**Наталия Тарасовская, Ляззат Булекбаева**

**(Павлодар, Казахстан)**

**ХРАНЕНИЕ КОПРОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ И СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ИНВАЗИОННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПАРАЗИТОВ**

Коллекционирование нативных природных объектов – лучший способ сбора и хранения информации о них (ибо очевидно, что любое – вербальное или наглядное – отражение объекта не может быть больше и полнее самого объекта). Основная трудность коллекционирования биологических объектов – это достижение их адекватной сохранности, чтобы они не утрачивали своей научной или учебно-методической ценности.

Это в полной мере относится и к коллекционированию паразитов. Коллекции имагинальных и личиночных стадий паразитов существуют давно, наиболее крупным из них уже много десятилетий, а то и не одно столетие. Известны многочисленные методики хранения гельминтов и одноклеточных, запатентованы многие консервирующие среды, способы изготовления постоянных и временных препаратов. Однако пока никто еще не ставил вопрос о создании коллекции инвазионных элементов (пропагативных стадий) паразитов. Между тем такая коллекция необходима – особенно в профильных колледжах и вузах (при подготовке биологов, зоотехников, ветеринарных врачей). Ее научное значение очевидно: инвазионные элементы, собранные из разных биотопов и популяций хозяев, подлежат морфологическому исследованию на количественном и качественном уровне – для выявления многих интересных закономерностей.

Особо хотелось бы сказать об учебно-методическом значении коллекций инвазионных элементов паразитов. На кафедре ветеринарной паразитологии Семипалатинского государственного университета имени Шакарима профессор Б.К.Ибраев на практических занятиях и экзаменах предъявлял студентам смесь инвазионных элементов паразитов (в том числе яиц нескольких видов гельминтов) сельскохозяйственных животных – для их дифференциальной диагностики. Такое оригинальное задание, безусловно, имеет огромную учебно-методическую ценность в подготовке будущих специалистов-практиков. Однако основная трудность подготовки материала состояла в том, что непосредственно перед проведением занятия приходилось растирать матку самок каждого вида нематод, выделять и смешивать яйца; это требовало значительных затрат труда и времени. К тому же затруднительным представляется добавить в такую смесь пропагативные стадии одноклеточных паразитов (например, ооцисты различных кокцидий), а это могло бы усложнить экзаменационное задание, а на лабораторном занятии показать разницу в размерах и морфологии яиц гельминтов и ооцист эймерий. Кроме того, студентам профильных вузов (особенно специальностей прикладного направления) необходимо показывать и те объекты, которые могут быть похожими на инвазионные элементы паразитов (цветочная и сосновая пыльца, споры грибов, полупереваренные растительные ткани, проводящие пучки растений). Отличать такие объекты от инвазионных элементов паразитов необходимо – во избежание ложной диагностики паразитарных заболеваний.

Для решения этих учебно-методических задач мы предлагаем создание и длительное хранение коллекции инвазионных элементов паразитов на основе нативного материала от естественно инвазированных животных – домашних или диких. А для этого наиболее оптимальным вариантом было консервирование копрологического материала и других биосубстратов, содержащих инвазионные элементы, в надежной среде, с возможностью их последующего выделения и изучения. Причем наиболее желательным вариантом были бы консервирующие составы, обеспечивающие длительную сохранность яиц гельминтов и цист простейших и возможность извлечения всей совокупности инвазионных элементов из сохраняемого биосубстрата.

Для хранения копрологического материала в полевых условиях предлагались доступные хозяйственно-бытовые вещества. В частности, для хранения фекалий человека при доставке их в амбулаторию из отдаленных районов предлагалось использовать 1% раствор детергента (любого стирального порошка, выпускаемого промышленностью) [1]. Эта же среда многократно практиковалась в отношении ряда видов гельминтов сельскохозяйственных животных [2].

Однако эта практичная рекомендация, которой гельминтологи пользовались не одно десятилетие, не обеспечивает сохранность материала в течение длительного времени, поскольку щелочная среда вызывает автолиз яиц и постепенное снижение их количества в консервирующем растворе. Обычно рекомендуют хранить фекалии в растворах детергентов не более двух недель. Сведений о дезинфекции и дезинвазии консервируемого материала, сохранности протистофауны в известных источниках нет. К тому же данная среда пригодна только для хранения фекалий, но не используется для консервации других биологических материалов и субстратов, могущих содержать инвазионные элементы паразитов (матрикса полых органов, образцов тканей, биоптатов и т.д.).

