



**2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“**

Projekto sutarties numeris: ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

---

## **BIO 313 BESTUBURIŲ BIOLOGIJA**

### **Laboratorinis darbas**

#### **KOKCIDIJŲ (TIPAS *APICOMPLEXA*: *COCCIDIIDA*) DIAGNOZAVIMAS FEKALIJŲ MĖGINIUOSE IR MIKROSKOPINIUISE PREPARATUOSE**

##### **TIP. SPORAGYVIAI (*APICOMPLEXA*)**

##### **Būr. Kokcidijos (*Coccidia*)**

Kokcidijos – apvaliniai viduląsteliniai parazitai, pažeidžiantys įvairius stuburinių organus: smegenis, žarnyną, kepenis, inkstus. Gali parazituoti ir bestuburiuose. Būdinga lytinio ir nelytinio dauginimosi kaita. Nelytiškai dauginasi šizogonijos būdu. Užsikrečiama oocistomis su sporozoitais. Sporozoitai patekę į šeimininko ląstelę dauginasi šizogonijos būdu. Susiformuoja daug merozoitų, kurie skverbiasi į naujas ląsteles. Po kelių šizogonijos dalinimusi prasideda lytinis dauginimasis – gamogonija. Iš merozoito susidaro arba viena stambi makrogameta arba daug smulkių mikrogametų. Susiliejus mikrogametoms su makrogameta, susidaro zigota, kuri apsigaubia dangalu ir virsta oocista. Oocistoje, dalijantis branduoliui susiformuoja sporos, kurių viduje yra sporozoitai. Sporų skaičius oocistoje ir sporozoitų skaičius sporoje – būdingas sistematinėms grupėms. Vienos oocistos yra sudarytos iš 2 sporų, kurių kiekviena turi 4

sporozoitus. Tokios oocistos būdingos *Cystoisospora*, *Sarcocystis* ir *Toxoplasma* genties kokcidijoms. Kitos oocistos turi 4 sporas, kurių kiekviena su 2 sporozoitais (toks oocistų tipas būdingas *Eimeria* genčiai). Kai kuriose gentyse (pvz. *Cryptosporidium*) oocistos turi tik sporozoitus (be sporų).

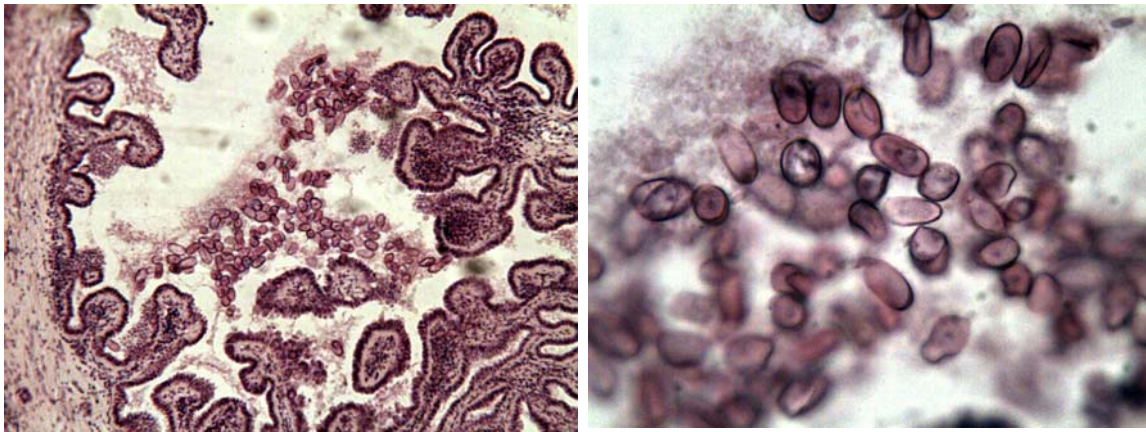
Daugelis kokcidijų – pavojingi naminių gyvūnų (jaunų triušių, viščiukų, veršiukų) parazitai. Kokcidijų sukeltos ligos vadinamos kokcidiozėmis. Dauguma kokcidijų priklausančių *Eimeria* genčiai yra specifinės savo šeimininkui ir gali infekuoti tik tam tikros rūšies šeimininką. Parazituoja dažniausiai žarnyne. *Eimeria magna* ir *E. intestinalis* – triušių žarnyno parazitai. *E. tenella* – parazituoja paukščių ir šuninių žarnyne. Veršiukų kokcidiozę sukelia *Eimeria zurni* ir *E. smithi*. Žmogui kokcidiozę gali sukelti *Isoospora belli*. *Eimeria* genties kokcidijų sporogonija (oocistos branduolio dalijimasis ir sporų bei sporozoitų formavimasis) vyksta išorėje. Sergančių gyvūnų fekalijose galima rasti oocistas, kurios ir yra šių pirmuonių diagnostinė stadija. Užsikrečiama taip pat oocistomis, jas prarijus su maistu ar vandeniu, kuris yra užterštas.

Ankščiau minėta kokcidijų rūšis *E. tenella* yra paplitusi tiek paukščiuose tiek šuniniuose. Dauguma šunų gali būti tiesiog šių pirmuonių nešiotojai, tačiau patys nesuserga. Susirgimui turi įtakos gyvūno imuninė sistema ir stresas. Įrodyta, kad šunys, kurie infekuoti oocistomis, gali susirgti kokcidioze, kuomet jie patiria stresines sąlygas – pasikeičia šeimininkas, maistas, namai, aplinka. Susirgę šunys dažniausiai praranda apetitą, nebeėda, silpsta, ir esant stipriam užsikrėtimui dažniausiai miršta.

