

SKIRTINGŲ MCMASTER KAMERŲ LYGINAMASIS EFEKTYVUMO ĮVERTINIMAS DIAGNOZUOJANT GYVULIŲ NEMATODOZES

Asta Pereckienė¹, Antanas Vyšniauskas¹, Saulius Petkevičius^{1,2}

¹Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115, Kaišiadorys; tel. (8~346) 6 06 91; el. paštas: petkevicius@lva.lt

²Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas

Santrauka. Pirmuoju etapu tyrimai atlikti 13 kiaulių fermų, dviejuose žirgynuose ir dviejuose avininkystės ūkiuose. Ištyrėme 815 kiaulių išmatų mėginių ir po 264 arklių bei avių išmatų mėginius. Tyrimus atlikome S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) McMaster metodo modifikacija. Antrajam etapui paruošėme po 60 kiaulių, arklių ir avių eksperimentinių išmatų mėginių, kuriuos ištyrėme dvejomis efektyviausiomis McMaster metodo modifikacijomis. Eksperimentinius arklių išmatų mėginius tyrėme S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) bei G. M. Urquhart (1996) modifikacijomis, o kiaulių ir avių, S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) bei T. Kassai (1999) modifikacijomis. Išmatų mėginiai tirti klasikine McMaster 0,3 ml kamera bei A. Vyšniausko 1,5 ml kamera. Naujoji kiaušinėlių skaičiavimo kamera pagaminta su šoniniais borteliais, kurie neleidžia išmatų suspensijai ištekėti ir kartu pagerina tyrimo kokybę bei apsaugo mikroskopo optiką nuo žalingo poveikio. 1,5 ml kamera atitinka pagrindinius McMaster kameros matmenis, todėl ją galima sėkmingai naudoti visoms literatūroje aprašytoms McMaster metodo modifikacijoms.

Kiaulių fermose klasikine McMaster kamera rastos 205, o naująja kamera – 273 helmintais invazuotos kiaulės. 0,3 ml kamera kiaulių trichurozė nustatyta tik aštuoniose fermose, panaudojus 1,5 ml kamerą – net vienuolikoje. Kiaulių ezofagostomozė klasikine McMaster kamera išaiškinta penkiose, o naująja helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera – septyniose fermose. Žirgynuose 0,3 ml kamera išaiškino 173, o 1,5 ml kamera – 221 helmintų kiaušinėliais invazuotą arklių. Avininkystės ūkiuose klasikine McMaster kamera nustatėme 215, o naująja kamera – 254 helmintais invazuotas avis.

Tiriant eksperimentinius išmatų mėginius S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976), T. Kassai (1999) bei G. M. Urquhart (1996) modifikacijomis, visais atvejais, naudojant 1,5 ml kiaušinėlių skaičiavimo kamerą, rastas didesnis invazuotų mėginių procentas.

Naujoji helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera išaiškina daugiau helmintozių, invazuotų gyvulių bei ūkių, kur gyvuliai yra užsikrėtę helmintais. Naujoji kamera tiriant S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija leidžia 5 kartus padidinti tiriamų išmatų kiekį ir užtikrinti mažesnius tyrimo rezultatų svyravimus.

Raktažodžiai: gyvuliai, helmintų kiaušinėliai, McMaster, palyginimas.

EFFICIENCY OF DIFFERENT MODIFICATIONS OF MCMASTER METHOD FOR ENUMERATION OF NEMATODE EGGS

Asta Pereckienė¹, Antanas Vyšniauskas¹, Saulius Petkevičius^{1,2}

¹Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto st. 2, LT-56115 Kaišiadorys, Lithuania, tel. +370 346 6 60 91; e-mail: petkevicius@lva.lt

²Department of Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės st. 18. LT-47181, Kaunas, Lithuania

Summary. Efficiency of different modifications of McMaster method for enumeration of nematode eggs in different agriculture animals was studied. For experiment 13 pig, 2 horse and 2 sheep farms were randomly selected, and 815 of pig faecal samples, 264 of horse and 264 of sheep faecal samples were examined. The positive samples were identified by S.A. Henriksen & K. Aagaard (1976) modification of McMaster method. Furthermore, 60 positive faecal samples of each species of animal (pig, horse and sheep) were selected. Experimental horse faeces were examined by S. A. Henriksen & K. Aagaard (1976) and G. M. Urquhart (1996) modifications, whereas pig and sheep faeces were examined by S. A. Henriksen & K. Aagaard (1976) and T. Kassai (1999) modifications, respectively. All samples were evaluated in two replicates: using traditional McMaster 0.3 ml chamber - I and newly designed 1.5 ml chamber - II (Vyšniauskas et al., 2005). The new egg count chamber (II) has a bead, which prevent the faeces suspension from seeping out and protects the optics of microscope from adverse effect. In pig farms, 205 and 273 pigs (I and II) were positive to whipworm, roundworm and nodular worm infections ($P < 0.05$). In horse farms, 173 and 221 with strongyles infected horses were identified ($P < 0.05$), and in sheep farms the number of positive to strongyle infection animals was 215 and 254 (I and II chambers, $P < 0.05$), respectively.

