследования свиней проводят в порядке плановых мероприятий в рациональные сроки или вынужденно, для определения благополучия стада, фермы, хозяйства, а также с целью контроля проведения оздоровительной работы.

1.1. Для проведения диагностических исследований отбирают пробы фекалий от животных, пробы патологического материала, соскобы объектов внешней среды, а также пробы промежуточных и дополнительных хозяев нематод.

1.2. Пробы фекалий берут от живых и павших животных.

1.2.1. От живых животных пробы фекалий (3 г) берут из прямой кишки животного или только что выделившиеся испражнения. В последнем случае берут верхнюю часть фекалий, не соприкасающуюся с полом или почвой. Чтобы не занести яйца или личинок гельминтов из фекалий инвазированного животного, руку после взятия пробы тщательно моют.

Пробы берут от 10% поголовья группы, но не менее чем от 30 животных каждой возрастной группы. От основных свиноматок и хряков-производителей пробы берут от каждого животного.

1.2.2. От павших животных фекалии берут из прямой кишки в количестве, указанном в п. 1.2.1.

1.2.3. Отобранные пробы фекалий упаковывают в полиэтиленовый пакет или пергаментную бумагу на краю которых ставят номер пробы или в хорошо закрывающийся сосуд.

В лабораторию доставляют пробы не более суточной давности со времени взятия. До проведения исследований пробы хранят в холодильнике при температуре 2–4°C для задержки развития личинок нематод, а для консервирования добавляют 2,5%-ный раствор бихромата калия.

1.3. Пробы патологического материала отбирают при вскрытии павших или вынуждено убитых животных.

При отборе проб необходимо учитывать характерные патологоанатомические изменения и брать части кишечника, паренхиматозных органов, которые консервируют бихроматом калия. Для гистологических исследований пробы хранят в 10%-ном растворе формальдегида.

1.4. Для определения загрязненности объектов внешней среды яйцами и личинками нематод необходимо брать из разных мест от 3 до

10 соскобов (по 3 г) с пола станков, проходов, стен станков, кормушек и смывы с предметов ухода за животными (скребки, метла). Отобранные соскобы объектов внешней среды упаковывают для отправления в лабораторию как указано в п. 1.2.3.

1.5. Для определения зараженности промежуточных и дополнительных хозяев личинками нематод необходимо в летние месяцы в местностях, неблагополучных по метастронгилезу и аскаридатозам из разных мест отобрать 10–20 экз. дождевых червей /олигохет/. Отобранные пробы помещают в пробирки, закрывают пробками и доставляют в лабораторию в день отбора.

1.6. Отправляемым в лабораторию отобранным пробам прилагают сопроводительный документ, в котором указывают:

- хозяйство (отделение, ферму, цех, участок);
- количество животных в отделении, цехе, участке;
- систему содержания;
- возраст и пол животного;
- категорию упитанности;
- заболеваемость и смертность;
- продолжительность заболевания;
- на какой гельминтоз исследовать;
- дату отбора проб и отправления для исследования.

При индивидуальном обследовании основных свиноматок и хрякопроизводительных номера или клички их на упаковке и в описи должны строго соответствовать.

## **2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1. Методы определения наличия яиц нематод в фекалиях**

Метод основан на определении с помощью микроскопа наличия яиц нематод аскарисов, трихоцефал, эзофагостом, стронгилоид и метастронгил всплывающих на поверхность флотационного раствора с исследуемым материалом.

2.1.1. Аппаратура, посуда, материалы и реактивы

2.1.1.1. При проведении исследования используют:

- микроскоп с окулярным микрометром марки МБИ-3 по ГОСТ 8284-78 или других марок;
- центрифугу лабораторную с пробирками ТУ 10-23-07-99 или других марок с частотой вращения 2000 об/мин;
- весы лабораторные по ГОСТ 24104-80;
- набор ареометров АОН-1 по ГОСТ 18481-81;

