

Мельничук В. В., кандидат ветеринарних наук

Полтавська державна аграрна академія

ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ЩІЛЬНОЇ ФЕКАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ ЯЄЦЬ ГЕЛЬМІНТІВ РОДУ *TRICHURIS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ОВЕЦЬ

Рецензент – доктор ветеринарних наук, професор А. А. Замазій

*Наведено результати досліджень щодо ефективності запропонованого способу отримання щільної фекальної культури яєць нематод роду *Trichuris*, виділених від овець. Ефективність запропонованого способу за різних режимів відстоювання фекальної суспензії (10, 15 та 20 хв.) відносно показника кількості отриманих яєць нематод перевищує флотаційно-центрифужний та загальновідомий методи на 30,44–56,55 % та 12,65–45,44 % відповідно. Удосконалений спосіб дає змогу скоротити витрати часу на проведення методики порівняно із флотаційно-центрифужним (на 8,28–25,03 %) та загальновідомим методами (на 4,70–16,77 %).*

Ключові слова: спосіб, культура яєць, трихуриси, ефективність.

Постановка проблеми. Паразитарні хвороби залишаються однією з найбільш широко розповсюджених патологій людини та тварин у світі. За даними літератури відомо, що серед провідних причин збитків, що наносяться людству усіма хворобами, кишкові гельмінтози посідають одне з провідних місць. Безперечно, привертає до себе увагу й показник захворюваності на паразитарні хвороби тварин, що в останні роки істотно зріс. Основною причиною такої негативної динаміки є глобальна трансформація навколишнього середовища, за якої відбувається порушення структури та функцій сформованих паразитарних систем [1, 3, 4].

З метою успішної боротьби з паразитогами науковцями світу щороку розробляється та випускається до загального вжитку велика кількість засобів та препаративних форм хімічного й біологічного походження, що попередньо проходять безліч апрабацій. Однією з таких апрабацій є використання експериментального моделювання паразитозу в умовах *in vitro* [5, 8].

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. На сьогодні експериментальні моделі різних паразитозів відіграють для науки та людства в цілому велике значення. Так, завдяки експериментальному відтворенню тих чи інших паразитарних захворювань з використанням лабораторних

тварин науковці вивчають певні ланки патогенетичного впливу збудника на органи та системи, що в цілому дозволяє розширити знання про дію збудника на організм.

Отримані дані дають змогу правильно оцінити стан організму та підібрати правильні схеми як специфічної, так і симптоматичної терапії. Також вони дозволяють вирішити велику кількість теоретичних та практичних задач у різних напрямках досліджень медико-ветеринарної практики [7].

Культури яєць збудників паразитарних захворювань досить часто застосовують під час розробки нових методів життєвої діагностики та проведенні порівняльної ефективності вже існуючих. Використання у дослідах штучно інвазованих тварин культурами яєць гельмінтів дозволяє відтворити певну інвазію та вивчити ефективність нових лікарських засобів за цієї хвороби.

Також експериментальні моделі гельмінтозів на тваринах використовують для встановлення наявності резистентності збудника паразитарного захворювань до лікарських засобів [2].

Слід зазначити, що на сьогодні існує значна кількість наукових праць, в яких з метою вивчення дезінвазійних властивостей різних хімічних засобів в експериментах *in vitro* використовують як інвазійні, так й неінвазійні культури яєць гельмінтів різних видів [6, 10, 11]. Поряд із тим, у доступній літературі виявлено недостатньо інформації щодо методик отримання культур яєць гельмінтів.

Виходячи з вищенаведеного, можна зробити висновок, що використання культур яєць гельмінтів на сучасному етапі розвитку дозволяє вирішити ряд важливих проблем у сферах як ветеринарної, так і гуманної медицини. Тому розробка нових та удосконалення вже існуючих способів і методів отримання культур яєць гельмінтів є актуальним напрямом наукових досліджень.

У зв'язку з цим, **мета роботи** полягала в удосконаленні способу отримання щільної фекальної культури яєць гельмінтів роду *Trichuris*, виділених від овець.

У завдання досліджень входило встановити ефективність запропонованого способу в порівнянні із загальновідомими.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводилися упродовж 2017–2018 рр. на базі лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавської державної аграрної академії. Для визначення ефективності запропонованого способу отримання культури яєць трихурисів провели дослідження 50 проб фекалій від овець, інвазованих збудником трихуридозу. Середня інтенсивність трихуридозної інвазії в одній краплині флотаційної рідини становила $12,31 \pm 0,22$ яєць (від 10,33 до 17,00 яєць).