The new modification of chamber demonstrated statistically higher sensitivity for enumeration of nematode eggs and for evaluation of farms with infected animals compared to S. A. Henriksen & K. Aagaard (1976), T. Kassai (1999) and G. M. Urquhart (1996) modifications.

Key words: EPG, McMaster, comparison.

Įvadas. Veterinarinėje praktikoje labai svarbu laiku išaiškinti gyvulių helmintozes, o teisingą diagnozę patvirtinti laboratoriniais tyrimais. Nustačius parazituojančią helmintų rūšį, galima tiksliai parinkti reikiamus antihelmintikus ir taikyti atitinkamas profilaktikos priemones. Nors koproskopiniai tyrimai yra nesudėtingi ir greitai atliekami, tačiau dar nėra pakankamai efektyvūs.

Įvairios laboratorijos koproskopiniams tyrimams naudoja individualius arba grupinius išmatų mėginius; abu būdai turi savų privalumų ir trūkumų. Nepaisant to, grupinio mėginio tyrimas yra daug greitesnis ir patogesnis parenkant tinkamas kontrolės priemones, nes reikalingos mažesnės laiko ir darbo sąnaudos, sumažėja koproskopinių tyrimų kaštai parazitologijos laboratorijose. Tiriant individualius ir grupinius mėginius ryškaus rezultato skirtumo nenustatyta (Baldock et al., 1990; Ward et al., 1997; Joachim et al., 2001; Morgan et al., 2005; Coles et al., 2006), bet tiriant grupinius mėginius negalima išaiškinti invazijos ekstensyvumo tiriamoje fermoje.

Koproskopiniai tyrimai gali būti kokybiniai ir kiekybiniai, kurie dar skirstomi į sedimentacinius, flotacinius ir kombinuotuosius. Didžioji dauguma sedimentacinių metodų, išskyrus Stoll metodą, yra kokybiniai. Kiaušinėlių flotacija tirpale būna tiesioginė arba netiesioginė (su centrifugavimu). Didžioji dauguma flotacinių metodų, kai necentrifuguojama, yra kokybiniai, išskyrus McMaster metodą, kai galutiniame etape kiaušinėlių flotacija vyksta pačioje McMaster kameroje.

Kiekybiniams tyrimams atlikti vis dažniau taikomos įvairios McMaster metodo modifikacijos, kurių jautrumas svyruoja nuo 10 iki 100 kiaušinėlių 1 g išmatų (Whitlock, 1948; MAAF, 1986; Anonymous, 1986; Coles et al., 1992; Ihler, Bjørn, 1996; Ward et al., 1997; Roepstorff, Nansen, 1998; Craven et al., 1999; Varady et al., 2000; Pook et al., 2002; Mercier et al., 2001). Atliekant tyrimus šiomis modifikacijomis išaiškintas kiaušinėlių kiekis perskaičiuojamas 1 g išmatų, t. y. tiriamajame mėginyje rastas kiaušinėlių skaičius dauginamas iš atitinkamų jautrumo koeficientų (nuo 10 iki 100). Taip ištiriama nuo 10 iki 100 mg išmatų; esant pakankamai dideliems jautrumo koeficientams gaunami netikslūs EPG rezultatai.

H. V. Whitlock (1948), Anonymous (1986), H. V. Whitlock su grupe mokslininkų (1980), M. Lyndal-Murphy (1993), G. Cringoli su grupe tyrėjų (2004), S. L. Presland ir kt. (2005) nurodo, kad helmintų kiaušinėliams skaičiuoti naudojamos: tradicinė dviejų langelių McMaster kamera (2 x 0,15 ml), Gordon-Whitlock kamera (3 x 0,15), Whitlock McMaster kamera (3 x 0,3 ml), Whitlock universali kamera (4 x 0,5 ml), FECPAK 1 ml kamera (2 x 0,5 ml) ir modifikuota MAFF 1 ml kamera (2 x 0,5 ml).

G. Cringoli su kitais mokslininkais (2004) tyrimais nustatė, kad McMaster metodo patikimumą lemia daugelis veiksnių: flotacinis tirpalas, mėginių skiedimo santykis ir McMaster kameros tūris. Jų nuomone, tiksliausi rezultatai gaunami skiedžiant 1:10 ir 1:15, naudojant sacharozės pagrindu pagamintus flotacinius tirpalus, kurių lyginamasis svoris siekia iki 1,35, ir tyrimus atkiekiant 1 ml McMaster kamera (modifikuota MAFF, 1986). R. Quinn su kitais tyrėjais (1980) pateikė įrodymų, kad ne tik lyginamasis flotacinių tirpalų svoris, bet ir klampumas yra

svarbūs veiksniai, darantys įtaką skirtingo svorio kiaušinėlių flotacijai. Be to, pildant McMaster kamerą klampesniais flotaciniais tirpalais, skystis stikliniu kameros paviršiumi pasklinda tolygiau, rečiau susidaro oro burbulai, galintys iškreipti kiaušinėlių skaičiavimo rezultatus. Tokie flotaciniai tirpalai geriau užsilaiko kameros viduje. Taigi, net mikroskopavimo metu skystis nesiteliūskuoja ir neišteka iš kameros (Vyšniauskas ir kt., 2005).