сита с ячейками размером 0,5-1 мм<sup>2</sup>;  
 стаканы пластмассовые вместимостью 30 см<sup>3</sup> по ГОСТ;  
 стаканы стеклянные вместимостью 50–150 см<sup>3</sup> по ГОСТ 10394-75;  
 чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 10973-75;  
 стекла предметные по ГОСТ 9284-75;  
 стекла покровные по ГОСТ 6672-75;  
 пипетки градуированные вместимостью 50 см<sup>3</sup> по ГОСТ 20292-75;  
 посуду лабораторную фарфоровую по ГОСТ 91-9147-73;  
 воронки стеклянные по ГОСТ 8613-75;  
 вату гигроскопическую медицинскую по ГОСТ 5556-81;  
 марлю медицинскую по ГОСТ 9412-93;  
 перчатки хирургические резиновые по ГОСТ 3-88;  
 штатив для пробирок;  
 петли металлические с диаметром 8–9 мм;  
 кюветы;  
 спиртовки СЛ-1 по ГОСТ 25336-82;  
 пипетки глазные;  
 натрий хлористый по ГОСТ 4333-77;  
 нитрат аммония (гранулированный или обычный) по ГОСТ 14702-79;  
 магний серноокислый по ГОСТ 4523-77;  
 глицерин по ГОСТ 6259-75;  
 формалин технический по ГОСТ 1625-75;  
 формальдегид по ГОСТ 1625-89

### **2.1.2. Подготовка к исследованию**

#### **2.1.2.1. Приготовление флотационных растворов.**

По методу Фюллеборна в качестве флотационной жидкости применяют насыщенный раствор натрия хлористого, который добавляют из расчета 420 г на 1 л кипящей дистиллированной воды. Раствору дают остыть, затем фильтруют через воронку с ватой или двухслойной марли в чистую склянку. Плотность определяют с помощью ареометров и она должна быть 1,18–1,19 г/см<sup>3</sup>.

По методу Котельникова-Хренова в качестве флотационной жидкости используют насыщенный раствор аммиачной селитры (гранулированной или обычной), приготовленный путем добавления 1500 г селитры на 1 л кипящей дистиллированной воды. После остывания раствор фильтруют в чистую посуду, а его плотность должна быть 1,28–1,29 г/см<sup>3</sup>.

При использовании комбинированного флотационного раствора применяют смесь натрия хлористого и нитрата аммония, которые добавляют на 1 л кипящей дистиллированной воды в количестве 250 и

550 г соответственно. Остывший раствор фильтруют в чистую посуду, проверяют плотность, которая должна быть 1,27–1,28 г/см<sup>3</sup>.

По методу Щербовича в качестве флотационной жидкости используют раствор магния сульфата, который добавляют на 1 л дистиллированной воды в количестве 920 г. Плотность приготовленного раствора после остывания должна быть 1,28–1,29 г/см<sup>3</sup>.

### *2.1.3. Проведение исследования*

Из доставленных в лабораторию проб фекалий для исследования стандартизированным методом овоскопии отбирают пробы массой 1 г. Вначале для отбора проб необходимо взвесить их, чтобы натренироваться в определении массы по величине пробы, а в дальнейшем можно использовать стандартный объем.

2.1.3.1. При исследовании по методу Фюллеборна пробу массой 1 г заливают в ступке 3–5 см<sup>3</sup> насыщенного раствора натрия хлористого, тщательно размешивают пестиком или стеклянной палочкой и по мере размешивания добавляют раствор, доводя объем до 15 см<sup>3</sup>.

Затем процеживают через сито в чистый стакан и отстаивают в течение 40 мин. За время флотации яйца нематод, удельный вес которых меньше веса насыщенного раствора натрия хлористого, всплывают на поверхность и концентрируются на поверхностной пленке. В дальнейшем, прикосновением металлической петли к разным местам поверхностной взвеси снимают три капли раствора и наносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом. Для не допущения быстрого высыхания и кристаллизации капель на предметных стеклах, к ним необходимо добавлять по небольшой капле 50%-ного водного раствора глицерина. Накрывать исследуемую каплю при массовых исследованиях покровным стеклом необязательно, как и не обжигать петлю после каждого переноса раствора на предметное стекло, достаточно лишь промыть ее несколькими резкими движениями в стаканчике с водой, но в начале и конце исследования следует обжигать над пламенем спиртовки.

При определении наличия яиц нематод под микроскопом пользуются соответствующим атласом яиц гельминтов.

Данный метод в лабораторной практике применяется для диагностики аскариоза, эзофагостомоза и стронгилоидоза свиней.

2.1.3.2. По методу Котельникова-Хренова техника выполнения такая же, что и предыдущего метода (флотация по методу Фюллеборна), но отличается временем отстаивания после фильтрования жидкости и оно составляет 10–15 мин.

Применяют для выявления возбудителей аскариоза, трихоцефалеза, эзофагостомоза, стронгилоидоза и метастронгилезе свиней.



