



УДК 619:57.086.83:616.995.132

Ю.Ю. ДОВГІЙ, докт. вет. наук, професор

Т.І. БАХУР, аспірант

Житомирський національний агроекологічний університет

МЕТОДИКА КУЛЬТИВАЦІЇ ЯЄЦЬ *TOXOCARA CANIS* У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

Розроблено методику культивування яєць токсокар у лабораторії. Це дає змогу здійснювати подальші дослідження інвазійних яєць і використовувати їх для експериментального зараження лабораторних тварин.

Ріст популяції собак, особливо бродячих, та ступінь їх інвазованості гельмінтами становлять небезпеку у ветеринарному й медичному відношенні. Інвазійні яйця окремих гельмінтів можуть зберігатися в доквіллі більше року [6]. Зростаюча контамінація навколишнього середовища яйцями гельмінтів створює постійний резервуар інвазії, за безпосереднього контакту з яким відбувається зараження тварин і людей [8].

Серед інвазійних хвороб собак (незалежно від регіону, сезону року, віку та породи) найчастіше реєструють гельмінтози шлунково-кишкового каналу. Гельмінтозні змішані інвазії проявляються здебільшого у складі нематод, цестод і, рідше, трематод [2].

Одним з найпоширеніших зооантропонозів в Україні є токсокароз, викликаний нематодою *Toxocara canis*. Токсокари здатні спричинити тяжкі поліорганичні ураження і навіть смерть тварин [7]. Вони є геогельмінтами й потребують дозрівання яєць у доквіллі до досягнення інвазійної стадії розвитку [11].

Мета роботи – розроблення доступної й дієвої методики культивування яєць токсокар для експериментального зараження лабораторних тварин.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

За основу було взято метод культивування яєць токсокар, розроблений професо-

ром В.Я. Бекишем [1], який було адаптовано до вимог ветеринарної медицини та випробувано в лабораторних умовах.

Для отримання статевозрілих токсокар було відібрано 5 двомісячних цуценят, які не отримували антигельмінтних засобів. Шляхом дослідження фекалій флотацийним методом за Фюллеборном встановлено їх інвазованість токсокарами.

Надалі цуценят було дегельмінтизовано піперазину адипінатом у дозі 0,2 г/кг маси тіла одноразово. Антигельмінтик ефективно діє проти нематод, викликаючи у них параліч м'язів, при цьому не вбиває паразитів і не веде до руйнування їхніх тіл. А отже, й яйця в матках самок залишаються непошкодженими й життєздатними [3].

Упродовж 10 годин токсокар, що виходили з фекаліями, збирали й поміщали у фізрозчин (0,9% хлориду натрію), який запобігав висушуванню й деформації тіл гельмінтів. Таким чином було отримано 33 самки і 51 самця.

Представників різних статей розрізняли за розмірами – самки (завдовжки 10–18 см) значно більші за самців (5–10 см). Окрім того, самці мають добре виражений закручений хвостовий кінець і розширення на головному (специфічна видова ознака токсокар).

Потім 32 самки розділили на 4 групи (по 8 у кожній) і повторили з кожною з груп такі маніпуляції.

Ретельно промивали токсокар 0,9% розчином хлориду натрію. Ножицями різали їх на якомога дрібніші шматочки й поміщали в порцелянову ступку. Після додавання 10 мл 0,5N розчину їдкого натру та очищеного прожареного піску (3 г) розтирали до отримання гомогенної суспензії. Розчин їдкого натру вказаної концентрації розчиняє тканини тіла токсокар, не пошкоджуючи при цьому оболонку яєць. Отриману суспензію переливали в пластикові центрифужні пробірки й доливали 0,5N розчин їдкого натру до об'єму 15 мл.

Центрифугування тривало впродовж 5 хв при швидкості 1,5 тис. об./хв. Після зняття за допомогою піпетки 8 мл супернатанту знову об'єм доводили розчином їдкого натру до 15 мл і повторювали маніпуляцію двічі. Далі ще тричі дублювали описані дії, замінивши 0,5N розчин їдкого натру на 0,9% розчин хлориду натрію. Це потрібно для остаточного очищення суспензії від частинок тканин тіла токсокар і видалення їдкого натру із суспензії. А оскільки така концентрація хлориду натрію є фізіологічною для більшості тваринних організмів, вона запобігає деформації та пошкодженню стінок яєць.

Після останнього зняття супернатанту до осаду додавали 8 мл 3% розчину формаліну, приготованого на фізрозчині, – так званої рідини Барбагалло. Обрана концентрація формаліну пригнічує розвиток мікроорганізмів у суспензії для інкубації, не пошкоджуючи при цьому оболонку яєць токсокар [5].

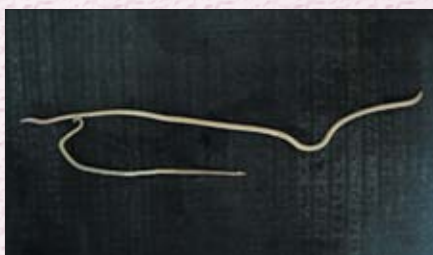


Рис. 1. Самець (внизу) та самка (вгорі) *Toxocara canis*



Рис. 2. Неінвазійне яйце *Toxocara canis*



Рис. 3. Яйце *Toxocara canis* після 7 днів інкубації



Рис. 4. Яйце *Toxocara canis* на 14-ту добу інкубації

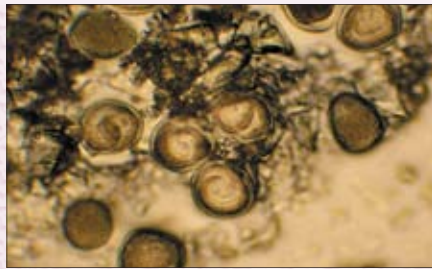


Рис. 5. Життєздатні яйця *Toxocara canis* після 21-добової інкубації



Рис. 6. Інвазійні яйця *Toxocara canis*, отримані після 28 діб інкубації

Попередньо готували вистелені фільтрувальним папером стерильні чашки Петрі, в які після ретельного збовтування пробірок виливали отриману суспензію. Внаслідок маніпуляцій з усіма відібраними групами самок гельмінтів формували 4 чашки Петрі з матеріалом, готовим до інкубації [9].