FECPAK metodas arklių išmatų tyrimams yra žymiai paprastesnis ir jautresnis, esant mažai helmintų invazijai, nei McMaster metodas. S. L. Presland su kitais tyrėjais, taikydami FECPAK metodą, tyrimui ėmė didesnę išmatų kiekį (10 g avių ir 20 g arklių) ir mikroskopavo 1 ml kameroje. Taip jie išaiškino daugiau invazuotų mėginių nei tradiciniu McMaster metodu. Atliekant tyrimus avims, jautrumo koeficientas yra 30, o arkliams – 25. McMaster metodas yra patikimesnis individualiems, o FECPAK – sudėtiniam mėginiams tirti (Presland et al., 2005).

Išanalizavę helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kameras ir jų diagnostines galimybes, nusprendėme pasigaminti panašaus tipo kamerą ir ją išbandyti efektyviausia McMaster metodo modifikacija. Norėjome panaudoti kuo didesnę tiriamų išmatų kiekį ir kartu sumažinti jautrumo koeficientą. Atsižvelgdami į tai, naujai pagamintą 1,5 ml kamerą palyginome su klasikine McMaster kamera, abiem atvejais taikėme McMaster metodo S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikaciją.

Medžiagos ir metodai. Eksperimentui panaudotos natūraliai invazuotų kiaulių, arklių ir avių išmatos, kurios tirtos klasikine McMaster 0,3 ml kamera bei nauja 1,5 ml kamera su borteliais (Vyšniauskas ir kt., 2005). Naujoji helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera atitinka pagrindinius McMaster kameros matmenis, todėl visoms literatūroje aprašytoms McMaster metodo modifikacijoms galima sėkmingai ją naudoti.

Skirtingo tūrio kameromis atlikti palyginamieji tyrimai, įvertintas invazuotų mėginių išaiškinamumas ir tyrimo rezultatų stabilumas. Kameros įvertintos ne tik pagal rastą invazuotų mėginių kiekį, bet ir pagal nustatytas atskiras helmintų rūšis, t. y. išaiškintas helmintozes bei invazuotus ūkius.

Pirmuoju etapu tyrimai atlikti 13 kiaulių fermų, dviejuose žirgynuose ir dviejuose avininkystės ūkiuose. Ištyrėme 815 kiaulių išmatų mėginių ir po 264 arklių ir avių išmatų mėginius. Tyrimus atlikome S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) McMaster metodo modifikacija, naudojome tradicinę McMaster ir naująją kamerą. Antrajuoju etapu tyrimams buvo paruošti eksperimentiniai kiaulių, arklių ir avių išmatų mėginiai. Juose buvo ne daugiau kaip 10 kiaušinėlių 1 g išmatų. Dviem skirtingomis McMaster metodo modifikacijomis iš viso ištirta po 60 kiaulių, arklių ir avių eksperimentinių išmatų mėginių. Arklių išmatų mėginius tyrėme McMaster metodo S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) bei G. M. Urquhart (1996) modifikacijomis, o kiaulių ir avių – S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) bei T. Kassai (1999) modifikacijomis. Eksperimentinius išmatų mėginius taip pat ištyrėme skirtingo tūrio kameromis.

Pateikiame trumpus taikytų McMaster metodo modifikacijų aprašymus.

1. *Henriksen ir Aagaard, 1976*. Pasveriami 4 g išmatų ir užpilama 56 ml vandens. Gauta suspensija paliekama stovėti 30 min. Centrifuguojama 7 min 1200 aps./min, tada prisotintame valgomosios druskos ir cukraus tirpale (lyg. sv. 1,27) atliekama flotacija. Tiriant klasikine McMaster kamera, šios modifikacijos jautrumas yra 20, o naudojant naują kamerą – 4.

2. *Kassai, 1999*. 3 g išmatų užpilama 42 ml vandens. Užpildomas 15 ml centrifuginis mėgintuvėlis ir 3 min centrifuguojama 1500 aps./min. Flotacijai naudojamas prisotintas NaCl tirpalas (lyg. sv. 1,27). Tiriant klasikine McMaster kamera modifikacijos jautrumas yra 50, o naują kamerą – 10.

3. *Urquhart et al., 1996*. 3 g išmatų sumaišoma su 42 ml vandens. Centrifuguojama 2 min 2000 aps./min. Flotacijai naudojamas prisotintas NaCl tirpalas. Tiriant klasikine McMaster kamera modifikacijos jautrumas yra 50, o

naują kamerą – 10.

Rezultatai. Pirmuoju etapu, ištyrus trylikoje kiaulių fermų 815 išmatų mėginių, klasikine 0,3 ml McMaster kamera rastos 205, o 1,5 ml kamera – 273 helmintais invazuotos kiaulės.

