

## 4.2. Методы контроля, биологические и микробиологические факторы

### Методические указания

МУК 4.2.2661-10

### "Методы санитарно-паразитологических исследований"

(утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 23 июля 2010 г.)

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации	Г.Г. Онищенко
---	---------------

23 июля 2010 года

### СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение и область применения.	1
2. Нормативные ссылки.	1
3. Оборудование, расходные материалы, лабораторная посуда, реактивы..	2
3.1. Оборудование.	2
3.2. Расходные материалы..	2
3.3. Лабораторная посуда.	3
3.4. Химические реактивы..	4
3.5. Насыщенные растворы..	5
4. Методы исследования почвы..	6
4.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию..	6
4.2. Исследование почвы на яйца гельминтов. Метод Романенко (1996)	7
4.3. Исследование почвы на яйца гельминтов. Метод Васильковой и Гефтер (1955)	8
4.4. Исследование почвы на личинки гельминтов. Метод Бермана (1942)	9
4.5. Исследование почвы на личинки гельминтов. Метод Супряга.	9
4.6. Дифференциальная диагностика личинок свободноживущих и паразитических нематод. Метод Корта.	9
4.7. Исследование почвы на цисты кишечных простейших. Метод Падченко (1992)	10
5. Исследование воды..	10
5.1. Исследование воды питьевого и хозяйственно-бытового назначения, в том числе воды плавательных бассейнов и аквапарков.	10
6. Исследование бытовых и ливневых стоков.	10
6.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию..	10
6.2. Исследование сточной воды на яйца гельминтов. Метод Романенко (1996)	11

- 6.3. Исследование сточной воды на цисты кишечных простейших. Метод Падченко (1992) 11
7. Исследование донных отложений и осадка сточных вод. 12
- 7.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 12
- 7.2. Исследование осадков сточных вод и донных отложений на яйца гельминтов. Метод Романенко (1996) 12
- 7.3. Исследование осадков сточных вод и донных отложений на цисты кишечных простейших. Метод Падченко (1992) 12
8. Исследование навоза и навозных стоков. 13
- 8.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 13
- 8.2. Исследование навоза и навозных стоков на яйца гельминтов. Метод Романенко и Черепанова. 13
9. Исследование снега. 13
- 9.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 13
- 9.2. Исследование снега. Метод Чернышовой (1996) 13
10. Исследование смывов с поверхностей. 14
- 10.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 14
- 10.2. Исследование смывов на яйца гельминтов. Метод центрифугирования. 14
- 10.3. Исследование смывов на яйца гельминтов. 14
- 10.4. Исследование смывов на цисты простейших. Метод Романенко. 15
11. Исследование смывов с поверхностей инструментальным методом. Метод Гузеевой (2008) 15
- 11.1. Инструментальное исследование паразитарной обсемененности помещений, мебели, полов, перил, постельных принадлежностей и спецодежды.. 15
- 11.2. Исследование паразитарной обсемененности пластмассовых и резиновых игрушек инструментальным методом.. 16
- 11.3. Исследование групповой паразитарной обсемененности рук персонала и детей. 16
12. Исследование твердых бытовых отходов. 17
- 12.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 17
- 12.2. Исследование твердых бытовых отходов на яйца гельминтов. 17
13. Исследование пыли и воздуха. 18
- 13.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию.. 18
- 13.2. Исследование пыли и воздуха на яйца гельминтов. Метод Каледина и Романенко (1982) 18
14. Методы исследования компонентов экосистемы при санитарнопаразитологической оценке природных очагов. 19

14.1. Исследование травы и водных растений на наличие адолескариев. 19	19
14.2. Обнаружение и сбор адолескариев. Метод Горохова. 19	19
14.3. Исследование травы и сена на наличие личинок стронгилят. Метод Котельникова (1991) 20	20
14.4. Исследование травы и сена на наличие личинок стронгилят. Метод Акулина. 20	20
14.5. Исследование моллюсков на зараженность шистосоматидами. 20	20
14.6. Разработка экспертного заключения об опасности природного объекта (водоема, пастбища) в отношении риска заражения людей паразитами. 22	22
15. Методы определения жизнеспособности яиц и личинок гельминтов. 23	23
15.1. Определение жизнеспособности яиц или личинок гельминтов по внешнему виду. 23	23
15.2. Определение жизнеспособности личинок анкилостомид и стронгилид. Метод Фюллеборна. 25	25
15.3. Определение жизнеспособности личинок анкилостомид и стронгилид. Метод Харада и Мори. 25	25
15.4. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов методом окрашивания. 26	26
15.5. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов люминесцентным методом.. 27	27
15.6. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов методом биологической пробы.. 28	28
15.7. Определение жизнеспособности яиц описторхов. Метод Германа и Беэра (1984) 28	28
16. Методы экспериментального изучения сроков развития и выживаемости возбудителей паразитозов в окружающей среде. 29	29
16.1. Выживаемость яиц гельминтов в различных условиях окружающей среды.. 29	29
16.2. Выживаемость цист кишечных простейших в различных условиях окружающей среды.. 32	32
17. Методы испытания и отбора препаратов для дезинвазии. 33	33
17.1. Изучение овицидной активности различных средств. 33	33
17.2. Определение овицидной и ларвицидной эффективности различных средств. 35	35
17.3. Изучение протистоцидной активности различных соединений. 35	35
Список литературы.. 36	36