2.1.3.3. При использовании комбинированного флотационного раствора натрия хлористого и нитрата аммония техника выполнения исследования схожа с предыдущими методами (Фюллеборна, Котельникова-Хренова), но отличается временем отстаивания. При использовании данного метода профильтрованную взвесь оставляют для флотации на 10–15 мин.

Используют для диагностики возбудителей аскариоза, эзофагостомоза, трихоцефалеза и стронгилоидоза.

2.1.3.4. При исследовании по методу Щербовича пробу массой 1 г заливают в ступке 5 см<sup>3</sup> воды, тщательно размешивают добавляя воду до 15 см<sup>3</sup>. Затем полученную взвесь процеживают через сито в стакан и отстаивают в течение 5 мин. После отстаивания верхний слой жидкости сливают, а на дне оставляют осадок с водой и переносят в центрифужную пробирку. Наполненные до одинакового уровня пробирки центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. После чего жидкость из пробирок сливают, а к осадку добавляют 10 см<sup>3</sup> флотационного раствора магния сульфата, тщательно перемешивают до получения взвеси и опять центрифугируют в течение 2 мин. Затем металлической петлей снимают из каждой пробирки по три капли поверхностной взвеси, переносят на предметное стекло и препарат исследуют под микроскопом.

Метод наиболее эффективен для диагностики метастронгилеза и трихоцефалеза. С успехом можно использовать и для диагностики других нематодозов свиней.

## 2.2. Метод определения количества яиц нематод в фекалиях

### 2.2.1. Аппаратура, материалы и реактивы.

2.2.1.1. При проведении исследования применяют аппаратуру, материалы и реактивы, отмеченные в п. 2.1.1 и дополнительно одну из счетных камер: Горяева, или ВИГИСа.

### 2.2.2. Проведение исследования

2.2.2.1. Взвешивают 1 г фекалий и размешивают в ступке с 15 см<sup>3</sup> воды и тщательно гомогенизируют. Полученную суспензию фильтруют через сито, 10 см<sup>3</sup> фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. Затем жидкость из пробирки сливают, а к осадку добавляют 10 см<sup>3</sup> флотационного раствора, тщательно перемешивают и используют для заполнения счетной камеры Горяева. При отсутствии счетной камеры допускается использование предметного стекла, на которое наносят 0,15 см<sup>3</sup> суспензии и накрывают покровным стеклом. В дальнейшем запол-

неную камеру или предметное стекло с  $0,15 \text{ см}^3$  суспензии выдерживают в течение 2 мин, чтобы яйца нематод могли подняться к поверхности, и под микроскопом подсчитывают количество яиц нематод. Полученное число, умноженное на 100 будет показывать содержание яиц нематод в 1 г фекалий. Допускается, для более точного определения количества яиц использование нескольких камер (2–3).

2.2.1.1. При использовании счетной камеры ВИГИСа 1 г фекалий размешивают в ступке с небольшим количеством флотационного раствора аммиачной селитры ( $5 \text{ см}^3$ ) и тщательно перемешивают пестиком. По мере размешивания добавляют раствор и доводят до объема  $15 \text{ см}^3$ . Взвесь фильтруют через ситечко в чистый стакан с последующим отжимом содержимого в ситечко и тщательным размешиванием взвеси. Затем пастеровской пипеткой быстро переносят  $0,5 \text{ см}^3$  взвеси в одну из ячеек счетной камеры и оставляют на 2 мин, после чего подсчитывают количество яиц нематод. При необходимости заполняют и другие ячейки взвесью пробы из того же стаканчика, но при этом каждый раз перед заполнением ячейки смесь перемешивают.

Подсчет яиц нематод в ячейке проводят с помощью микроскопа МБИ при увеличении  $7\times 8$ , МБС –  $8\times 4$  и лучше при искусственном освещении. Для установления количества яиц в 1 г фекалий делают расчет по числу обнаруженных яиц в одной, или двух или же во всех четырех ячейках. Для подсчета яиц в 1 г фекалий необходимо число яиц, выявленных в ячейке, умножить на 30, в двух ячейках – на 15, а в четырех – на 7,5.

### 2.2.3. Обработка результатов

2.2.3.1. У домашней свиньи обнаружение единичных яиц нематод до (100 яиц) в 1 г фекалий свидетельствует о субклиническом течении гельминтозов и об их постоянном выделении в окружающую среду.