Отримання культури яєць трихурисів проводили за трьома способами: флотаційно-центрифужний спосіб культивування яєць *Trichuris muris* [2]; загальновідомий спосіб культивування яєць *Trichuris muris* [9]; запропонований спосіб із різним терміном відстоювання фекальної суспензії (10, 15 та 20 хвилин). Ефективність способів визначали за показниками кількості отриманих яєць трихурисів та витраченим часом на виконання способу. Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакета прикладних програм *Microsoft «Excel»*. Розраховували середнє арифметичне (M) та його похибку (m).

Результати досліджень. Дослідженнями встановлено, що запропонований спосіб дозволяє концентрувати велику кількість яєць трихурисів за всіх запропонованих режимів відстоювання. Отримані дані наведено у таблиці. Випробовуючи флотаційно-центрифужний спосіб з метою отримання яєць трихурисів від овець, встановлено, що в середньому кількість відмитих яєць нематод становила $15,72 \pm 0,67$ за коливань від 5 до 22 яєць. Слід зазначити, що в середньому на одну процедуру отримання яєць було витрачено $41,56 \pm 0,25$ хвилин. За використання загальновідомого способу встановлено, що середня кіль-

кість отриманих яєць становила $19,74 \pm 0,74$ екземплярів за коливань від 7 до 28 яєць в одній пробі. На одну процедуру відмивання в середньому витрачено $37,44 \pm 0,23$ хвилин. Причому цей метод за показниками витрати часу та кількістю отриманих яєць трихурисів виявився вищим, ніж флотаційно-центрифужний (на 9,92 та 20,37 % відповідно). Використання запропонованого способу з терміном відстоювання фекальної суспензії 10 хвилин призводило до отримання в середньому $22,66 \pm 0,59$ екземплярів яєць трихурисів за коливань від 11 до 29 яєць, за витрат часу $31,16 \pm 0,17$ хвилин. Водночас за даного режиму запропонований спосіб перевищував ефективність флотаційно-центрифужного та загальновідомого методів за кількістю отриманих яєць (на 30,44 та 12,65 % відповідно) та витратами часу (на 25,03 та 16,77 % відповідно).

Збільшення терміну відстоювання фекальної суспензії до 15 хвилин призводило до збільшення кількості отримуваних яєць – $36,18 \pm 1,50$ екземплярів (за коливань від 27 до 58 екз.) за витрат часу на одну маніпуляцію $35,68 \pm 0,23$ хвилин. Вказаний режим виконання запропонованого способу за показниками ефективності перевищував флотаційно-центрифужний та загальновідомий методи за кількістю отриманих яєць на 56,55 та 45,44 %, а за показниками витрат часу – на 14,15 та 4,70 % відповідно. Встановлено, що виконання запропонованого способу із терміном відстоювання 20 хвилин незначно знижує його ефективність. Так кількість отриманих яєць була меншою на 22,34 % ($28,10 \pm 0,90$ яєць) порівняно з терміном відстоювання 15 хвилин, а витрати часу становили $40,82 \pm 0,20$ хвилин. Одночасно встановлено, що спосіб за показниками ефективності перевищував флотаційно-центрифужний та загальновідомий методи за кількістю отриманих яєць (на 44,06 та 29,75 % відповідно).

Порівняльна ефективність способів отримання яєць гельмінтів роду *Trichuris* із фекалій овець, n=50

Спосіб дослідження	Термін відстоювання, хвилин	Кількість отриманих яєць трихурисів у культурі, M±m / min–max	Витрачений час на одну маніпуляцію, хвилин
Флотаційно-центрифужний	–	$15,72 \pm 0,67$ / 5–22	$41,56 \pm 0,25$
Загальновідомий	–	$19,74 \pm 0,74$ / 7–28	$37,44 \pm 0,23$
Удосконалений	10	$22,66 \pm 0,59$ / 11–29	$31,16 \pm 0,17$
	15	$36,18 \pm 1,15$ / 27–58	$35,68 \pm 0,23$
	20	$28,10 \pm 0,90$ / 18–42	$40,82 \pm 0,21$

Таким чином експериментальними дослідженнями встановлено, що запропонований спосіб отримання яєць гельмінтів роду *Trichuris* із фекалій овець володіє високою ефективністю порівняно із загальновідомими методами.

Висновки:

1. Удосконалений спосіб має вищу ефективність за показником кількості отриманих яєць порівняно із флотаційно-центрифужним (на 30,44–56,55 %) та загальновідомим (12,65–45,44 %) методами.

2. Встановлено, що за показником витраченого часу ефективність запропонованого способу перевищувала флотаційно-центрифужний (на 8,28–25,03 %) та загальновідомий (на 4,70–16,77 %) методи.

Перспективи подальшої роботи в цьому напрямі. Перспективами подальших досліджень є вивчення особливостей ембріонального та постембріонального розвитку нематод шлунково-кишкового каналу овець.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Адаптационные процессы и паразитозы животных: монография / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 404 с.