## 1. Назначение и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают методы лабораторного контроля за объектами окружающей среды (почва, вода, бытовые и ливневые стоки, их осадки, навоз и навозные стоки, предметы обихода и другие), а также для проведения сертификационных испытаний приборов, установок отечественного и импортного производства (например, биотуалеты, водоочистные

устройства индивидуального и коллективного пользования и другие) по паразитологическим показателям и определения эффективности средств и методов дезинвазии.

Методические указания предназначены для органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих санитарно-паразитологический контроль факторов внешней среды, а также могут быть использованы лабораториями организаций, осуществляющих производственный контроль, и научных учреждений, занимающихся изучением особенностей эпидемиологии паразитарных болезней и научно обосновывающих мероприятия по охране окружающей среды от загрязнения и защите здоровья населения.

## 2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон от 30 марта 1999 г. № [52-ФЗ](#) "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".

2.2. Постановление Правительства Российской Федерации от 24 июля 2000 г. № [554](#) "Об утверждении Положения о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании".

2.3. Постановление Правительства Российской Федерации от 30 июня 2004 г. № 322 "Об утверждении Положения о Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека".

2.4. [СП 1.3.2322-08](#) "Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней" и дополнение СП 1.3.2518-09.

2.5. [СанПиН 3.2.1333-03](#) "Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации".

2.6. [СанПиН 2.1.7.573-96](#) "Гигиенические требования к использованию сточных вод и их осадков для орошения и удобрения".

2.7. [СанПиН 2.1.7.1287-03](#) "Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы".

2.8. [МУ 3.2.1756-03](#) "Эпидемиологический надзор за паразитарными болезнями".

2.9. [МУ 2.1.7.730-99](#) "Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест".

2.10. [ГОСТ 17.4.3.01-83](#) "Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб".

2.11. [ГОСТ 17.4.4.02-84](#) "Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического и гельминтологического анализов".

2.12. [ГОСТ Р 17.4.3.07-2001](#) "Охрана природы. Почвы. Требования к свойствам осадков сточных вод при использовании их в качестве удобрений".

## 3. Оборудование, расходные материалы, лабораторная посуда, реактивы

### 3.1. Оборудование

Шкаф вытяжной универсальный, обеспечивающий биологическую и химическую защиту	
Холодильник электрический бытовой	
Термостат электрический (ТС-80 или аналогичный)	
Центрифуги для исследования почвы, иловых осадков, сточных вод, смывов напольные и (или) настольные	
Световые микроскопы современного поколения со сменными объективами (в том числе для иммерсионного микроскопирования - $\times 90$ , $\times 100$ ) и окулярами	
Стереоскопический микроскоп (типа МБС)	
Люминесцентный микроскоп "ЛЮМАМ" или его аналог	
Осветитель к микроскопу ОИ-19 или другой аналогичный	
Столик нагревательный к микроскопу	
Весы лабораторные общего назначения 4-го класса точности, максимальный предел взвешивания 200 г	
Весы лабораторные общего назначения 4-го класса точности, максимальный предел взвешивания 1 кг	
Аппарат для встряхивания	
Денсиметры (ареометры типа I (А1) с пределами измерения от 1,000 до 1,600 кг/куб. м	<a href="#">ГОСТ 1300-74</a>
Приборы вакуумного фильтрования ПВФ-142/Э или ПВФ-142/ЭМ, отборник флотанта фильтрующий "ОФФ-25" или эквиваленты	
Пробоотборник-концентратор "ПробоКонГ-СЭС" или эквивалент	
Пылесос, электрощетка	
Моющий пылесос	
Аппарат Бермана	
Термовлагодбарометр БМ-2	
Часы песочные на 3 и 5 мин. или часы сигнальные	
Дозаторы пипеточные П 1-0,1; П 1-0,5; П-1,0 мл или аналогичные со сменными	ТУ 64-