Naudojant naują helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamerą visose kiaulių fermose išaiškinta 1,3 karto invazuotų mėginių daugiau, nei klasikine McMaster kamera (1 lentelė). 1,5 ml kamera *Ascaris suum* helmintų kiaušinėliais užkrėstų mėginių rasta 1,6, *Oesophagostomum dentatum* – 1,2, o *Trichuris suis* – 2,2 karto daugiau, nei 0,3 ml kamera. Fermose, kur klasikine McMaster kamera nustatyta iki 10 proc. invazuotų mėginių, apskaičiuotas skirtumo koeficientas buvo didžiausias – 1,8. Tuo tarpu fermose, kur rasta daugiau kaip 50 proc. užsikrėtusių kiaulių, skirtumo koeficientas buvo mažiausias – 1,02.

1 lentelė. Kiaulių koproskopinių tyrimų duomenys, tiriant skirtingo tūrio kameromis

| Kiaulių fermos | Tirtų mėginių skaičius | Invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | | <i>Ascaris suum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | | <i>Oesophagostomum dentatum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | | <i>Trichuris suis</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | | |
|----------------|------------------------|----------------------|--------|-----------------------|---------|--|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|---|
| | | 0,3 ml | 1,5 ml | Individualus | Bendras | 0,3 ml | 1,5 ml | Skirtumo koeficientas | 0,3 ml | 1,5 ml | Skirtumo koeficientas | 0,3 ml | 1,5 ml | Skirtumo koeficientas | |
| 1. | 63 | 3,2 | 14,3 | 4,5 | 1,8 | 1,6 | 3,2 | 2,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,6 | * | |
| 2. | 60 | 5,0 | 10,0 | 2 | | 5,0 | 6,7 | 1,3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,7 | * |
| 3. | 60 | 6,7 | 13,3 | 2 | | 5,0 | 10,0 | 2,0 | 1,6 | 11,1 | 7 | 1,7 | 3,3 | 2,0 | |
| 4. | 60 | 8,3 | 15,0 | 1,8 | | 8,3 | 13,3 | 1,6 | 0 | 1,7 | * | 0 | 1,7 | * | |
| 5. | 60 | 10,0 | 11,7 | 1,2 | | 10,0 | 11,7 | 1,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 6. | 60 | 10,0 | 13,3 | 1,3 | | 1,7 | 5,0 | 3,0 | 0 | 0 | 0 | 8,3 | 10,0 | 1,2 | |
| 7. | 60 | 20,0 | 25,0 | 1,3 | 1,5 | 16,7 | 21,7 | 1,3 | 0 | 0 | 0 | 5,0 | 5,0 | 1,0 | |
| 8. | 60 | 20,0 | 30,0 | 1,5 | | 20,0 | 30,0 | 1,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 9. | 60 | 20,0 | 35,0 | 1,8 | | 5,0 | 16,7 | 3,3 | 11,7 | 15,0 | 1,3 | 3,3 | 6,7 | 2,0 | |
| 10. | 60 | 21,7 | 31,7 | 1,5 | 1,3 | 21,7 | 28,3 | 1,3 | 0 | 1,7 | * | 3,3 | 8,3 | 2,5 | |
| 11. | 60 | 45,0 | 51,7 | 1,2 | | 13,3 | 13,3 | 1,0 | 28,3 | 38,3 | 1,4 | 5,0 | 10,0 | 3,0 | |
| 12. | 90 | 46,7 | 66,7 | 1,4 | | 14,4 | 30,0 | 2,1 | 38,9 | 47,8 | 1,3 | 7,8 | 14,4 | 1,9 | |
| 13. | 62 | 98,4 | 100 | 1,01 | 1,02 | 25,8 | 40,3 | 1,7 | 95,2 | 98,4 | 1,03 | 11,3 | 40,3 | 3,4 | |
| Iš viso: | 815 | 25,2 | 33,5 | 1,3 | | 11,5 | 18,2 | 1,6 | 26,2 | 31,9 | 1,2 | 4,3 | 9,6 | 2,2 | |

Visose fermose koproskopiškai išaiškinta kiaulių ascaridozė, tačiau užsikrėtusiųjų kiaulių skaičius ženkliai skyrėsi. Tirdami klasikine McMaster kamera radome 94, o naują – 148 invazuotas kiaules. Atitinkamai buvo išaiškinti 30 ir 67 *Trichuris suis* helmintų kiaušinėliais invazuoti mėginiai. Naudojant 0,3 ml kamerą kiaulių trichocefaliozė nustatyta tik aštuoniose fermose, o 1,5 ml kamera – vienuolikoje. Kiaulių ezofagostomozė klasikine McMaster kamera išaiškinta penkiose fermose, nustatyta 119 užsikrėtusių kiaulių, o naują helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamerą – septyniose fermose ir rastos net 145 invazuotos kiaulės.