Інкубацію яєць здійснювали в термостаті за температури 24 °С упродовж чотирьох тижнів, контролюючи їх розвиток кожні 7 діб, і щотижня додавали в кожну чашку Петрі по 2 мл розчину, що містив рідину Барбагалло та фізрозчин у співвідношенні 2:1. Це дало змогу попередити пересихання середовища [4, 10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На 7-му добу інкубації яєць токсокар було вперше проконтрольовано їх розвиток. Бактеріологічною петлею краплю розчину з чашки Петрі наносили на предметне скло. Під мікроскопом при збільшенні 15×8 чітко видно, які яйця розвиваються, а які замерли. Ті, що були нежиттєздатними й не піддалися інкубації, мають вигляд оболонки з чітко вираженим круглим затемненням у середині (рис. 2).

Яйця, що розвиваються, мають з затемнення ниркоподібної форми (рис. 3).

На 14-ту добу інкубації личинки, що розвиваються, мають форму кільця. При спостереженні під мікроскопом чітко видно їх окремі рухи під оболонками (рис. 4).

Через 21 добу після початку процесу інкубації личинки мають видовжену форму й закручені в оболонці у вигляді равлика або спіралі. Помічено їх досить активні й різноманітні рухи (рис. 5).

На 28-му добу під мікроскопом бачимо інвазійні, цілком сформовані яйця токсокар. Личинки ще більше видовжені й щільніше розміщені в оболонці, а їх рухи – активні й різноманітні (рис. 6).

ВИСНОВОК

Встановлено, що на 28-му добу інкубації яйця токсокар стають інвазійними й придатними для експериментального зараження ними лабораторних тварин.

СПИСОК

ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Бекиш Вл.Я.** Експериментальна модель висцерального токсокароза / Вл.Я. Бекиш, Л.Э. Бекиш, В.И. Колмогоров // Матер. конф. студ. и молодых ученых «Теоретич. и практические вопросы медицины и фармации». – Витебск, 2000. – С. 26 – 29.
2. **Беспалова Н.С.** Комплексная терапия при токсокарозе собак / Н.С. Беспалова, Э.Х. Даугалиева // Тр. ВИГИС. – М., 2001. – Т. 37. – С. 56–62.
3. **Верета Л.Е.** Эффективность пирантела эмбоната (памоата) и эмбовина при токсокарозе собак / Л.Е. Верета // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии. – 1989. – № 51. – С. 24–27.
4. **Винокуров В.И.** Закономерности гибели яиц аскаридат на поверхности объектов внешней среды при недостатке влаги / В.И. Винокуров // Профилактика и терапия инфекционных и незаразных болезней животных в хозяйствах ЦЧЗ. – Воронеж, 1984. – С. 60–66.
5. **Ковбаса Д.В.** До методики культивування гельмінтів *Toxocara cati* / Д.В. Ковбаса // Матер. VI Міжнар. конгресу спеціалістів вет. медицини, присвяченого 110-річчю НАУ, 6–10 жовтня 2008 р., Київ. – К., 2008. – С. 17–18.
6. **Котельников Г.А.** Гельминтологические исследования животных и окружающей

среды / Г.А. Котельников. – М.: Колос, 1984. – 125 с.

7. **Новиков П.Д.** Иммунодиагностика токсокароза / П.Д. Новиков // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2007. – № 2. – С. 65–72.
8. **Приходько Ю.О.** Собаки – джерело гельмінтоантропозоонозної інвазії / Ю.О. Приходько, Л.І. Луценко, М.М. Корженевський // Зб. матер. Міжн. наук.-практ. конф. «Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин». – К., 1998. – С. 22–23.
9. **Тараканов В.И.** Методические приемы и принципы культивирования гельминтов в искусственных питательных средах / В.И. Тараканов // Тр. Всесоюз. ин-та гельминтологии. – 1985. – Т. 28 – С. 109–116.
10. **Al-Tae A.-R.A.** The viability and infectivity of *Toxocara canis* infective larvae after a prolonged period of storage at different temperatures / A.-R.A. al-Tae, N.M. al-Bashir // MIRCEN J. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1988. – Vol. 4, 3 – P. 349–355.
11. **Lloyd S.** *Toxocara canis*: infection, treatment and control / S. Lloyd // Veter. Ann. Bristol. – 1985. – Vol. 25. – P. 368–375.

Одержано 28.02.2012

Методика культивування яєць *Toxocara canis* в лабораторних умовах. Ю.Ю. Довгий, Т.І. Бахур

Разработана методика культивирования яиц токсокар в лаборатории. Это позволит проводить дальнейшие исследования инвазионных яиц и использовать их для экспериментального заражения лабораторных животных.

Cultivation technique of *Toxocara canis* eggs in laboratory conditions. Y.Y. Dovgij, T.I. Bahur

We have worked out cultivation technique of toxocara eggs in the laboratory. It gives ability to carry out further research of invasion eggs and to use them for contamination of laboratory animals. ◉