

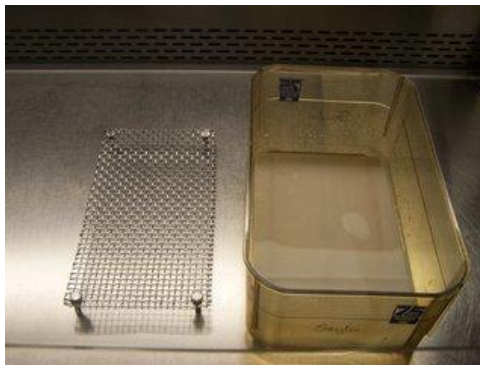
## Kultur *Heligmosomoides polygyrus*

Berikut ini metode kultur *Heligmosomoides polygyrus* :

1. Tempatkan 5 ekor mencit yang terinfeksi *Heligmosomoides polygyrus* dalam kandang yang bagian dalam terdapat jaring kawat dibagian 1/3 bagian dari dasar kandang, dan dibagian dasar kandang dilapisi dengan handuk lembab. handuk harus cukup lembab untuk menjaga kotoran supaya tidak kering tapi juga tidak begitu basah, supaya kotoran bisa dibuat pelet lembek. Tinggalkan air minum di kandang tanpa makanan.



Kawat terbuat dari stainless steel 1 cm mesh. Jala berdiri di baut stainless steel.



Tempatkan juga handuk basah dibagian dasar kandang, di bawah kawat

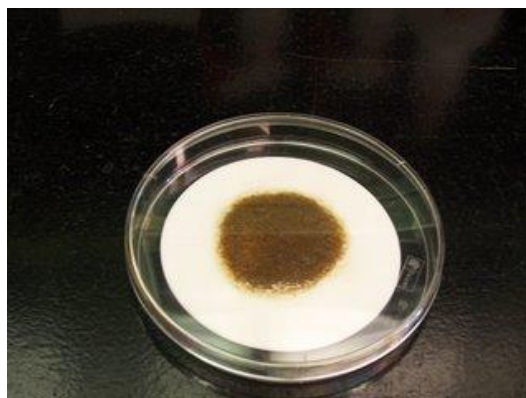


Masukkan mencit terinfeksi *Heligmosomoides polygyrus*, tutup kandang dan ditunggu

2. Kumpulkan feses selama 2-5 jam, kemudian feses dipanen.



3. kumpulkan masukkan feses ke dalam tabung centrifuge 15mL/50 ml dengan menggunakan spatula kecil.
4. Dengan perlahan hancurkan feses menjadi pasta halus.
5. Tambahkan sekitar 0,5-1 ml aquades ke dalam tabung dan mash feses menjadi pasta halus.
6. Isi tabung centrifuse 15mL/50 ml yang berisi bubur kotoran dengan aquades, kocok untuk mencampur kotoran dan sentrifus pada 250 rpm (11 g) selama 2 menit.
7. pisahkan cairan supernatan dari pelet dan mengisi tabung dengan aquades.
8. Ulangi '5 'dan '6' dua kali.
9. Resuspend pelet tinja dengan 15 ml aquades dan tuangkan ke dalam tabung 15 ml yg lain melalui 2 lapisan kasa (double kasa). Ini akan menghapus banyak kotoran dan memungkinkan sebagian besar telur nematoda untuk melewati kain kasa. Peras kain kasa/kotoran untuk menghapus semua retentate dan centrifuge seperti yang dijelaskan pada langkah 5.
10. Pisahkan cairan supernatan dari pelet. Tuangkan sisa sedimen ke 5-6 lapisan kertas saring Whatman 40 yang telah dibasahi dalam petridish. Pastikan untuk membasahi kertas saring sebelum menuangkan bubur tinja.



Hal ini sangat menyenangkan pada proses pengamatan sampel culture setiap hari untuk mengikuti perkembangan larva. Kita dapat menemukan larva di dalam telur, diikuti oleh larva unsheathed, diikuti oleh ensheathed larva infeksi L3.

11. Tempatkan sampel kultur pada suhu kamar dan jaga kelembapan setiap hari atau lebih dengan menambah aquades
12. Setelah 7-8 hari dalam proses kultur, angkat kertas saring dengan forceps dan semprot bagian bawah kertas saring dengan aquades. pindah kertas saring, miringkan petridish dan semprot permukaan petri dari atas ke bawah. Kumpulkan air yang mengandung larva ke dalam tabung 10 ml bersih. Isi tabung dengan aquades (jika perlu) dan centrifuge di 250g selama 2 menit. Hati-hati memisahkan cairan supernatant agar pelet larva tidak ikut terbang. Ulangi 3 kali.
13. Simpan larva dalam tabung 10 ml pada suhu 4 derajat C. Larva dapat terjaga selama beberapa minggu.
14. larva L3 yg diperoleh dari kultur ini, juga bisa diinfeksi/diinokulasikan kembali ke mencit/tikus yang lainnya dengan cara disondekan/peroral sebanyak 100-150 larva L3 perekor (untuk mencit volume jangan lebih dari 200  $\mu$ L) dan sekitar 70-80 % dari larva yang diinokulasikan akan bertahan sampai dewasa (Tergantung pada strain tikus). Untuk tikus jantan (thy1.1 BALB / C) terinfeksi dengan 200 larva L3. akan mendapatkan produksi telur yang baik sekitar 2 bulan.

Daftar pustaka :

<http://hpoly.blogspot.com/2006/04/culturing-heligmosomoides-polygyrus.html>

[http://hpoly.blogspot.com/2006\\_04\\_01\\_archive.html](http://hpoly.blogspot.com/2006_04_01_archive.html)