Žirgynuose, ištyrę 264 arklių išmatas klasikine

McMaster kamera, išaiškinome 173, o 1,5 ml kamera – 221 helmintų kiaušinėliais invazuotą arklį (2 lentelė). Tarp jų *Strongylus* spp. helmintų kiaušinėliais užkrėstų mėginių radome 1,2, o *Parascaris equorum* – 3,4 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera. 0,3 ml kamera arklių strongiliatozė nustatyta 164, o naują kamerą – 193 arkliams, parascaridozė atitinkamai 17 ir 58 arkliams. Pirmame žirgynų skirtingo tūrio kameromis išaiškinta 2,3, o antrame – 1,1 karto daugiau invazuotų mėginių; atitinkamai *Strongylus* spp. – 1,9 ir 1,04, o *Parascaris equorum* – 4,3 ir 1,2 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera. Avininkystės ūkiuose ištyrę 264 avių išmatas klasikine McMaster kamera išaiškinome 215, o naują

helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera – 254 helmintais invazuotas avis (3 lentelė). Tiriant 1,5 ml kamera *Trichostrongylus* spp. helmintų kiaušinėliais užkrėstų mėginių rasta 1,3, *Toxocara vitulorum* – 3,1, *Nematodirus filicollis* – 2,5, o *Trichuris ovis* – 1,9 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera. Koproscopiniais tyrimais 0,3 ml kamera avių trichostrongiliatozė išaiškinta 169, o naująja kamera – 221 aviai. Trichocefaliozę nustatėme atitinkamai 32 ir 62 avims. *Nematodirus filicollis* helmintų kiaušinėlių klasikine McMaster kamera radome 28, o 1,5

ml kamera – 71 išmatų mėginyje. Abiejuose ūkiuose nustatyta didelė avių trichostrongilų invazija. Pirmame avininkystės ūkyje, naudojant naująją kamerą, *Trichostrongylus* spp. helmintų kiaušinėlių rasta 1,2, o antrame ūkyje – 1,4 karto daugiau invazuotų mėginių nei 0,3 ml kamera; atitinkamai *Trichuris ovis* – 1,3 ir 2,2, *Nematodirus filicollis* – 2,1 ir 2,7 karto. *Toxocara vitulorum* helmintų kiaušinėlių išaiškinta tik antrame ūkyje, kur tiriant 1,5 ml kamera invazuotų mėginių rasta 3,1 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera.

2 lentelė. Arklių koproskopinių tyrimų duomenys tiriant skirtingo tūrio kameromis

| Žirgynai | Mėginių skaičius | Invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Strongylus</i> spp. kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Parascaris equorum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas |
|----------|------------------|----------------------|--------|-----------------------|---|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|
| | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | |
| 1. | 108 | 31,2 | 70,4 | 2,3 | 23,2 | 44,4 | 1,9 | 11,1 | 47,2 | 4,3 |
| 2. | 156 | 87,2 | 93,0 | 1,1 | 89,1 | 93,0 | 1,04 | 3,2 | 3,9 | 1,2 |
| Iš viso: | 264 | 65,5 | 83,7 | 1,3 | 62,1 | 73,1 | 1,2 | 6,4 | 22,0 | 3,4 |

3 lentelė. Avių koproskopinių tyrimų duomenys, tiriant skirtingo tūrio kameromis

| Ūkiai | Mėginių skaičius | Invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Trichostrongylus</i> spp. kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Trichuris ovis</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Nematodirus filicollis</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Toxocara vitulorum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas |
|----------|------------------|----------------------|--------|-----------------------|---|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|
| | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | |
| 1. | 98 | 77,6 | 91,8 | 1,2 | 75,5 | 88,8 | 1,2 | 8,2 | 10,2 | 1,3 | 8,2 | 17,3 | 2,1 | 0 | 0 | 0 |
| 2. | 166 | 83,7 | 98,8 | 1,2 | 57,2 | 80,7 | 1,4 | 14,5 | 31,3 | 2,2 | 12,0 | 32,5 | 2,7 | 25,9 | 82,5 | 3,1 |
| Iš viso: | 264 | 80,3 | 96,2 | 1,2 | 64,0 | 83,7 | 1,3 | 12,1 | 23,5 | 1,9 | 10,6 | 26,9 | 2,5 | 25,5 | 82,5 | 3,1 |

4 lentelė. Kiaulių eksperimentinių išmatų mėginių tyrimas skirtingo tūrio kameromis

| S. A. Henriksen ir K. Aagaard modifikacija (1976) | | | | T. Kassai modifikacija (1999) | | | |
|---|--|--------|-----------------------|-------------------------------|--|--------|-----------------------|
| Mėginių skaičius | <i>Oesophagostomum dentatum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | Mėginių skaičius | <i>Oesophagostomum dentatum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas |
| | 0,3 ml | 1,5 ml | | | 0,3 ml | 1,5 ml | |
| 60 | 61,2 | 100 | 1,6 | 60 | 21,7 | 68,3 | 3,2 |

