

УДК 619:616.925:639.2(477.73)

**МЕТОДИКА РОБОТИ З МЕТАЦЕРКАРІЯМИ *PARASCOENOGONIMUS OVATUS*  
(TREMATODA, SYATHOCOTYLIDAE)****ГОНЧАРОВ С. Л.** здобувач\*Миколаївська регіональна державна лабораторія ветеринарної медицини, м. Миколаїв  
[sergeyvet85@ukr.net](mailto:sergeyvet85@ukr.net)

Запропонований достатньо ефективний спосіб екцистування метацеркарій *Parascoenogonimus ovatus*. Так, дана методика може бути використана і при вивченні інших метацеркарій, що мають товстостінну оболонку цисти та невіддатливі до вивільнення личинки трематоди за раніше викладеними способами. Не потребує дорогого та складного обладнання, значних затрат часу та засобів для дослідження. Сприяє підвищенню ефективності діагностичної роботи, пов'язаної з метацеркарними трематодозами

**Метод, метацеркарії, *Parascoenogonimus ovatus*, екцистування**

Метацеркарії трематод є паразитичною стадією онтогенезу цих гельмінтів. Нерідко їх патогенний вплив на хазяїна проявляється сильніше, аніж статевозрілих стадій. Це пов'язано з тим, що вони найчастіше локалізуються в життєвоважливих органах – серці, мозку, очах, нирках. Та при цьому характеризуються високою інтенсивністю інвазії.

В циклах розвитку трематод метацеркарії стоять між церкаріями та статевозрілою трематодою – маритою. Вони мають свого хазяїна – додаткового, або метацеркарного, яким можуть бути як хребетні, так і безхребетні організми [4].

В морфологічному відношенні метацеркарії представляють собою ювеніальну форму марити з нерозвиненою статевою системою. На цій стадії розвитку формуються всі органи, характерні для марити – придатки навколо ротової присоски, адоральний диск з шипиками, псевдоприсоски, орган Брандеса та інші органи, які відсутні у церкарій. Статева система представлена у вигляді зачатків гонад, матки, бурси цируса, тощо. При цьому число зачатків, відповідає кількості у марит. Приблизно відповідає і топографія [4, 5].

Переважає більшість видів метацеркарій трематоди – інцистовані форми. Їх тіло розміщено в цисті, стінки якої є продуктом секрету цистогенних залоз. Частіше всього оболонка цисти двошарова. Внутрішній шар тонкий, го-

могенний, достатньо міцний, іноді зафарбований у жовтуватий колір. Зовнішня оболонка більш міцна, різної природи та міцності. Найбільш міцним шаром є гіаліновий, прозорий, безбарвний, різношарової структури. Живі цисти серед тканин хазяїна виділяються світлим прозорим обідком. Старі цисти, та такі що на стадії деструктуризації, цей шар набуває світло-брунатного кольору [3, 4].

Параценогоніоз – трематодозне захворювання, яке за останні 3 роки почало реєструватися в природних водоймах Миколаївської області. Збудником є трематода *Parascoenogonimus ovatus* (Katsurada, 1914) із родини *Syathocotylydae* [6, 8].

Статевозрала форма – марита, паразитує у кишках рибоїдних птахів, ссавців, а також може інвазувати і людину [3, 4, 5]. Проміжна стадія розвитку, метацеркарій, паразитує, в основному, у м'язовій тканині риб. Також може локалізуватися у плавцях, серці, зябрах, печінці, нирках, яєчниках, скловидному тілі ока та мозку, але значно рідше [3].

Цикл розвитку *P. ovatus* складний, проходить за участю трьох хазяїв: першого проміжного – моллюсків роду *Viviparus*, другого проміжного (додаткового) – прісноводні риби (род. коропових, окуневих, осетрових і ін.), та кінцевого (дефінітивного) – чайкових, хижих птахів, домашніх та диких всеїдних ссавців [5].

\*– Науковий керівник – д. вет. наук, професор Н.М. Сорока

**Мета досліджень** полягала в удосконаленні методу виділення метацеркарій *P. ovatus* з цисти та розробці способу екцистування, більш зручного у повсякденній роботі іхтіопатолога.