Наличие 101–500 яиц нематод в 1 г фекалий свидетельствует:

для аскариоза поросят – о заражении низкой степени, а для взрослых свиней – о заражении средней степени;

для трихоцефалеза, стронгилоидоза и метастронгилеза – о заражении средней степени,

для эзофагостомоза поросят – о заражении средней степени, а для взрослых свиней о низкой степени инвазии.

Наличие 501–1000 яиц нематод в 1 г фекалий свидетельствует: для аскариоза поросят – о заражении средней степени, а для взрослых свиней – признак сильного заражения;

для трихоцефалеза, стронгилоидоза и метастронгилеза – о сильном заражении;

для эзофагостомоза молодняка свиней – о сильном заражении, а для взрослых свиней – о средней степени инвазии.

Наличие 1001–2000 яиц нематод в 1 г фекалий свиней свидетельствует:

для аскариоза поросят и эзофагостомоза взрослых свиней – признак сильного заражения, а для других нематодозов – признак очень сильного заражения.

Наличие 2001–4000 и более яиц нематод в 1 г фекалий свидетельствует:

для аскариоза поросят и эзофагостомоза взрослых свиней – признак очень сильного заражения.

### **2.3. Метод определения мигрирующих личинок аскарисов из легких и печени**

Метод основан на выявлении мигрирующих личинок аскарисов из печени и легких вынужденно убитых или павших поросят аппаратом Бермана с последующим просмотром под микроскопом.

#### **2.3.1. Аппаратура и материалы**

##### **2.3.1.1. Для проведения исследования применяют:**

ножницы по ГОСТ 21239-77;

пинцеты по ГОСТ 21241-77;

чашки лабораторные стеклянные по ГОСТ 10973-75;

марлю медицинскую по ГОСТ 9412-93;

стекла предметные по ГОСТ 9224-75;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72;

аппарат Бермана.

#### **2.3.2. Проведение исследования**

2.3.2.1. Легкие и печень поросят разрезают на мелкие кусочки, завертывают в марлевые салфетки и закладывают в аппарат Бермана по отдельности. Заливают водой температурой 38–40°C и отстаивают в течение 3–6 часов. После чего из пробирок надосадочную жидкость сливают, а осадок исследуют под микроскопом с целью обнаружения личинок аскарисов.

#### **2.3.3. Обработка результатов**

2.3.3.1. При обнаружении единичных личинок аскарисов (до 10) заболевание миграционной стадией аскариоза рассматривается как вторичный фактор, который не играет главную роль в падеже поросят. При обнаружении 10 и более личинок аскарисов в легких и печени и исключении других инфекционных заболеваний, аскариоз, вызванный миграционной стадией инвазии, считают причиной падежа поросят.

## 2.4. Метод исследования павших животных

Сущность метода заключается в установлении характерных патологоанатомических изменений и самих нематод в органах свиней при патологоанатомическом вскрытии животных. При этом у животных исследуют паренхиматозные органы и желудочно-кишечный тракт, обращая внимание на характер изменений, локализацию, количество и размер нематод.

### 2.4.1. Аппаратура, материалы и реактивы

2.4.1.1. Для проведения исследования применяют:

ножницы по ГОСТ 21239-77;

пинцеты по ГОСТ 21241-77;

чашки лабораторные стеклянные по ГОСТ 10973-75;

пипетки глазные;

натрий хлористый по ГОСТ 4233-77;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72;

лупу бинокулярную или микроскоп.

### 2.4.2. Проведение исследования

2.4.2.1. **АСКАРИОЗ.** При разрезе слизистая тонкого отдела кишечника воспалена. Аскарисов обнаруживают в тонком отделе кишечника, иногда в протоках печени и поджелудочной железы. В случае большого скопления аскарисов обнаруживают закупорку или разрыв кишечника, протоков печени и поджелудочной железы. Аскарисы крупные нематоды белого цвета, длиной 10–50 см. В легких и печени находят точечные и пятнистые кровоизлияния, в легких отмечают пневмонию, а печень покрыта множественными беловатыми очагами величиной 1–5 мм и на разрезе полнокровная.

**ТРИХОЦЕФАЛЕЗ.** При продольном разрезе толстого отдела кишечника у поросят отмечают катарально-дистрофический колит, проктит. Иногда наблюдают дистрофию паренхиматозных органов, отек легких и катаральный лимфаденит. Трихоцефалы – белого цвета, длиной 20–53 мм, имеют тонкий длинный головной конец, задний конец тела толстый и короткий. Трихоцефал находят в просвете толстого отдела кишечника, чаще в слепой кишке, внедрившихся головным концом в слизистую оболочку кишок.