Klinikiniai kokcidiozės simptomai priklauso nuo ligos stadijos. Kokcidijos paveikia žarnyną ir todėl simptomai dažniausiai yra susiję su žarnynu. Dažniausi požymiai tai viduriavimas, kuomet išmatos yra vandeningos, jose yra kraujo, ir žarnų epitelio gleivių.



**Pav. 1.** Rodyklėmis parodytos *E. tenella* lokalizacijos vieta viščiukų žarnyne - aklosios ataugos. Viršuje parodyta pažeista, sustorėjusiomis, susisukusiomis sienelėmis akloji atauga. Viščiukų kokcidiozė diagnozuojama pagal oocistas randamas fekalijose arba kitas stadijas randamas žarnų epitelio ląstelėse.



**Pav. 2.** *Eimeria stiedae* oocistos triušio žarnyne (Fotografuota trinokuliariniu FK mikroskopu MOTIC BA300 su .skaitmenine foto-video kamera MOTICAM 2000).

### LABORATORINIS DARBAS NR.3

#### Kokcidijų nustatymas fekalijų mėginiuose ir mikroskopiniuose preparatuose

**Darbo priemonės:** fekalijų, surinktų paukštynuose arba šunų fekalijų mėginiai, objektiniai stikleliai, dengiamieji stikleliai, mikroskopiniai kokcidijų *Eimeria stiedae* triušio žarnyne preparatai, mokomieji monokuliariniai mikroskopai SFC 100FL H, Mokomieji monokuliariniai mikroskopai F1115 + 100x su imersiniais objektyvais.

**Darbo eiga:**

### 1. Mikroskopinis *Eimeria stiedae*. (triušio žarnyne) preparatas

Pradžioje naudodamiesi mažuoju mikroskopo padidiniu (100 X) susiraskite dažytame preparate vietą, kur matosi žarnos spindis ir jame daug ovalių grūdelių – *E. stiedae* kokcidijų (**Pav. 2**). Tuomet nusistatykite didįjį mikroskopo padidinimą (400 X) ir apžiūrėkite kokcidijas atidžiau. Matysite, kad tai oocistos. Oocistos susidaro po lytinio proceso, ir turi pakankamai gerai išvystytą, šviesą laužiančią sienelę. Sporos joje susiformuoja kiek vėliau. Pabandykite nustatyti ar jos su sporomis ar dar nesporuliavusios. Jei matosi nepakankamai gerai – panaudokite mikroskopą su imersiniu objektyvu. Žiūrėdami paprastu objektyvu nusistatykite reikiamą vietą preparate, po to atsargiai ant preparato užlašinkite nedidelį lašelį kedro aliejaus ir nustatykite imersinį objektyvą, atsargiai panardindami jį į aliejaus lašelį (dėmesio! Dirbkite atidžiai ir nesupainiokite objektyvų!).

### 2. Laikinieji kokcidijų preparatai iš fekalijų mėginių.

Naudodamiesi viščiukų ar šunų fekalijų mėginiais paruoškite laikinus mikroskopinius preparatus. Ant objektinio stiklelio užlašinkite vandens lašą, į jį pincetu įdėkite truputėlį (!) fekalijų ir uždenę dengiamuoju stikleliu lengvai pasklaidykite. Pradžioje naudodamiesi mažuoju mikroskopo padidiniu (100 X), vėliau didžiuoju padidiniu (400 X) suraskite *Eimeria* spc. oocistas.

### 3. Laikinas mikroskopinis preparatas iš užsikrėtusio viščiuko žarnyno.

Jei laboratoriniams darbams yra paruoštas užsikrėtusio viščiuko žarnynas, galite taip pat padaryti laikinąjį mikroskopinį preparatą. Skalpelio nugramdykite šiek tiek viščiuko aklosios ataugos epitelio (vidinio) (**Pav. 1**) ir patalpinkite į fiziologinio tirpalo lašą ant objektinio stiklelio. Uždenę dengiamuoju stikleliu, stebėkite didžiuoju mikroskopo (400 X) padidiniu. Galite matyti šizontus ir merozoitus.

## LITERATŪRA

1. Kazlauskas R. Bestuburių biologija. – Vilnius: Mokslas, 1988.- 384 p.
2. Mažiulis D. Starodubaitė M. Zoologija. Vilnius : Siveida, 2001. – 296 p.

3. Šatkauskienė I. Gyvūnų biologijos praktikumas. Kaunas : VDU leidykla, 2001 – 84 p.
4. Mader S. Biologija 1,2 T. Vilnius : alma litera, 1999.

**INTERNETINIAI PUSLAPIAI**

<http://www.umanitoba.ca/faculties/science/zoology/faculty/dick/z346/eimerhome.html>

[martin.parasitology.mcgill.ca/jimspage/biol/EIMERIA.HTM](http://martin.parasitology.mcgill.ca/jimspage/biol/EIMERIA.HTM)

[cvm.msu.edu/courses/mic569/docs/parasite/EIMERIA.HTML](http://cvm.msu.edu/courses/mic569/docs/parasite/EIMERIA.HTML)