5 lentelė. Arklių eksperimentinių išmatų mėginių tyrimas skirtingo tūrio kameromis

| McMaster metodo modifikacija | Mėginių skaičius | Invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Strongylus</i> spp. kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Parascaris equorum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas |
|--------------------------------------|------------------|----------------------|--------|-----------------------|---|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|
| | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | |
| S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) | 60 | 43,3 | 96,7 | 2,2 | 20,0 | 81,7 | 4,1 | 25,0 | 65,0 | 2,6 |
| G.M. Urquhart (1996) | 60 | 20,0 | 55,0 | 2,8 | 20,0 | 55,0 | 2,8 | 0 | 0 | 0 |

Antruoju etapu, ištyrus kiaulių išmatų eksperimentinius mėginius (4 lentelė) S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija su 0,3 ml kamera, iš viso išaiškinti 37, o 1,5 ml helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera – visi 60 *Oesophagostomum dentatum* helmintų kiaušinėliais invazuoti mėginiai. Naująja kamera rasta 1,6 kartus daugiau ezofagostomais invazuotų mėginių nei klasikine McMaster kamera. Tiriant T. Kassai (1999) modifikacija, rasta atitinkamai 13 ir 41 invazuotas mėginys. 1,5 ml kamera ezofagostomais invazuotų mėginių išaiškinta 3,2 kartus daugiau, nei klasikine McMaster kamera.

Ištyrus arklių išmatų eksperimentinius mėginius S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija su 0,3 ml kamera, išaiškinti 26, o 1,5 ml kamera – 58 invazuoti mė-

giniai (5 lentelė). Iš jų *Strongylus* spp. helmintų kiaušinėliais invazuotų mėginių klasikine McMaster kamera rasti 12, o naująja kamera – 49, *Parascaris equorum* atitinkamai – 15 ir 39 invazuoti mėginiai. 1,5 ml helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera iš viso rasta 2,2 kartus daugiau invazuotų mėginių, nei klasikine McMaster kamera. *Strongylus* spp. helmintais invazuotų mėginių išaiškinta 4,1, o *Parascaris equorum* – 2,6 karto daugiau. Tiriant G. M. Urquhart (1996) modifikacija rasti tik strongilų kiaušinėliai, atitinkamai 12 ir 33 invazuoti mėginiai 2,8 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera. Tirdami šia modifikacija *Parascaris equorum* helmintų kiaušinėlių eksperimentiniuose mėginiuose neradome.

6 lentelė. Avių eksperimentinių išmatų mėginių tyrimas skirtingo tūrio kameromis

| McMaster metodo modifikacija | Mėginių skaičius | Invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Trichostrongylus</i> spp. kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Toxocara vitulorum</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | | Skirtumo koeficientas | <i>Nematodirus filicollis</i> kiaušinėliais invazuota mėginių, % | |
|------------------------------|------------------|--------------------------------------|--------|-----------------------|---|--------|-----------------------|--|--------|-----------------------|--|--------|
| | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml | | 0,3 ml | 1,5 ml |
| | | S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) | 60 | | 88,3 | 100 | | 1,1 | 56,7 | | 81,7 | 1,4 |
| T. Kassai (1999) | 60 | 38,3 | 100 | 2,6 | 38,3 | 100 | 2,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Avių eksperimentiniuose išmatų mėginiuose (6 lentelė) S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija su klasikine McMaster kamera viso išaiškinti 53, o su 1,5 ml kamera – visi 60 invazuotų mėginių. *Trichostrongylus* spp. kiaušinėliais invazuotų mėginių rasta atitinkamai 34 ir 49, *Toxocara vitulorum* – 27 ir 45, *Nematodirus filicollis* – 0 ir 1 invazuotas mėginys. Naująja kamera invazuotų mėginių rasta 1,1 karto daugiau, nei klasikine McMaster kamera. *Trichostrongylus* spp. helmintais išaiškinta 1,4, o *Toxocara vitulorum* – 1,7 kartus daugiau. Tiriant T. Kassai (1999) modifikacija ir su klasikine McMaster kamera, *Trichostrongylus* spp. kiaušinėliais invazuotų mėginių rasta 23, o 1,5 ml kamera – 30. Naująja helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera trichostrongilais invazuotų mėginių rasta 2,6 kartus daugiau, nei klasikine McMaster kamera. T. Kassai modifikacija neišaiškino *Toxocara vitulorum* ir *Nematodirus filicollis* helmintų kiaušinėliais invazuotų mėginių.

Aptarimas. Tirtose kiaulių fermose rasti *Oesophagostomum dentatum*, *Ascaris suum* ir *Trichuris suis*, žirgynuose – *Strongylus* spp. ir *Parascaris equorum*, o avininkystės ūkiuose – *Trichostrongylus* spp., *Trichuris ovis*, *Toxocara vitulorum* ir *Nematodirus filicollis* helmintų kiaušinėliai.