2. Астафьев Б. А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине / Б. А. Астафьев, Л. С. Яроцкий, М. Н. Лебедева. – М.: Наука, 1989. – 279 с.

3. Бабак О. Я. Кишечные гельминтозы: ситуация и тенденции к их изменению / О. Я. Бабак // Здоров'я України. – 2006. – № 9/1. – С. 38–42.

4. Волошина Н. О. Екологічні аспекти формування паразитарного забруднення на урбанізованих територіях / Н. О. Волошина, П. Я. Кілочницький // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2010. – Т. 1 (1), Вип. 456. – С. 16–17.

5. Дмитриева Е. Л. Изыскание средств и способов дезинвазии объектов окружающей среды от ооцист криптоспоридий / Е. Л. Дмитриева // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2008. – № 1. – С. 46–47.

6. Євстаф'єва В. О. Випробування дезінфектантів за аскарозної інвазії свиней / В. О. Євстаф'єва // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2009. – № 1. – С. 101–103.

7. Коробейникова Е. П. Лабораторные живот-

ные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (НЛП/GLP) / Е. П. Коробейникова, Е. Ф. Комарова // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 1. – С. 30–36.

8. Новиков Н. Л. Разработка средств и методов обеззараживания животноводческих помещений от возбудителей инвазионных и инфекционных заболеваний: дис. ... канд. вет. наук / Н. Л. Новиков. – Москва, 2004. – 121 с.

9. Патент U 76434 Україна, МПК С 12 М 3/10. Спосіб культивування яєць *Trichuris muris* / В. І. Баран, Ю. О. Приходько; власник Харків. держ. зоовет. акад. – № 201205425; заявл. 03.05.12, опубл. 10.01.13, Бюл. № 1. – 3 с.

10. Юськів І. Д. Ефективність використання різних тест-культур яєць гельмінтів щодо встановлення дезінвазійних властивостей хімічних засобів / І. Д. Юськів, В. В. Мельничук // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2015. – № 4. – С. 58–60.

11. Braga F. R. Ovicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* on *Moniezia* sp. eggs / F. R. Braga, J. V. Агаџо, J. A. Milani [et al.] // Journal of Helminthology. – 2008. – Vol 10. – P. 241–243.

ANNOTATION

Melnychuk V. V. The features of obtaining of the dense faecal of gelmint eggs of *Trichuris* genus in sheep.

The results of research on the effectiveness of the proposed method for obtaining a dense faecal of nematodes' eggs of *Trichuris* genus in sheep are presented.

The effectiveness of our method for different modes of settling the faecal suspension (10, 15 and 20 min) concerning to the number of nematode eggs obtained exceeds the flotation-centrifugal and well-known methods by 30.44–56.55% and 12.65–45.44% respectively. The improved method allows

to reduce time loss on conducting the procedure compared with flotation-centrifuge (by 8.28–25.03%) and well-known methods (4.70–16.77%).

For the purpose of successful fight against parasitosis, scientists of the world annually develop and produce a large number of drugs and formulations of chemical and biological origin that are pre-tested with a lot of approbation. One of such approbation is the use of experimental parasitosis simulation in the conditions of in vitro.

Egg nature of causative agents of parasitic diseases is often used in the development of new methods for lifelong diagnosis and conducting

comparative effectiveness of existing ones. However, in the literature, insufficient information has been found on the methods for obtaining eggs of helminths.

In this regard, the aim of the research is to improve the method of obtaining a dense fecal eggs of worms of the *Trichuris* genus in sheep. The research task is to determine the effectiveness of the proposed method in comparison with the well-known ones.

The research has been conducted on the base of the Laboratory of Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise at Poltava State Agrarian Academy.

The eggs of trichuroses are obtained in three ways: a flotation-centrifuge method for cultivating eggs of *Trichuris muris*; a well-known method of cultivating eggs *Trichuris muris*; the proposed method with different terms for fecal suspension (10, 15 and 20 min).

By testing a flotation-centrifuge method for obtaining trichurise eggs from sheep, it has been found that the average number of washed eggs is 15.72 ± 0.67 . Using a well-known method, it was found that the average obtained number of eggs is 19.74 ± 0.74 specimens. The use of our method for different modes of settling the fecal suspension (10, 15 and 20 min) resulted in an average of 22.66 ± 0.59 , 36.18 ± 1.50 and 28.10 ± 0.90 eggs.

Conclusions:

1. The improved method has a higher efficiency in terms of the number of eggs obtained compared to flotation-centrifuge (30.44 to 56.55%) and well-known (12.65 to 45.44%) methods.

2. It has been found out that the efficiency of the offered method exceeds the efficiency of the flotation-centrifugal (by 8.28–25.03%) and the well-known (on 4.70–16.77%) methods in terms of time loss.

Key words: *method, eggs, Trichurise, efficiency.*