**Матеріали і методи дослідження.** Протягом 2012 – 2014 рр. було досліджено 1258 різних видів риб, що були виловлені в річках Південний Буг та Інгул. При проведенні розтину відбирали тканини та досліджували компресорним методом за допомогою компресорію МИС-7. Мікроскопію проводили за допомогою оптичного обладнання: мікроскопу тринокулярного Micromed XS – 4130 та мікроскопу бінокулярного, стереоскопічного Micromed XS – 6320. Виявляли метацеркарії у м'язовій тканині риб різних видів.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Виділені метацеркарії гельмінта розміщені у товстостінній гіаліновій цисти, середнім діаметром 0,380–0,410 мм. Внутрішня будова личинки, знаходиться у цисті, характеризується типовим рисунком, що представляє собою «трійник» у кільці з трьома вузькими щілинами. Ця форма утворюється розміщеними каналами видільної системи, що заповнені екскреторними гранулами, які сильно переломлюють світло, від освітлювального приладу мікроскопа, тому вони здаються чорними. Личинка малорухлива у цисті і лише при здавлюванні між склом проявляла слабкий рух. При цьому можна було побачити, як маса екскреторних гранул то концентрується, то розпливається, хоча при впливі температурних подразників личин-



Рис. 1. Метацеркарій *P. ovatus* щуки звичайної, 10x40

ка проявляє активну рухову діяльність. Під час руху добре візуалізується ротова присоска. Личинка складена у цисті вдвоє (рис. 1).

У своїй діяльності лікар ветеринарної медицини, що займається іхтіопатологічною роботою, керується нормативно-правовими актами, зокрема, «Методикой определения возбудителей гельминтозоонозов в пресноводных рыбах», 1983 року. Дана методика регламентує ряд прийомів для екцистування метацеркарій, зокрема, з цією метою рекомендовано застосувати 0,5 % розчин трипсину, жовчі, штучного шлункового соку, антиформіну. Барська Ю. Ю. і ін. (2008) рекомендують для екцистування використовувати побутовий хімічний засіб «Асе» [7]. Після обробки цисти застосовують механічні прийоми для руйнування її оболонки. До механічних методів відноситься застосування різноманітних технологічних пристосувань для видалення метацеркаря із цисти. Наприклад, Курочкін Ю. В. (2006) для руйнування цист з міцною гіаліновою оболонкою *P. ovatus* запропонував використовувати голки для шиття різної величини, в яких він сточував верхню частину «вушка» до такого ступеня, щоб отримати «вилку», та нею можна було б зафіксувати цисту, а іншою препаративною голкою руйнують оболонку [5]. Також рекомендовано застосовувати гістологічні чи ентомологічні голки [3].

Екцистування доволі складний етап роботи. З дрібних та товстостінних цист *P. ovatus*, видалити метацеркарій, не пошкодивши його, доволі складно.

Нами запропоновано застосовувати схему попередньої хімічної обробки 0,5 % аптечного хімотрипсину, що приготовлений на ізотонічному фізіологічному розчині за загальноприйнятими правилами. Розчин хімотрипсину готують безпосередньо перед використанням.

Виділені цисти поміщали в 0,5 % розчин хімотрипсину, нагрітого до температури 38–40° С та витримували 7 – 10 хв. По проходженню зазначеного часу оточуючі тканини (м'язова і сполучна) починають лізуватися та циста легко вилучається з залишків тканин, шляхом незначного механічного впливу (рис. 2).

Вилучені цисти переносили в годинникове скло та вносили тонкий шар гліцерину, замість

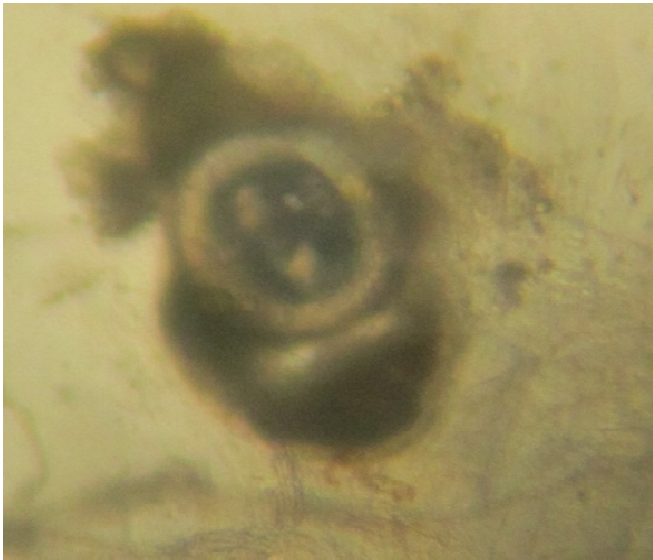


Рис. 2. Лізис оточуючих метацеркарій *P. ovatus* тканин під впливом розчину 0,5 % хімотрипсину, 10x40

рекомендованого фізіологічного розчину, оскільки фізіологічний розчин з годинникового скла доволі швидко випаровується, не дає можливість зручно зафіксувати цисти механічними засобами та при зануренні інструментів у розчин циста переміщується в протилежному напрямку, що не дає можливості з нею працювати. Перевагами гліцерину є те, що він не так швидко випаровується, та завдяки вищій питомій масі, ніж у фізіологічного розчину, не дає можливості цисті швидко переміщатися. Це створює умови фіксації метацеркарія для подальшого екцистування відносно інертного до досліджуваних об'єктів.