Bandytų metu tiriant kiaulių, arklių ir avių išmatų mėginius naująja kamera išaiškinta daugiau invazuotų gyvulių nei tradicine McMaster kamera. Susumavę tyrimų rezultatus, kiaulių fermose ir žirgynuose naująja kamera išaiškinome 1,3, o avininkystės ūkiuose – 1,2 karto daugiau invazuotų mėginių nei klasikine McMaster kamera. 1,5 ml kamera buvo išaiškinta kiaulių ezofagostomozė ir trichocefaliozė, kurių nenustatėme 0,3 ml kamera. Taigi,

naująja helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamera išaiškinama ne tik daugiau invazuotų kiaulių, bet ir daugiau helmintozių bei fermų, kuriose yra maža helmintų invazija. Naudojant skirtingo tūrio kameras pastebėta koreliacija tarp išaiškinto invazuotų mėginių kiekio ir apskaičiuoto skirtumo koeficiento. Pirmame žirgyne 0,3 ml kamera buvo rastas mažesnis procentas invazuotų arklių. Taigi, lygindami skirtingo tūrio kameras gavome dukart didesnę skirtumo koeficientą nei antrame žirgyne, kur nustatyta didelė helmintų invazija. Pirmame žirgyne apskaičiuotas didžiausias skirtumo koeficientas aiškinant arklių paraskaridozę. Ši invazija buvo du kartus mažesnė nei strongilų. Antrame žirgyne aiškindami arklių paraskaridozę gavome mažesnę skirtumo koeficientą. Šiame žirgyne vyravo *Strongylus* spp. helmintai, nustatyta didelė jų invazija, o *Parascaris equorum* helmintai buvo pavieniai, taigi ir skirtumo koeficientai, tiriant skirtingo tūrio kameromis, nebuvo tokie dideli palyginti su pirmu žirgynu.

Abiejuose avininkystės ūkiuose rastas didelis procentas avių, invazuotų mišria helmintų invazija. Daugiausia avys buvo užsikrėtę *Trichostrongylus* spp. helmintais. Analizuojant avių koproskopinių tyrimų rezultatus pagal atskiras helmintų rūšis, gauti skirtumo koeficientai taip pat buvo didesni esant mažai helmintų invazijai.

Tirdami eksperimentinius išmatų mėginius naująja kamera radome daugiau helmintais invazuotų kiaulių, nei klasikine McMaster kamera. S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976), T. Kassai (1999) bei G. M. Urquhart (1996) modifikacijomis visais atvejais naująja kamera išaiškintas didesnis invazuotų mėginių procentas. Avių išmatų eksperimentiniais tyrimais 1,5 ml kamera S.A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija rasti *Nematodirus filicollis*

helmintų kiaušinėliai, kurių nepavyko išaiškinti klasikine McMaster kamera.

Ankstesniais bandymais nustatyta (Vyšniauskas ir kt., 2005), kad tiriant arklių išmatų mėginius pagal išaiškintą kiaušinėlių kiekį 1 g išmatų, efektyviausia buvo G. M. Urquhart (1996), o avių – T. Kassai (1999) modifikacija. Tirdami kiaulių, arklių ir avių eksperimentinius mėginius šias modifikacijas palyginome su S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija. Naudodami 1,5 ml kamerą, S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija išaiškino didesnę procentą invazuotų mėginių nei T. Kassai (1999) ir G. M. Urquhart (1996) modifikacijomis. Galima daryti prielaidą, kad, esant silpnai helmintų invazijai, S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija naudojant koncentruotus kiaušinėlius mažesniame tirpalo tūryje gaunamas didesnis invazuotų mėginių išaiškinimo procentas. Lyginat skirtingų modifikacijų duomenis galima teigti, kad tiriant naują kamerą gaunami mažiau svyruojantys rezultatai nei klasikine McMaster kamera. T. Kassai (1999) modifikacija neišaiškino avių *Toxocara vitulorum*, o G. M. Urquhart (1996) modifikacija – arklių *Parascaris equorum* helmintų kiaušinėlių. Manoma, kad koproskopiniams tyrimams naudojami flotaciniai tirpalai veikia tyrimų rezultatus. Atskiroms helmintų rūšims kiaušinėlių flotacijai naudojami įvairaus lyginamojo svorio flotaciniai tirpalai. Mažo lyginamojo svorio flotaciniai tirpalai negali iškelti į paviršių sunkių helmintų kiaušinėlių, taigi kai kurios helmintozės lieka neišaiškintos. Eksperimentinių mėginių tyrimui buvo taikomos skirtingos modifikacijos su skirtingais flotaciniais tirpalais. T. Kassai (1999) ir G. M. Urquhart (1996) modifikacijoms naudojamas nedidelio lyginamojo svorio (1,2) prisotintas valgomosios druskos tirpalas, kuris neiškėlė didesnio lyginamojo svorio helmintų kiaušinėlių.

Tiriant efektyviausia S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija ir koproskopiniams tyrimams naudojamą naują helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamerą, tiriamų išmatų kiekis yra 5 kartus didesnis, nei tiriant klasikine McMaster kamera, ir nuo 6,25 iki 7,5 karto didesnis, nei taikant FECPAK metodą.

Išvados.