наконечниками	339-81
---------------	--------

## 3.2. Расходные материалы

Пинцеты анатомические	
Кисти жесткие (из щетины) и мягкие (из волоса белки, колонка или соболя) для живописи № 12 - 18	
Штативы лабораторные для пробирок	ТУ 61-1-707-80
Иглы препаровальные	
Совки, шпатели, ложки, лопаты, бур Некрасова	
Пластиковые мешки и пакеты	
Мембранные фильтры с размером пор 1 - 4 мкм и диаметром мембранного диска, соответствующим размерам фильтродержателя фильтровального устройства	
<b>Трековые мембраны с размером пор от 0,5 до 5 мкм</b>	
Ситечки с металлической или капроновой сеткой (размер ячеек 0,25 - 0,3 мм)	
Резиновые груши разных размеров	
Скальпели анатомические	
Ножницы анатомические разных размеров	
Счетная камера (для количественного учета яиц гельминтов)	
Маркер (карандаш) по стеклу	
Лейкопластырь	
Скотч	
Клеенка и фартук клеенчатый	
Перчатки резиновые	
Весы для уравнивания центрифужных пробирок	
Кюветы эмалированные разных размеров и почкообразные	

Корнцанги	
Пинцеты глазные	
Штатив Бунзена	
Треножник	
Горелки газовые	
Трубки резиновые	
Сложная петля	
Поплин, перкаль, сатин	
Ножи почвенные	
Сита почвенные с сеткой 0,25; 0,5; 1; 3 мм	
Шпатели металлические	
Шпатели пластмассовые	
Калька и пергамент	
Коробки картонные	
Другие расходные материалы, в том числе перевязочные (вата, марля, разовые полотенца, салфетки и пр.)	

### 3.3. Лабораторная посуда

3.3.1. Стаканы стеклянные высокие с носиком (ВН) номинальной вместимостью 50 - 100 мл	<a href="#">ГОСТ 10394-63</a>
Пробирки центрифужные градуированные (ПЦГ) емкостью 10, 50, 100 и 250 мл	<a href="#">ГОСТ 1770-64</a>
Стекля предметные размером 25×75 мм; 60×120 мм	1
Стекля покровные размером 18×18; 24×24 мм	<a href="#">ГОСТ 6672-99</a>
Чашки биологические (Петри)	<a href="#">ГОСТ 25336-82</a>

Емкости для отбора проб воды, осадков, навоза и навозных стоков из нейтрального материала, пригодные для обеззараживания принятыми методами:	
канистры пластмассовые емкостью 1; 2; 5; 20 и 25 л;	
стеклянные бутылки; фляги металлические емкостью 30 - 35 л; эмалированные бидоны;	
ведра 8 - 10 л; тазы, пластмассовые фляги емкостью 20 - 40 л или пластмассовые баки емкостью 50 л с диаметром более 40 см	
Цилиндры измерительные с носиком 1-00, 1-25, 1-500	<a href="#">ГОСТ 1770-74</a>
Колбы 2-50-2, 2-100-2, 1-1000	<a href="#">ГОСТ 1770-74</a>
Капельница для многократной дозировки по Манну	<a href="#">ГОСТ 9876-61</a>
Широкогорлые стеклянные или пластиковые флаконы емкостью 100; 500; 1000; 2000 мл с притертыми или завинчивающимися крышками	
Спиртовки лабораторные стеклянные	
Цилиндры градуированные с носиком на 1,5 - 2,0 л	
Стеклянные воронки разных размеров	
Часовые стекла разных размеров	
Стеклянные палочки	
Пипетки градуированные от 1 до 10 мл	
Банки стеклянные с притертыми или резиновыми пробками разных размеров до 500 мл	
Банки стеклянные широкогорлые до 2 л	
Банки фарфоровые без крышек 500 мл	
Бутыли (1 - 5 л) с тубусом для дезинфицирующих растворов	
Пробирки химические	
Кружки фарфоровые с ручками разных размеров	

Ступки и пестики фарфоровые разных размеров	
Мензурки на 100; 250; 500; 1000 мл	
Кристаллизаторы стеклянные	

### 3.4. Химические реактивы

Натрий едкий	
Нитрат натрия, ч.д.а.	
Нитрат калия (калиевая селитра)	
Нитрат аммония или гранулированная селитра (аммиачная)	
Хлорид цинка	
Нитрат свинца	
Формальдегид 40 %-ный	
Кислота соляная с массовой долей 3 %	
Масло касторовое	
Сульфат железа	
Сульфат меди	
Спирт этиловый ректифицированный технический	
Сульфат цинка семиводный, х.ч.	
Сахароза, ч.д.а.	
Сульфат магния, ч.д.а.	
Тиосульфат натрия	
Вода дистиллированная	
Натрий хлористый, х.ч.	
Изотонический раствор натрия хлористого с массовой долей 0,85 % (физиологический раствор, жидкость Барбагалло)	

