

УДК 619:616.036.4  
© 2009

*Петренко А.А, аспірант\**  
Полтавська державна аграрна академія

## КУЛЬТИВУВАННЯ ЯЄЦЬ НЕМАТОДИ *Uncinaria stenocephala* В УМОВАХ ЛАБОРАТОРІЇ (IN VITRO)

*Рецензент – кандидат ветеринарних наук М.С. Конє*

*Викладено результати проведених досліджень, мета яких – культивування яєць збудника унцинаріозу (*Uncinaria stenocephala*) та отримання життєздатних личинок стронгілят у лабораторних умовах. Описані особливості будови личинок унцинарії. Наведена морфологія личинок на різних етапах розвитку під час культивування яєць у термостаті. Обговорені методики, за допомогою яких домоглися дозрівання яєць. Встановлено, що личинки виконували зигзагоподібні рухи, що свідчить про їх життєздатність і можливість використання в наступних дослідженнях.*

**Ключові слова:** унцинарія, яйця, культивування, личинка, термостат.

**Постановка проблеми.** Стронгілятози м'ясоїдних – це інвазійні захворювання тварин, що спричиняються нематодами роду *Ancylostoma* та *Uncinaria*, й клінічно проявляються у вигляді проносів, анорексії, геморагічного та катарального ентеритів, і нерідко ведуть до загинування молодняку [2-3].

Розвиток паразитів – прямий. Заражуються сприятливі тварини внаслідок заковтування інвазійних личинок; можливе також перкутанне зараження [2-4].

За існуючими літературними даними, в Україні стронгілятози собак та котів зустрічаються не так часто, як інші нематодози (7,43%), а моноінвазія – ще рідше [6-7].

Тому культивування яєць унцинарії до утворення личинкової стадії в лабораторних умовах дасть можливість дослідити стійкість личинок у навколишньому середовищі, до дії різних факторів і хімічних сполук, а також провести експериментальне зараження сприятливих тварин і вивчити патогенез захворювання.

Визначені дослідження дадуть змогу розробити ефективний комплекс лікувально-профілактичних заходів у боротьбі зі стронгілятозами місських популяцій собак та котів.

**Аналіз літературних джерел і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Згі-

дно з даними наукових досліджень, за циклом розвитку збудника стронгілятозів собак та котів відносяться до геогельмінтів. Розвиток паразитів відбувається без участі проміжного хазяїна [3-4].

Інвазовані тварини можуть щодня виділяти в навколишнє середовище разом із фекаліями мільйони яєць. У зовнішньому середовищі, за сприятливих умов (температура – від +14 до +40°C (оптимальна – +27-30°C), вологість – 60-90% та наявність кисню [3]), з яєць через 12-16 годин вилуплюються личинки, які двічі линяють і через п'ять-сім діб можуть досягати інвазійної стадії [2-3].

Для культивування яєць у лабораторії з метою створення відповідних умов використовують термостат, а для забезпечення виходу личинок із проби фекалій застосовують метод Бермана [1, 5].

**Мета дослідження:** в лабораторних умовах культивувати яйця стронгілят шлунково-кишкового каналу м'ясоїдних (собак та котів) й отримати життєздатних личинок.

**Матеріали та методи досліджень.** Проби фекалій відбирали від собак та котів, які належали мешканцям м. Полтава. У них за допомогою копроовоскопічних методів була встановлена унцинаріозна інвазія.

В якості середовища для культивування яєць стронгілят нами було обрано фізіологічний розчин (0,9% розчин NaCl), аби запобігти пересиханню фекалій під час витримки в термостаті.

Для пригнічення росту патогенних грибків використали ністатин із розрахунку 600 000 ОД на 1 г фекалій.

Дослід проводили в умовах лабораторії кафедри паразитології Полтавської державної аграрної академії.