**ЭЗОФАГОСТОМОЗ.** На слизистой слепой и ободочной кишок характерно появление мелких, плотных на ощупь узелков величиной 0,2–0,5 мм с желтоватым пятнышком в центре. Слизистая в этих местах утолщена, гиперемирована. Нередко узелки наполнены зеленовато-серой гнойной массой. В поздние сроки на месте узелков остается рубцовая ткань в виде белых плотных пятнышек. Кроме того, наблюдают отек кишечной

стенки, отложения густого вязкого экссудата или гнойно-некротических масс. Взрослые эзофагостомы – серо-белого цвета, длиной 7–14 мм. Взрослых особей при вскрытии находят в просвете толстого отдела кишечника, а эзофагостомозные узелки на слизистой оболочке.

**СТРОНГИЛОИДОЗ.** Трупы павших поросят ниже средней упитанности или истощены. Кожа складчатая, местами уплотнена, гиперемирована, нередко экзематозна и пронизана кровоизлияниями. Легкие в период миграции личинок несколько увеличены, полнокровны. Местами отмечают лобулярные пневмотические очаги, катаральный бронхит. В кишечнике острое катаральное воспаление, пятнистые кровоизлияния, эрозии и язвы. Брыжеечные лимфоузлы набухшие, покрасневшие, иногда с точечными кровоизлияниями. В печени и почках при остром течении нередко зернистая дистрофия. Стронгилоиды мелкие нематоды, серо-белого цвета, длиной 2,1–6 мм. Половозрелых стронгилоид находят в просвете тонкого отдела кишечника.

**МЕТАСТРОНГИЛЕЗ.** Легкие увеличены, отмечают бронхит, альвеолярную эмфизему, ателектазы, фокусы, характерные для пневмонии. При вскрытии бронхов метастронгил часто находят в задних и средних долях легких. Слизистая оболочка бронхов набухшая и покрасневшая. Отмечают узелковые поражения легких величиной до конопляного зерна серого цвета и плотной консистенции. Взрослые метастронгилы белого цвета, длиной до 5 см.

Обнаруженных при вскрытии нематод собирают с помощью пинцета в чашки Петри, промывают физиологическим раствором, подсчитывают и идентифицируют используя соответствующий определитель.

#### **2.4.3. Обработка результатов**

2.4.3.1. При обнаружении единичных нематод заболевание аскариозом, эзофагостомозом, трихоцефалезом, стронгилоидозом и метастронгилезом рассматривается как вторичный фактор, который не играет основную роль в падеже животных. При установлении большого количества отмеченных нематод (10 и более) и исключении других инфекционных заболеваний эти гельминтозы считают причиной падежа животных.

### **2.5. Метод исследования соскобов из объектов внешней среды на наличие яиц нематод**

Сущность метода заключается в обнаружении и подсчете количества яиц нематод в 1 г обследуемой пробы, определении степени загрязнения объектов внешней среды инвазионными элементами и тяжести течения гельминтоза.

### **2.5.1. Аппаратура, материалы и реактивы**

2.5.1.1. При проведении исследования используют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.1.1., и дополнительно одну из счетных камер: Горяева, или ВИГИСа; гомогенизатор электрический.

### **2.5.2. Проведение исследования**

2.5.2.1. Взятую для исследования пробу (соскоб) тщательно перемешивают и взвешивают 3 г пробы с погрешностью не более 0,02 г. Затем перекладывают в стакан с 30 см<sup>3</sup> воды, ставят в холодильник, выдерживают в течение 12 ч и гомогенизируют 2 мин в электрическом гомогенизаторе с частотой вращения 2000 об/мин. Полученную суспензию фильтруют в течение 5 мин. После чего, жидкую часть сливают, к осадку добавляют 10 см<sup>3</sup> флотационного раствора и тщательно перемешивают, путем встряхивания. После чего готовой взвесью наполняют счетную камеру или помещают 0,15 см<sup>3</sup> суспензии на предметное стекло, накрывают ее покровным стеклом, выдерживают в течение 2 мин и подсчитывают количество яиц нематод. Полученное число умножают на коэффициент 67, что представляет собой количество яиц нематод в 1 г обследуемой соскобы.