1. Naują helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamerą išaiškinta daugiau helmintozių, invazuotų gyvulių ir ūkių, kur gyvuliai yra užsikrėtę helmintais.

2. Atliekant koproskopinius tyrimus naują helmintų kiaušinėlių skaičiavimo kamerą, tikslingiausia taikyti S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikaciją, kuri užtikrina mažiausią tyrimo rezultatų svyravimą.

3. Naujos kameros panaudojimas tiriant S. A. Henriksen ir K. Aagaard (1976) modifikacija žymiai sumažina jautrumo koeficientą (nuo 20 iki 4) ir iki 5 kartų leidžia padidinti tiriamų išmatų kiekį.

Literatūra

1. Anonymous. Manual of veterinary parasitological laboratory techniques. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, UK, 1986. 3rd ed. P. 24.
2. Baldock F. C., Lyndal–Murphy M., Pearse B. An assessment of a composite sampling method for counting strongyle eggs in sheep faeces. Aust. Vet. J. 1990. Vol. 67. P. 165–67.
3. Coles G. C., Bauer C., Borgsteede F. H. M., Geerts S., Taylor

M. A., Waller P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W. A. A. V. P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasit. 1992. Vol. 44. P. 35–44.

4. Coles G. C., Jackson F., Pomroy W. E., Prichard R. K., von Samson – Himmelstjerna G., Silvestre A., Taylor M. A., Vercuysse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasitol. 2006. Vol. 136. P. 167–185.
5. Craven J., Bjørn H., Barnes A., Henriksen S. A., Nansen P. A comparison of *in vitro* tests and a faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. Vet. Parasitol. 1999. Vol. 85. P. 49–59.
6. Cringoli G., Rinaldi L., Veneziano V., Capelli G., Scala A. The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dentriticum* in sheep. Vet. Parasitol. 2004. Vol. 123. P. 121–131.
7. Ihler C. F., Bjørn H. Use of two *in vitro* methods for the detection of benzimidazole resistance in equine small strongyles (*Cyathostoma* spp.). Vet. Parasitol. 1996. Vol. 65. P. 117–125.
8. Joachim A., Dümler N., Daugchies A., Roepstorff A. Occurrence of helminths in pigs fattening units with different management systems in Northern Germany. Vet. Parasitol. 2001. Vol. 96. P. 135–46.
9. Lyndal–Murphy M. Anthelmintic resistance in sheep in Australian standard diagnostic techniques for animal diseases. Edt. Corner L. A., Bagust T., J. 1993. P. 3–9.
10. MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food). Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques. 1986. 3rd Edition HMSO, London, P. 24.
11. Mercier P., Chick B., Alves–Branco F., White C. R. Comparative efficacy, persistent effect, and treatment intervals of anthelmintic pastes. Vet. Parasitol. 2001. Vol. 99. P. 29–39.
12. Morgan E. R., Cavill L., Curry G. E., Wood R. M., Mitchell E. S. E. Effects of aggregation and sample size on composite faecal egg counts in sheep. Vet. Parasitol. 2005. Vol. 131. P. 79–87.
13. Pook J. F., Power M. L., Sangster N. C., Hodgson J. L., Hodgson D. R. Evaluation of tests for anthelmintic resistance in ciathostomes. Veterinary Parasitology. 2002. Vol. 106. P. 331–343.
14. Presland S. L., Morgan E. R., Coles G. C. Counting nematode eggs in equine faecal samples. Vet. Rec. 2005. Vol. 156. P. 208–210.
15. Quinn R., Smith H. V., Bruce R. G., Girdwood R. W. A. Studies on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* spp. ova in the environment. 1. A comparison of flotation procedures for recovering *Toxocara* spp. ova from soil. Hyg. (Cambridge). 1980. Vol. 84. P. 83–89.
16. Roepstorff A., Nansen P. A Simple McMaster technique. Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine. Food and agriculture organization of the united nations (FAO). Animal Health Manual, Rome, Italy. 1998. P. 47–56
17. Varady M., Konigova A., Čorba J. Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia. Vet. Parasitol. 2000. Vol. 94. P. 67–74.
18. Vyšniauskas A., Pereckienė A., Kaziūnaitė V., McMaster metodo modifikacijų lyginamasis įvertinimas. Veterinarija ir zootechnika 2005. T. 29. P. 61–66.
19. Ward M. P., Lyndal–Murphy M., Baldock F. C. Evaluation of a composite method for counting helminth eggs in cattle faeces. Vet Parasitol. 1997. Vol. 73. P. 186–187.
20. Whitlock H. V. Some modifications of the McMaster helminth egg–counting technique and apparatus. J. Counc. Sci. Ind. Res. 1948. Vol. 21. P. 177–180.
21. Whitlock H. V., Kelly J. D., Porter C. J., Griffin D. L., Martin I. C. A. *In vitro* field screening for anthelmintic resistance in strongyles of sheep and horses. Vet. Parasitol. 1980. Vol. 7. P. 215–232.

Gauta 2008 01 11

Priimta publikuoti 2008 06 25