

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, а саме - ветеринарної паразитології, і може бути використаний для приготування анатомо-морфологічних препаратів бліх роду *Ctenocephalides* з метою їх подальшої ідентифікації до виду, а також для вивчення фауни та морфологічних й метричних особливостей у будові.

Наразі з метою виготовлення препаратів з комах *in toto* використовують різні методики та способи.

Так, відомим є "Спосіб приготування постійних препаратів бліх роду *Ctenocephalides in toto*", згідно якого зібраних та фіксованих у 70 % розчині етилового спирту бліх переносять на 12 годин у склянку із 3 % розчином перекису водню, попередньо проколовши голкою хітиновий покрив в середній третині черевця. Далі комах виймають з перекису водню і ретельно промивають водою. З метою зневоднення комах поступово проводять через спирти зростаючої концентрації (70,0 %, 80,0 % та 96,0 %), в кожному з яких об'єкт витримують впродовж 60 хвилин. В подальшому бліх обережно переносять на предметне скельце з лункою, в яку попередньо вносять комбіновану суміш ялівцевої та гвоздичної олій у співвідношенні 1:1 та залишають у спокої на 4-5 годин. Після цього бліх поміщають на предметне скельце, розмістивши на правий бік, та видаляють залишки олії за допомогою нанесення кількох крапель ксилолу, за допомогою скляної палички на об'єкт наносять невелику кількість канадського бальзаму, тонкою голкою надають бажаного положення комахам й накривають чистим покривним склом, не допускаючи появи бульбашок повітря [див. Ктеноцефальоз собак: монографія / В. О. Євстаф'єва, К. О. Горб, О. О. Горб, В. В. Мельничук. - Полтава: РВВ ПДАУ, 2022. С. 52-55].

Недоліком способу є тривала процедура підготовки комах до фіксації, яка займає близько 21 години. Окрім того, подвійна процедура просвітлення у 3 % розчині перекису водню та в суміші з ялівцевої і гвоздичної олій призводить до значного знебарвлення окремих морфологічних структур тіла комах, що може завадити вивченню морфології бліх.

Найближчим аналогом є "Спосіб приготування збудників ряду *Mallophaga in toto*", згідно з яким збір малофаг проводять у пробірки для мікропроб об'ємом 1,5 мл з 70°-ним розчином етилового спирту. З пробірки їх переносять на предметне скло, де фарбують 1 %-вим спиртовим розчином діамантового зеленого та витримують в ньому 4-6 хвилин. З метою кращого фарбування черевце паразита попередньо обережно проколюють гострою голкою, намагаючись не пошкодити щетинок і внутрішніх органів. Потім видаляють залишки барвника, промиваючи його дистильованою водою, і переносять для просвітлення в гвоздичне масло. Час витримки в ньому залежить від розміру об'єкта. Просвітлення проводять на предметному склі. Потім піпеткою видаляють гвоздичну олію, надають об'єкту необхідного положення, наносять кілька крапель канадського бальзаму й обережно накривають покривним склом [див. Патент України на корисну модель № 85028 Україна МПК (2013) u201305144, G01N 1/00. Спосіб приготування збудників ряду *Mallophaga in toto* | Євстаф'єва В. О., Клименко О. О., Хижня Л. Ю.].

Недоліками найближчого аналога є використання як барвника 1 % спиртового розчину діамантового зеленого. Вказаний барвник за його використання призводить до наднасичення покривів тіла комах, що робить виготовлений мікропрепарат непридатним для дослідження.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу виготовлення постійних препаратів бліх роду *Ctenocephalides in toto*, який є швидким за часом виконання та дозволяє отримати постійні тотальні мікропрепарати бліх, морфологічні структури яких добре проглядаються під мікроскопом за рахунок їх підфарбовування, що підвищить точність ідентифікації бліх роду *Ctenocephalides* до виду.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі виготовлення постійних препаратів бліх роду *Ctenocephalides in toto*, що включає підготовку комах та їх монтування на предметному склі в постійні мікропрепарати, згідно з корисною моделлю, підготовку бліх здійснюють шляхом занурення у йодовмісне середовище, оптимальний час занурення у йодовмісне середовище становить 5-6 хвилин, а монтування постійних мікропрепаратів проводять з використанням рідини Фора-Берлезе.

Згідно з корисною моделлю, як йодовмісне середовище використовують рідину, що складається з калію йодистого та йоду кристалічного розчинених у дистильованій воді.

Для визначення оптимальних режимів виконання методики проведено експериментальне дослідження.

З метою встановлення оптимального часу, за який відбувається зафарбовування морфологічних структур паразитичних комах, досліджено 80 екземплярів бліх *Ctenocephalides felis*.

Після занурення бліх у йодовмісне середовище їх залишали у спокої на 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 хвилин. Ступінь видимості морфологічних структур тіла бліх, що мають природно слабку (передній, другий, третій членики антени та тім'яні щетинки) та виражену забарвленість (головний ктенідій і максиллярні щупики), визначали шляхом мікроскопії за збільшення $\times 40$; $\times 100$.

Ступінь видимості умовно поділили на високий; задовільний; незадовільний, внаслідок недостатнього забарвлення; незадовільний, внаслідок наднасичення барвником. Отримані результати наведені в таблиці 1.