### **2.5.3. Обработка результатов**

2.5.3.1. При определении видов нематод под микроскопом пользуются соответствующим атласом яиц гельминтов.

При установлении до 500 яиц нематод в 1 г обследуемого соскоба отмечают низкую загрязненность объектов внешней среды, что свидетельствует о низкой и средней зараженности свиней аскаридами, эзофагостомами, трихоцефалами, стронгилоидами и метастронгилами.

Наличие до 1000 яиц нематод в 1 г соскоба свидетельствует о средней загрязненности объектов внешней среды и о средней и высокой инвазированности свиней отмеченными нематодами.

Обнаружение свыше 1000 яиц нематод в 1 г соскоба показывает высокую загрязненность объектов внешней среды инвазионными элементами, достаточно высокую инвазированность свиней нематодами и недостаточную эффективность противогельминтных мероприятий.

## **2.6. Метод установления интенсивности инвазии**

### **2.6.1. Проведение исследования**

2.6.1.1. Интенсивность инвазии яйцами нематод у свиней устанавливают подсчетом их количества в трех каплях обследуемой стандартной пробы (1 г) при микроскопии и делением полученного числа на 3.

### **2.6.2. Обработка результатов**

2.6.2.1. Подсчитанное число яиц нематод свиней делят на 3. Полученное число будет показывать ориентировочную интенсивность нематодозной инвазии в 1 капле исследуемой пробы. Исходя из отмеченного для нематод свиней устанавливают следующую ориентировочную интенсивность инвазий:

для аскариоза и эзофагостомоза:

низкая инвазия – 1–10 яиц (+);

средняя инвазия – 11–30 яиц (++);

высокая инвазия – 31–100 яиц (+++);

очень высокая инвазия-свыше 100 яиц (++++).

для трихоцефалеза, стронгилоидоза и метастронгилеза: низкая инвазия – 1–10 яиц (+);

средняя инвазия – 11–20 яиц (++);

высокая инвазия – 21–30 яиц (+++);

очень высокая инвазия – 31–100 и выше яиц (++++).

При установлении интенсивности инвазии необходимо учитывать одновременное присутствие разных видов нематод и паразитических простейших.

## **2.7. Метод исследования почвы на наличие яиц нематод**

Сущность метода заключается в выявлении степени загрязнения яйцами нематод почвы на разном удалении от животноводческих помещений, на пастбище и других местах с поверхности и различной глубине.

### **2.7.1. Аппаратура, материалы и реактивы**

2.7.1.1. Для проведения исследования используют аппаратуру, материалы и реактивы указанные в п. 2.1.1. и дополнительно:

шпатель или лопаточку; электромешалку;

центрифугу с пробирками;

формалин технический по ГОСТ – 1625-75;

натрий азотнокислый по ГОСТ – 4168-79;

натрий едкий по ГОСТ – 4328-77;

калий едкий по ГОСТ – 24363-80;

### **2.7.2. Подготовка к исследованию**

Пробы с поверхности почвы (с глубины 1–3 см) берут из затененных и освещенных солнцем участков шпателем, а с глубины до 20 см – лопаточкой или буром. С каждого обследуемого участка берут одновременно несколько проб (3–5) по 10–20 г каждая по диагонали. Взятые пробы помещают в банки с крышкой или целлофановые пакеты. Каж-

дая проба должна иметь этикетку с указанием места отбора, даты, глубины, характера исследуемого участка (в тени или под солнцем, состав почвы, наличие растительности и другие). В лаборатории пробы помещают в холодильник или каждую из них пересыпают в кристаллизатор, заливают 3%-ным раствором формалина на изотоническом растворе натрия хлорида (жидкость Барбагалло). В холодильнике почву можно хранить не более месяца, время от времени аэрируя и увлажняя ее.