Для фіксації та розривання капсули рекомендуємо використовувати медичні скарифікатори для взяття капілярної крові, які для зручності фіксували у гемостатичному пінцеті під кутом 45° по відношенню до уявної осі закритих браншів пінцета. Використання скарифікаторів є зручним та дає змогу з найменшими пошкодженнями видалити метацеркарій з цисти, тому що мають надзвичайно гострий кінець. Це дає змогу швидко зафіксувати цисту. Застосування голки для шиття, гістологічних чи ентомологічних голки є не зручним. Оскільки навіть голки з найменшим діаметром при роботі з метацеркаріями є товстими по відношенню до розмірів власне цисти. В той же час маніпуляції, що проводяться такими інструментами є грубими та призводять до пошкодження личи-

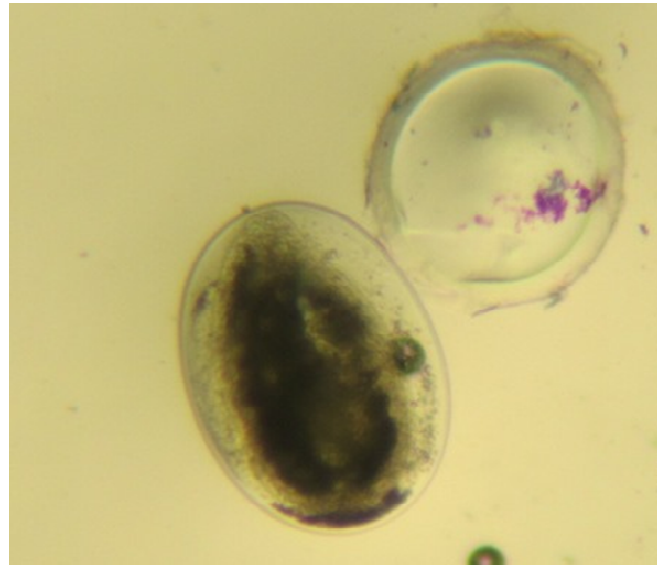


Рис. 3. Метацеркарій *P. ovatus*, що залишає цисту, 10x40

нки та унеможливають подальше детальне вивчення досліджуваного об'єкта.

Одним скарифікатором фіксували метацеркарій, а іншим обережно розривали стінку цисти, далі – метацеркарій, протягом 1 хв залишає цисту без додаткових механічних маніпуляцій (рис. 3). В подальшому для подовження життєдіяльності досліджуваного метацеркарія та змивання гліцерину, скляним капіляром найтоншого діаметра, який виготовляли шляхом «втягування» над полум'ям спиртівки, переносили личинку в фізіологічний розчин.

Фарбування метацеркарія здійснювали оцтовокислим карміном за загальноприйнятою методикою [1]. Подальше вивчення морфологічних особливостей проводили за допомогою мікроскопічної техніки та рисувального апарату – РА-4.

Тіло паразита, вивільненого з цисти має яйцеподібні контури тіла та досягає у довжину 0,470 – 0,570 мм при ширині 0,390 – 0,410 мм (рис. 4). Тіло метацеркарія вкрите шипиками. Ротова присоска 0,049 – 0,072 мм у діаметрі, префаринкс досить короткий. М'язовий, кулеподібний фаринкс діаметром 0,037 – 0,040 мм. Черевна присоска слабо розвинута, має діаметр 0,031 – 0,048 мм. Орган Брандеса 0,090 – 0,100 мм у діаметрі, порівняно великий, має порожнину, в яку веде невеликий щілеподібний отвір. Позаду розміщується за-

