

алгоритму, включающему несколько блоков измерительных и аналитических операций, является предметом интеллектуальной собственности разработчиков. Предназначен для работы в операционной среде Windows.

Заключение. Впервые предложен способ подсчета паразитов и статистического анализа результатов паразитологических исследований, позволяющий в процессе исследования вводить в программную среду первичные данные, получаемые, в том числе, с помощью современных устройств визуализации микроскопических изображений, а также проводить статистическую обработку результатов исследований.

УДК 619:616.993.192.1:636.2

**МИРОНЕНКО В.М.**, канд. вет. наук, доцент

**ВОРОБЬЕВА И.Ю.**, магистрант

**МЕХОВА О.С.**, аспирант

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

## **ОКРАШИВАЕМОСТЬ ЦИСТ ПРОСТЕЙШИХ И СПОР ГРИБОВ ПО МЕТОДУ ЦИЛЬ-НИЛЬСЕНА**

Метод Циль-Нильсена – один из универсальных диагностических способов. Метод применяется в равной степени как в микробиологии и протистологии, так и в других биологических науках. Как сложный метод окраски он имеет важное значение при определении и дифференциации различных видов микроскопических организмов. Данный способ окраски позволяет изучить морфологию, структуру и различные элементы, а также определить тинкториальные свойства биологических объектов.

Данный метод окраски основан как на свойствах самих красителей, так и на особенностях физико-химического строения исследуемых объектов. Т.е. метод применяется для окраски кислото- и спиртоустойчивых организмов, которые, будучи окрашенными карболовым фуксином, не обесцвечиваются под действием концентрированных минеральных кислот. Это объясняется высоким содержанием жировоскоподобных веществ, стеариновых кислот, а также особенностями структуры клеточной стенки.

Целью нашего исследования было определение окрашиваемости цист (ооцист) простейших и спор грибов по методу Циль-Нильсена.

Объектами исследования были четыре группы микроскопических организмов: простейшие рода *Cryptosporidium*, относящиеся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Coccidia*, семейству *Cryptosporidiidae*. Материалом исследования являлись контаминированные ооцистами криптоспоридий фекалии, полученные от телят.

Цисты реснитчатых простейших, относящиеся к типу Инфузории (*Ciliophora*), классу ресничные (*Ciliata*), подклассу равноресничные (*Holotrichia*) и подклассу спиральноресничные (*Spirotrichia*). При этом голотрихи представлены родами *Butschlia* (вид *Butschlia parva*), *Isotricha* (вид *Isotricha prostoma*), а спиротрихии (порядок *Entodiniomorpha*) – родами

Entodinium (вид *Entodinium simplex*), Epidinium (вид *Epidinium escaudatum*) и Ophryoscolex (вид *Ophryoscolex caudatus*). Материалом исследования служило содержимое рубца, полученное от телят.

Вакуолярные и гранулярные стадии простейших рода *Blastocystis*.

Споры плесневых грибов рода *Penicillium* и *Aspergillus*, полученные в результате культивирования последних на питательном субстрате.

В ходе основного опыта изучаемые организмы подвергались воздействию двух красок, одна из которых – основная (раствор карболового фуксина), а вторая – дополнительная (1% раствор малахитовой зелени). Кроме красящих применялись и обесцвечивающие вещества (10%-ый раствор серной кислоты).

Были изготовлены мазки из фекалий, рубцового содержимого и колоний плесневых грибов: на обезжиренное предметное стекло наносится небольшое количество исследуемого материала и распределяется тонким слоем. Мазки высушивались на воздухе при комнатной температуре, после чего фиксировались раствором спирт-эфира (экспозиция - до полного испарения спирта). Зафиксированные мазки в течение 20 минут окрашивались в растворе карболового фуксина, после чего промывались проточной водой и слегка подсушивались. Затем на мазки наносился 10% раствор серной кислоты на 30-60 секунд для обесцвечивания. Раствором малахитовой зелени 1% концентрации мазки докрашивались в течение 30 секунд.

Результаты проведенной окраски по методу Циль-Нильсена следующие: цисты простейших и споры грибов окрасились в красный цвет (цвет фуксина) и не обесцветились кислотой, а фон, сопутствующая микрофлора и элементы тканей приобрели цвет дополнительной краски – зеленый. При этом форма, размер и тинкториальные свойства окрашенных объектов были практически не отличимыми.

В настоящее время диагноз на криптоспориديоз в диагностических учреждениях ставится на основании результатов окраски мазков материала по методу Циль-Нильсена. Как видно из настоящего опыта, к окраске карболовым фуксином восприимчивы не только простейшие рода *Cryptosporidium*, но и другие биологические объекты (в частности, цисты простейших других родов, споры грибов), что затрудняет дифференциацию цист простейших и спор грибов, а также видовую дифференциацию цист простейших между собой. Все это необходимо учитывать при постановке диагноза на криптоспоридиоз.

Таким образом, цветовой и морфометрический критерии идентификации объектов при использовании метода Циль-Нильсена не являются специфичными, так как при данном методе доступны преимущественно параметры длины, ширины объекта, а также его тинкториальные свойства, которых недостаточно для объективной оценки.

Вышеуказанное обуславливает необходимость совершенствования методов дифференциации выделяющихся с фецес цист (ооцист) простейших и спор грибов.