Ученые записки ВВИ. - Витебск, 1950. - Т. 10.

Из кафедры микробиологии и эпизоотологии

Зав. кафедрой кандидат ветнаук, доцент В. Ф. ПЕТРОВ

О МЕТОДАХ ОКРАСКИ БАКТЕРИЙ В МАЗКАХ

КАНДИДАТ ВЕТНАУК Б. С. СУХОРЕЦКИЙ,
СТУД. Н. Л. БЕЛЯЙ

В повседневной лабораторной бактериологической работе нередко руководствуются установившимися десятки лет тому назад правилами и методами, в ряде случаев принятыми без достаточных научных оснований. Так например, часть приёмов бактериоскопической техники установлены совершенно эмпирически и, несмотря на то, что устарели и не отвечают современным нашим знаниям и требованиям, всеже сохраняются в силу традиции. К подобным, достаточно устаревшим приёмам, следует отнести методы приготовления красящих растворов анилиновых красок, взятые из практики текстильной промышленности и примененные для окраски микроорганизмов в мазках на предметных стеклах.

Микроскопическое изучение бактерий в мазках, фиксированных и окрашенных растворами анилиновых красок, является одним из важнейших звеньев бактериологического анализа. При этом способе исследования устанавливаются основные морфологические признаки у бактериальных клеток: величина, форма, контуры, взаимное расположение, наличие зернистости в цитоплазме, спор, капсул и проч., необходимые для идентификации и определения вида у бактерий.

Применение метода окрашивания бактерийных мазков растворами анилиновых красок вызывается необходимостью увеличить коэфициент преломления лучей света в протоплазме бактерийных клеток, для получения ясного изображения последних в микроскопе.

Со времен Романовского, Эрлиха и др. исследователей, для окрашивания бактерий в мазках употребляют водные или спиртоводные растворы анилиновых красок. Водные растворы анилиновых красок готовятся с концентрацией краски 1—2 проц. Спиртоводные рабочие растворы готовятся из насыщенных спиртовых с доведением концентрации красок в них до 1—4 проц.

Предложенные 55—60 лет тому назад, на заре развития научной бактериологии, рецепты приготовления красящих растворов сохранялись без изменения до настоящего времени.

ЗАДАЧА, МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Задачей своих исследований мы поставили выяснение возможности применения растворов анилиновых красок в слабых концентрациях для окрашивания бактерий в мазках из культур и патматериала из трупов животных.

В качестве объектов исследования нами взяты чистые культуры кишечной и паратифозной палочек, желтого стафилококка, синегнойной палочки и 2-й сибиреязвенной вакцины Ценковского. Из суточных бак-

териальных культур, перечисленных видов бактерий готовились мазки по общепринятой методике. Кроме того, готовились мазки из органов трупов белых мышей, павших от заражения культурой 2 вакц. Ценковского. Фиксация мазков из культур производилась на пламени спиртовой лампочки, а из органов трупа спирт-формалином.

В качестве основы для приготовления красящих растворов употреблялись спиртоводные растворы анилиновых красок: метиленовая синька, основной фуксин, генцианвиолет и метилвиолет в концентрации 1 проц.; сафранин в форме водного 2 проц. раствора.

Из указанных основных растворов красок перед употреблением готовились рабочие растворы в концентрации: 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 3000, 1 : 4000 и 1 : 5000, путем разведения их дестиллированной водой. Фиксированные мазки из культур и органов одновременно и сравнительно окрашивались перечисленными растворами красок в продолжение 3 минут, после чего промывались водой, высушивались и исследовались с помощью микроскопа с применением иммерсионной системы.

При микроскопическом исследовании учитывалось:

1. интенсивность прокрашивания бактериальных клеток и фона;
2. контуры и объём бактериальных клеток;
3. наличие осадков краски и степень загрязнения ими фона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы подвергли микроскопическому изучению несколько сотен мазков—препаратов из бактериальных культур и из органов трупов б. мышек, сравнительно окрашенных красящими растворами с концентрацией в них краски от 1 : 100, до 1 : 5000. В результате мы установили полную возможность применения слабых растворов красок и наличие многих преимущ ств при этом, в сравнении с окрашиванием концентрированными 1—4 проц. растворами, обычно употребляемыми в практике бактериологической работы. Мазки из культур стафилококков, кишечной и паратифозной палочек и вакцины Ценковского хорошо окрашивались растворами метиленовой синьки, основного фуксина, генциан и метилвиолета в разведении до 1 : 3000, сафранина до 1 : 1000.

Бактериальные клетки в мазках при такой окраске имели хорошо выраженные контуры, отчетливо выступали со всеми характерными морфологическими признаками на ясном, чистом фоне препаратов и не содержали осадков краски, этого редко отсутствующего недостатка в мазках, окрашенных концентрированными растворами красок.

Мазки из культур синегнойной палочки удовлетворительно окрашивались растворами всех красок только до разведения 1 : 1000. Красящие растворы в более высоких разведениях окрашивали их слабо.

Мазки из органов трупов мышей, павших от сибиреязвенной инфекции, хорошо прокрашивались растворами всех красок в концентрации до 1 : 1000. Более высокие разведения слабо окрашивали как бактерии, так и тканевые элементы в продолжение 3 минут.

Лучшие результаты получены при окрашивании мазков генцианвиолетом, метил-виолетом и фуксином. Генциан-виолет еще удовлетворительно окрашивал бактериальные мазки в растворах с концентрацией до 1 : 4000.

Наши данные по применению красящих растворов в слабых разведениях, сравнительно с концентрированными (1—4 проц.), позволяют сделать заключение о нецелесообразности применения таких высоких концентраций, какими являются 1—4 проц. растворы.

Применение концентрированных красящих растворов, снижая качество препаратов (осадки краски, грязный фон препаратов, нарушение контуров бактериальных клеток), ведет к непроизводительному расходованию дорогостоящих анилиновых красок.

Мы рекомендуем готовить рабочие красящие растворы из 1—2 проц. спиртоводных, разводя последние перед употреблением до 1 : 1000—2000. Это снизит расход анилиновых красок в 10—20 раз и даст значительную экономию.

ВЫВОДЫ

1. Окраска бактерий в препаратах-мазках хорошо производится растворами анилиновых красок в разведении 1 : 1000—2000 и выше в течение 3—5 минут.

2. Рабочие красящие растворы целесообразно готовить из 1—2 проц. спиртоводных, разводя последние перед употреблением до 1 : 1000—2000.

3. Применение красящих растворов в указанных разведениях (1 : 1000—2000) не только не снижает качества препаратов, а наоборот, создаёт ряд преимуществ: отсутствие осадков краски, чистота фона, сохранение контуров бактериальных клеток и хорошо выявляет зернистость в протоплазме клеток.