Затем А.М.Абдыбековой и Н.Е.Тарасовской была предложена среда для хранения фекалий для гельминтологических исследований с использованием 20-30%-ного раствора силиката натрия (разведенного водой конторского силикатного клея) (предварительный патент РК № 18489 от 15.06.2007 г., кл. A 01 N 1/00) [3]. Она надежно сохраняет яйца и другие инвазионные элементы паразитов, предотвращает развитие яиц гельминтов, не приводит к автолизу и микробной порче, несмотря на щелочную среду.

Единственным недостатком данного консервирующего средства является то, что обогащение хранившихся в нем фекалий для флотации яиц гельминтов невозможно проводить растворами других солей, особенно натриевых, вызывающих выпадение осадка кремниевой кислоты вследствие совместного гидролиза. Хотя высокая плотность среды уже обеспечивает всплывание яиц большинства гельминтов на поверхность. Нежелательно также смешивание этой консервирующей среды и хранящегося в ней материала с жидкостями, содержащими этиловый и другие одноатомные спирты, которые также приводят к выпадению стойкого студенистого осадка. Но эта среда является наиболее надежной на предмет длительной сохранности инвазионных элементов паразитов: яйца и личинки гельминтов, ооцисты кокцидий не подвергались каким-либо изменениям в течение 3-5 лет (срок наблюдения).

Для расширения арсенала консервирующих средств для хранения копрологического материала с увеличением длительности и надежности хранения нами предлагалось использование в качестве консервирующей среды антифриза, представляющего собой 60%-ный водный раствор этиленгликоля с другими технологическими добавками (заявка на изобретение № 2014/0809.1 от 13.06.2014 г.). Антифриз как консервирующая среда тормозит развитие всех инвазионных элементов паразитов и размножение микроорганизмов, обеспечивает дезинфекцию и дезинвазию материала, не приводит к деформации инвазионных элементов и фрагментов паразитов, обладает просветляющими свойствами, обеспечивая возможность непосредственного исследования консервированных материалов в нативных мазках. К тому же, в отличие от глицерина, этиленгликоль и его водная композиция в антифризе не приводят к осмотической деформации просветляемых объектов. В дальнейшем фиксированный копрологический материал может быть исследован на наличие яиц гельминтов и других инвазионных элементов паразитов с обогащением в солевых растворов с высокой плотностью, при возможности длительного хранения в них.

Испытания предлагаемой среды для хранения паразитологического материала показали следующие результаты.

Пример 1. Фекалии собаки (той-терьера) были зафиксированы в антифризе 26 ноября 2013 г. в объемном соотношении 1:1 через два дня после сбора. Некоторые яйца токсокары уже начали свое развитие (находились на стадии нескольких бластомеров). Помимо гельминтов, собака была заражена цистоизоспорозом, в микрофлоре кишечника преобладали дрожжеподобные грибы.

Контрольный просмотр нативных мазков из фиксированного субстрата произведен через 1, 2, 3 недели, 1 месяц, 2 месяца,. Изменений в состоянии яиц нет, ооцисты кокцидий, дрожжевые грибки и непереваренные остатки пищи сохранились без изменений. Оболочки яиц хорошо просветлились этиленгликолем. Запаха от копрологического материала не отмечено. В течение 5 месяцев (срок наблюдений) изменений в фиксированном материале и инвазионных элементах паразитов не произошло.

Пример 2. Фекалии собаки (породы хаски) зафиксированы 9.01.14 г. в антифризе в объемном соотношении 1:1 в день сбора. В развитие тронулись только единичные яйца (образовались 2-4 бластомера). В микрофлоре преобладали дрожжеподобные грибы. Из непереваренных остатков пищи отмечались овощная клетчатка и крахмальные зерна. Контрольный просмотр нативных мазков, проведенные через 1, 2, 3, 4 недели после консервации биологического материала, показал полную сохранность яиц гельминтов, микрофлоры, непереваренных пищевых остатков. В течение 2,5 месяцев (срок наблюдения) изменений инвазионных элементов гельминтов, запаха и признаков микробной порчи не отмечено.