Дослідження велося за наступною схемою: проби свіжовиділених фекалій (4-5г) переносили у чисту скляну банку ємністю 200 см<sup>3</sup>. Додавали 30-40 см<sup>3</sup> ізотонічного розчину хлориду натрію й змішували. До отриманої суспензії додавали подрібнені пігулки ністатину й ретельно перемішували. Банку зверху покривали кількома шарами

\* Керівник – доктор ветеринарних наук, професор Ю.О. Приходько



**Фото 1. Личинка *Uncinaria stenocephala* (8×15)**

марлі й переносили до термостату. Температура під час досліду становила +25 °С.

Через п'ять діб культивування пробу виймали з термостату. Фекалії переносили в лійку апарата Бермана, на дно якої попередньо було покладено кілька шарів марлі. Для активізації виходу личинок воду підігрівали до +37°С. Пробу залишали в спокої на чотири години [1, 5].

По закінченню експозиції нижній шар рідини зливали у пробірки й центрифугували за допомогою центрифуги «Орбіта-1» упродовж п'яти хвилин при швидкості 1000 об./хв.

Надосадову рідину зливали, а осад переносили на предметне скло й досліджували при малому збільшенні мікроскопа (8×15).

**Результати дослідження.** В ході мікроскопії осаду, отриманого за наведеною вище схемою, нами виявлені личинки стронгілят (фото 1.).

Вони мають характерну веретеноподібну форму та сіру тоненьку оболонку; всередині містять кишкові клітини. Передня частина ширша від задньої.

З метою дослідження розвитку личинок ми проводили мікроскопію проб на першу, третю та п'яту добу культивування.

Після першої доби в термостаті яйця в пробі не зазнали видимих морфологічних перетворень.

При збільшенні мікроскопа проглядалися великі зародкові клітини, оточені тонкою сірою оболонкою.

На третю добу культивування під час мікроскопії ми виявляли яйця, вкриті сірою тонень-

кою оболонкою, проте, всередині була помітна скручена личинка, яка мала тонку капсулу, що оточувала зародкові клітини.

На п'яту добу інкубації виявляли личинок з тонкою сіренькою оболонкою, які всередині містили зародкові клітини.

Нами встановлено, що личинки виконували зигзагоподібні рухи, що свідчить про їх життєздатність і можливість використання в наступних дослідженнях.

У ході експерименту ми культивували яйця стронгілят, відібрані від трьох собак та двох кішок.

В усіх випадках личинки були рухомими.

У процесі дослідження було також встановлено, що не з усіх яєць гельмінтів виходили життєздатні личинки; під час мікроскопії проб після п'яти діб інкубації ми виявляли яйця стронгілідного типу, в яких містилися невидозмінені бластоміри.

**Висновки.** Штучно створивши необхідні умови для розвитку яєць унцинарій (температурний режим, вологість) у лабораторії нам вдалося здійснити культивування яєць та отримати личинки стронгілят *in vitro*.

Враховуючи зигзагоподібні рухи личинок під час дослідження проб при збільшенні мікроскопа, нами встановлена життєздатність личинок стронгілят, культивованих *in vitro*.

Личинок отримано при культивуванні яєць із проб фекалій собак так котів; личинки придатні для використання в подальших дослідженнях.

**БІБЛІОГРАФІЯ**

1. *Артеменко Ю.Г., Антипов А.А.* Основні методи діагностики гельмінтозів. – Б. Церква, 1990. – 50 с.
2. *Белов А.Д., Данилов Е.П., Дукур И.И. и др.* Болезни собак. – М.: Колос, 1999. – 478 с.
3. *Галат В.Ф., Березовський А.В., Прус М.П. та ін.* Паразитологія та інвазійні хвороби тварин. – К.: Вища освіта, 2003. – 462 с.
4. *Галат В.Ф., Березовський А.В., Прус М.П. та ін.* Практикум із паразитології. – К.: Урожай, 1999. – 190 с.
5. *Новикова Т.В.* Лабораторная диагностика эндопаразитов у собак и кошек: учебно-метод. пос. – М.: ООО «Аквариум-принт», 2005. – 144 с.
6. *Павленко С.В.* Автореф. ... канд. вет. наук. – Х., 2003. – 20 с.
7. *Пригодін А.В.* Автореф. ... канд. вет. наук. – Харьков, 2003. – 20 с.