### *2.7.3. Проведение исследования*

При исследовании по методам Романенко и Гуджабидзе пробы почвы 25 г помещают в центрифужные пробирки на 80–100 см<sup>3</sup> и заливают 3%-ным раствором едкого натрия или калия в соотношении 1:1. Содержимое пробирок тщательно размешивают при помощи электромешалки или стеклянных палочек, отстаивают в течение 20–30 мин, затем центрифугируют 5 мин при 800 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, а почву промывают водой от 1 до 5 раз в зависимости от типа почвы (для песчаных и супесчаных почв достаточно одной промывки, а для глинистых, суглинистых, черноземных – от 2 до 5 раз) до получения прозрачной надосадочной жидкости. После промывки к почве добавляют 45 см<sup>3</sup> насыщенного раствора натрия нитрата, тщательно размешивают и центрифугируют 3 мин. При отсутствии натрия нитрата можно использовать раствор магния сульфата. После центрифугирования пробирки со смесью ставят в штатив и осторожно доливают раствор натрия нитрата до образования выпуклого мениска, а затем покрывают предметными стеклами размером 10×6 см, предварительно обезжиренными смесью спирта с эфиром (в соотношении 1:2) или прокипяченными в воде со щелочью или с одним из имеющихся стиральных порошков. Смесь в пробирках отстаивают 30 мин. Во время отстаивания яйца нематод всплывают на поверхность и прилипают к стеклу. Затем стекла снимают а на их место ставят чистые. На снятые стекла наносят несколько капель 50%-ного водного раствора глицерина, капли накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Затем просматривают вторые стекла.

### *2.7.4. Обработка результатов*

Для обнаружения яиц нематод предметные стекла просматривают при увеличении 80 раз (окуляр 10 х объектив 8), а для определения степени развития, жизнеспособности и степени деформации - при увеличении в 400 раз (10 х 40). Подсчитанное в двух предметных стеклах количество яиц нематод по видам дает характеристику степени загрязнения или обсеменности разных проб почвы яйцами нематод свиней.



## 2.8. Метод исследования промежуточных и дополнительных хозяев нематод на зараженность

Сущность метода заключается в выявлении и определении с помощью микроскопа или бинокулярной лупы инвазированных личинок метастронгил и аскарид у дождевых червей, которые являются соответственно промежуточными хозяевами метастронгил и резервуарными - аскаридат.

### 2.8.1. Аппаратура, материалы и реактивы

2.8.1.1. Для проведения исследования применяют:

ножницы по ГОСТ 21239-77;

пинцеты по ГОСТ 21241-77;

чашки лабораторные стеклянные по ГОСТ 10973-75;

стекла предметные по ГОСТ 9224-75;

марлю медицинскую по ГОСТ 9412-93;

пробирки лабораторные;

натрий хлористый по ГОСТ 4233-77;

кислота соляная по ГОСТ 3118-75;

пепсин по ТУ - 10.02.01.111.89;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709-72;

формалин технический по ГОСТ 1625-75;

аппарат Бермана;

термостат лабораторный;

лупу бинокулярную или микроскоп.

### 2.8.2. Проведение исследования

2.8.2.1. Собранных дождевых червей промывают водой и убивают, добавляя в пробирку несколько капель 1%-ного раствора формалина. Затем дождевого червя кладут на предметное стекло, разрезают ножницами кутикулу в передней четверти тела, отделяют пищевод, зоб, мускулистый желудок с окружающими кровеносными сосудами и помещают на предметное стекло, затем накрывают другим предметным стеклом, их сжимают и исследуют в раздавленном препарате под бинокулярной лупой или микроскопом.

Органы червей можно исследовать и биохимическим методом — путем переваривания в искусственном желудочном соке (пепсин — 5 г, соляная кислота концентрированная — 10 см<sup>3</sup>, теплый физиологический раствор (43°C) — 1000 см<sup>3</sup>). Органы червей размельчают на предметном стекле, заворачивают в марлевую салфетку, кладут в воронку аппарата Бермана, заливают теплым искусственным желудочным соком в соотношении 1:15 и ставят в термостат при 43°C на 1,5–2 часа. Затем пробирку

аппарата Бермана отсоединяют, отстаивают в течение 5–10 мин, надосадочную жидкость отстаивают, а каплю осадка помещают на предметное или часовое стекло и исследуют под микроскопом или лупой.

При микроскопии необходимо учитывать, что у инвазионной личинки метастронгил задний конец острый, передний – тупой, недалеко от хвостового конца имеется маленький кутикулярный шип; личинка аскариды – белого цвета, имеет пищевод, кишечник в виде трубки.

### **2.8.3. Обработка результатов**

2.8.3.1. Результаты исследования считают положительными при обнаружении в обследуемых препаратах личинок нематод. Наличие в одной обследуемой пробе 10 и более личинок свидетельствует о высокой интенсивности инвазии у промежуточных и дополнительных хозяев нематод, обусловленной высокой зараженностью свиней метастронгилами и аскарисами.