Пример 3. Фекалии овец, зараженных стронгилятами, зафиксированы в антифризе через 4-5 дней после сбора в животноводческом хозяйстве (до этого хранились в холодильнике). Объемное соотношение консерванта и материала 1:1. Через 2, 3, 4 недели зафиксирована полная сохранность яиц стронгилят; признаков лизиса инвазионных элементов гельминтов и уменьшения их количества не отмечено. Фекалии приобрели мягкую консистенцию, удобную для приготовления нативного мазка. Часть фекалий была исследована методом обогащения; в солевом растворе достигнуто полное всплывание яиц стронгилят на поверхность.

Пример 4. Фекалии кроликов были зафиксированы в антифризе в объемном соотношении 1:1 через неделю после доставки в лабораторию из личного хозяйства. К моменту помещения материала в консервирующую жидкость на поверхности фекалий отмечены белые пушистые колонии псевдомицелия грибов рода Candida. В таком виде фекалии были зафиксированы в антифризе при соотношении материала и консерванта 1:1 по объему. Через 2, 3, 4 недели при просмотре обнаружены ооцисты эймерий, количество которых по мере хранения субстрата не уменьшилось. Хорошо сохранились дрожжеподобные грибы, имевшиеся в подпорченном материале. Дальнейшего размножения грибов и бактерий и признаков микробной порчи материала не отмечено.

В качестве среды для хранения биологических материалов и субстратов для паразитологических исследований нами предлагалось также использовать тосол, в составе которого присутствует этиленгликоль, алифатические спирты и другие технологические добавки, которые также обладают консервирующими свойствами (заявка на изобретение № 2014/0808.1 от 13.06.2014 г.). Тосол в любой концентрации и любом соотношении с консервируемым материалом не приводит к деформации инвазионных элементов и фрагментов паразитов, обеспечивая правильную дифференциальную диагностику гельминтозов и протозоозов, возможность изучения морфологии яиц и ларвальных стадий и последующего длительного хранения инвазионных элементов паразитов для научных и учебно-методических целей. Он обладает просветляющими свойствами благодаря содержанию значительной концентрации этиленгликоля, что дает возможность исследования консервированных материалов в нативных мазках и на компрессорных стеклах без использования дополнительных просветляющих средств, без осмотической деформации и искажения объектов. Сохраняемый в тосоле копрологический материал может быть исследован на наличие инвазионных элементов паразитов методом обогащения с использованием любых солевых растворов и последующим длительным хранением инвазионных элементов во флотационном растворе.

Испытания предлагаемой среды для хранения паразитологического материала показали следующие результаты.

Пример 1. Фекалии крупной беспородной собаки, инвазированной токсокарозом, зафиксированы 18.12.13 г. в антифризе в объемном соотношении консерванта и материала 1:1 через день после сбора. Во многих яйцах уже началось деление эмбриональной клетки на бластомеры. Из остатков пищи отмечены крахмальные зерна. В микрофлоре преобладали дрожжеподобные грибы. Контрольный просмотр нативных мазков был сделан через 1, 2, 3 недели, 1 месяц, 1,5 месяца. Количество яиц в субстрате не уменьшилось, изменения в их состоянии не произошло. Непереваренные кормовые остатки, в том числе целые зерна картофельного крахмала, хорошо сохранились. Хорошо сохранились также клетки дрожжевых грибов. Запаха от фекалий и признаков микробной порчи материала не было. Фекалии, непереваренные остатки и яйца гельминтов хорошо сохранился в течение всего срока наблюдений (3 месяца).

Пример 2. Рвотные массы кота с фрагментами цестоды Hydatigera taeniaeformis зафиксированы в продажном антифризе в соотношении 1:1. Через 1, 2, 4 недели состояние пищевых остатков (это были в основном полупереваренные мясопродукты) не изменилось, членики гидатигеры сохранились хорошо, приобрели полную прозрачность, слегка окрасившись в голубой цвет. Запахов и микробной порчи не отмечено.

**Литература:**

1. Генис Д.Е. Медицинская паразитология. - М.: Медицина,1975. – 280 с. – С. 47-48.

2. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: Справочник. – М.: Колос, 1983. – 208 с., ил.; с. 30.

3. Предпатент 17819 РК. Состав для дезодорации и хранения внутренних органов и фекалий плотоядных /Абдыбекова А.М., Тарасовская Н.Е.; опубл. 16,10.2006 г., Бюл. № 10. – 3 с.