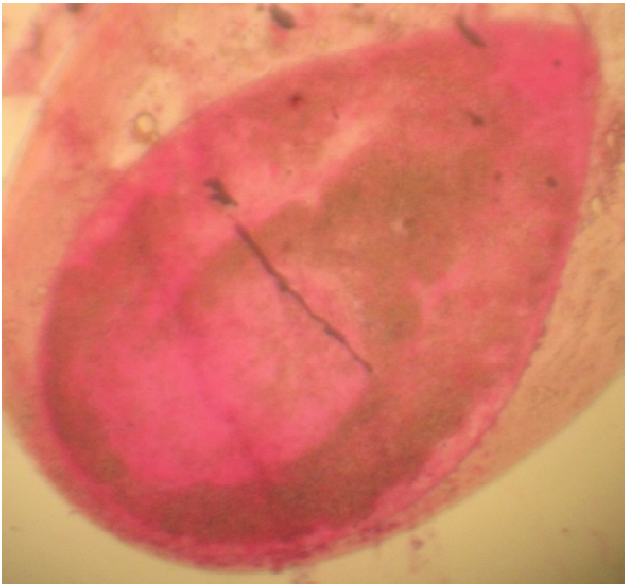


Рис. 4. Екцистована личинка *P. ovatus*, від шуки, 10x60

родки статевих залоз. Каудальний відросток у вигляді невеликого потовщення на задньому кінці тіла.

**Висновок.** Запропонований метод екцистування метацеркаріїв *P. ovatus* досить ефективний. Дана методика може використовуватися і при вивченні інших метацеркаріїв, що мають товстостінну оболонку цисти та невіддатливі до вивільнення личинки трематоди за раніше викладеними методами. Попередні методи економічно не обґрунтовані та займають багато часу. Спеціалістом-іхтіопатологом значно полегшується оволодіння навиками роботи з метацеркаріями, технічно складних для виконання операцій, зокрема, фіксування та розривання оболонки цисти. Все це значно сприяє підвищенню ефективності діагностичної роботи, пов'язаних з метацеркарними трематодозами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб / И. Е. Быховская-Павловская // Руководство по изучению. – Л.: Наука, 1985. – 121 с.
2. Давыдов О. Н. Болезни пресноводных рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. – К.: Ветинформ, 2003. – 219 с.
3. Линник В. Я. Паразиты рыб / В.Я. Линник. – Мн.: Ураджай, 1988. – 80 с.
4. Метацеркарии трематод – паразиты пресноводных гидробионтов России: монография / В. Е. Судариков [и др.]; – М.: Наука, 2002. – Т. 1 – 298 с.
5. Метацеркарии трематод – паразиты пресноводных гидробионтов Центральной России: монография / В.Е. Судариков [и др.]; – М.: Наука, 2006. – Т. 2 – 183 с.
6. Определитель паразитов пресноводных рыб. Под. ред. О. Н. Бауэра. – М.: Наука, 1987. – Т.3 – 583 с.
7. Паразиты лососевидных рыб Фенноскандии / Ю. Ю. Барская, Е. П. Иешко, Д. И. Лебедева. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. – 168 с.
8. Kirjušina Muza. Checklist of the parasites of fishes of Latvia / Muza Kirjušina, Karlis Vismānis // Fisheries technical paper. – Rome. – 2007. – № 3 (369). – 106 p.

#### МЕТОДИКА РАБОТЫ С МЕТАЦЕРКАРИЯМИ *PARASCOENOGONIMUS OVATUS* (TREMATODA, SYATHOCOTYLIDAE)

Гончаров С.Л.

Предложен достаточно эффективный способ экцистирования метацеркариев *Parascogenimus ovatus*. Данную методику можно использовать и для определения других метацеркариев, которые имеют толстостенную оболочку цисти и неподдаваемые освобождению личинки трематод за вышеуказанными способами. Не требует дорогого и сложного оборудования, значительных затрат времени и способов для исследования. Способствует повышению эффективности диагностической работы, связанной с метацеркарными трематодозами

**Метод, метацеркарии, *Parascogenimus ovatus*, экцистирование**

**FEATURES OF METHODS OF WORKING WITH METACERCARIA  
PARACOENOGONIMUS OVATUS (TREMATODA, CYATHOCOTYLYDAE)**

S. Goncharov

*Mykolaiv Regional State Laboratory of Veterinary Medicine, Mykolaiv*

*There is proposed a very effective method of removing metacercaria Paracoenogonimus ovatus. This technique can be used in the study of other metacercaria with thick shell cysts and unyielding to release larvae of trematodes earlier than set methods. The previous methods are not economically justified and time-consuming. Specialist can easier learn to work with technically difficult to perform operations on metacercaria, including recording and breaking shell cysts. It greatly improves the efficiency of the diagnostic parasitic diseases. It is not require expensive and complicated equipment, significant investment of time and money for research. It enhances the effectiveness of diagnostic work.*

***Metacercaria, Paracoenogonimus ovatus, extraction, method***

---