Встановлено, що високий ступінь видимості морфологічних структур тіла бліх з природно слабким та вираженим забарвленням тіла забезпечує витримка комах у йодовмісному середовищі в проміжок

часу 5-6 хвилин. За цей період, морфологічні структури тіла з природно слабким забарвленням встигають забарвитися, водночас, не відбувається наднасичення барвником морфологічних структур тіла бліх з природно вираженим забарвленням.

Таблиця 1

Ступінь видимості морфологічних структур тіла бліх *Ctenocephalides felis* за використання запропонованого способу, N=80

Морфологічні структури тіла	Експозиція, хвилин			
	1-2	3-4	5-6	7-8
Морфологічні структури з природньо слабким забарвленням				
Передній членик антени	*	**	***	***
Другий членик антени	*	***	***	***
Третій членик антени	**	***	***	***
Тім'яні щетинки	**	***	***	●
Морфологічні структури з природньо вираженим забарвленням				
Головний ктенідій	***	***	***	●
Максиллярні щупики	***	***	***	●

Примітка: ступінь видимості: *** - високий; ** - задовільний; * - незадовільний, внаслідок недостатнього забарвлення; ● - незадовільний, внаслідок наднасичення барвником.

З метою виготовлення постійних препаратів бліх роду *Ctenocephalides* найефективніше проводити забарвлення комах у йодовмісному середовищі в проміжок часу 5-6 хвилин.

Спосіб здійснюють наступним чином:

Спочатку готують йодовмісне середовище для фарбування бліх роду *Ctenocephalides* шляхом розчинення у 500 мл дистильованої води калію йодистого 3 г та йоду кристалічного 1,6 г із послідовною витримкою розчину в термостаті за температури 37 °С упродовж 7 діб для кращого розчинення його компонентів.

Для виготовлення тотальних препаратів з бліх роду *Ctenocephalides*, фіксованих у 70° етиловому спирті, здійснюють наступні процедури: на предметне скло наноситься йодовмісне середовище, у кількості від 0,1 до 0,3 мл; препарувальною голкою до середовища вносять бліх шляхом цілковитого їх занурення у середовище на 5-6 хвилин; потім видаляють серветкою залишки барвника та за допомогою препарувальної голки надають блохам правого бічного положення; наносять кілька крапель рідини Фора-Берлезе й обережно накривають покривним склом.

Приклад конкретного виконання

Для встановлення показників ефективності способу виготовлення постійних препаратів бліх роду *Ctenocephalides in toto* в порівнянні зі способом, що вибрано як прототип, проведено дослідження 40 екземплярів бліх *Ctenocephalides felis* (по 20 за кожним зі способів). Фіксованих у 70° етиловому спирті бліх досліджували за способами прототипу та запропонованим. Оцінювання проводили за показниками інтенсивності зафарбовування морфологічних структур тіла бліх, що мають природно слабе забарвлення за 5-ти бальною шкалою (де: 1 - перенасичення фарбою, 2 - ледь помітне забарвлення, 3 - незначне забарвлення, 4 - задовільне нерівномірне забарвлення, 5 - добре рівномірне забарвлення) та за часом, витраченим на приготування одного тотального мікропрепарату. Результати досліджень відображені в таблиці 2.

Таблиця 2

Порівняльна ефективність способів виготовлення тотальних препаратів бліх *Ctenocephalides felis*, M±SD, n=20

Морфологічні структури тіла	Спосіб дослідження, бали	
	запропонований	аналог
Передній членик антени	4,95±0,22	1,60±1,47***
Другий членик антени	4,90±0,31	1,20±0,89***
Третій членик антени	4,95±0,22	1,20±0,89***
Тім'яні щетинки	4,85±0,37	1,40±1,23***
Загальна оцінка забарвленості	4,91±0,05	1,35±0,19***
Час, витрачений на приготування тотального	14,05±1,82	71,35±2,08***

мікропрепарату, хв		
--------------------	--	--

Примітки: *** - $P < 0,001$ - порівняно з аналогічним показниками запропонованого способу.

Використання для виготовлення тотальних мікропрепаратів з бліх способу згідно з корисною моделлю, за результатами проведених досліджень, виявилось ефективнішим за загальною оцінкою інтенсивності забарвленості морфологічних структур тіла бліх (на 72,51 %, $P < 0,001$) та часом, що йде на виготовлення одного мікропрепарату (на 80,39 %, $P < 0,001$) порівняно з аналогічними показниками у способі, що використано в якості прототипу.

Застосування способу згідно з корисною моделлю дозволило отримати добре, рівномірне забарвлення всіх члеників антен бліх, про що свідчить отриманий високий середній бал (4,91). Водночас, застосування способу-аналогу призводило до перенасичення фарбою вищенаведених морфологічних структур, на що вказує отриманий низький бал (1,35).

Таким чином, позитивний ефект корисної моделі полягає у наступному:

- техніка виконання, пропонується у способі виготовлення постійних препаратів бліх роду *Stenocephalides in toto*, є достатньо швидкою, на виготовлення одного мікропрепарату в середньому витрачається 14,05 хв;

- використання у способі виготовлення постійних препаратів бліх роду *Stenocephalides in toto* йодовмісної суміші, як барвника, за запропонованого режиму дозволяє отримати добре та рівномірне забарвлення морфологічних структур тіла бліх з природно слабким забарвленням, одночасно не перенасичувати фарбою морфологічні структури з вираженим забарвленням.