Йод кристаллический, х.ч.	
Калий йодистый, х.ч.	
Эозин сухой, х.ч.	
Метиленовый синий сухой, х.ч.	
Кислота молочная, х.ч.	
Панкреатин	
Пепсин (возможен искусственный)	
Трипсин	
Натрий двууглекислый, ч.д.а.	
Сульфат алюминия	
Хлорное железо	
Хлористоводородная кислота	
Глицерин	
Раствор Люголя	
Ацетон	
Бензол	
Ксилол	
Бриллианткрезилблау синий (1:10000)	
Известь хлорная	
Серная кислота	
Калий двуххромовокислый	
Иммерсионное масло	
Хромпик	
Метиленовый синий	

Молочная кислота	
Раствор йода спиртовой 5 %-ный	
Толуидиновый синий (1:1000)	
Сафранин (1:10000 спирта 10 °С)	
Индигокармин	
Раствор пирогалловой кислоты 50 %-ный	
Нейтральрот (1:1000)	
Акридиновый оранжевый	
Корифосфин	
Примулин	
Аурамин	
Сульфат берлерина	
Трипафлавин	
Риванол	
Акрихин	
Мертиолят	

### 3.5. Насыщенные растворы

3.5.1. Для методов флотации используют насыщенные растворы с заданной плотностью, которые следует готовить непосредственно перед применением (табл. 1). Количество солей на 1 л воды для различных насыщенных растворов приводится в табл. 3. В случае хранения готовых насыщенных растворов перед проведением исследований необходимо проверять их плотность ареометром (денсиметром). Насыщенные растворы с плотностью ниже требуемой не использовать.

**Таблица 1**

#### **Насыщенные растворы, используемые для методов флотации**

Насыщенный раствор	Плотность	Состав раствора	
		количество солей	количество воды

Раствор нитрата натрия	1,38 - 1,40	нитрат натрия 1000 г	1 л
Раствор нитрата аммония или гранулированной аммиачной селитры	1,3	нитрат аммония 1500 г	1 л
Раствор Брудастова	в свежем растворе: 1,47 - 1,48;	натриевая селитра - 900 г,	1 л
	через 24 часа снижается до 1,40	калиевая селитра - 400 г	
Раствор тиосульфата натрия (гипосульфита натрия)	1,4	1750 г $Na_2S_2O_3 \times 5H_2O$	1 л

3.5.2. Для приготовления насыщенных растворов насыпают соль в эмалированное ведро с горячей водой порциями при постоянном помешивании до полного растворения. Раствор доводят до кипения, пока не появится на его поверхности кристаллическая пленка. Приготовленный раствор после остывания переливают в другие крупные емкости (бутыли). О насыщенности раствора судят по наличию на дне сосудов кристаллов соли и (или) измеряют ареометром его плотность. Образующийся на дне сосуда осадок используют при следующем приготовлении насыщенного раствора.

## 4. Методы исследования почвы

### 4.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Периодичность (частота) санитарно-паразитологического исследования почвы зависит от цели лабораторного контроля.

Количество и размер пробных площадок на обследуемой территории закладывается с учетом эпидемиологической значимости объекта и его общей площади.

Отбор проб почвы для паразитологических анализов с целью оценки качественного состояния почв естественного и нарушенного сложения проводят не менее 1 раза в год.

Отбор проб почвы на территории детских, лечебно-профилактических учреждений и зон отдыха проводят не менее 2 раз в год - весной и осенью.

При изучении динамики самоочищения почвы от яиц гельминтов, цист кишечных простейших отбор проб проводят в течение первого месяца наблюдений еженедельно, а затем ежемесячно в течение вегетационного периода до завершения активной фазы самоочищения.

Так, на территории расположения детских и лечебно-профилактических учреждений, игровых площадок, выгребов, мусорных ящиков и других объектов, занимающих небольшие площади, размер пробной площадки должен быть не более 5×5 м. При оценке качества почв сельскохозяйственных угодий учитываются характер источника загрязнения, возделываемой культуры и рельефа местности: на каждые 0,5 - 20,0 га территории закладывают не менее 1 пробной площадки размером 10×10 м.

С каждой пробной площадки отбирается 1 объединенная проба весом 200 г, состоящая из 10 точечных проб массой 20 г каждая. Точечные пробы отбирают на пробной площадке методом конверта, по диагонали или любым другим способом с таким расчетом, чтобы каждая проба представляла собой часть почвы, типичной для генетических горизонтов или слоев данного типа. Точечные пробы отбирают ножом, совком или шпателем из прикопок или почвенным буром Некрасова послойно с поверхности и глубины 10 - 20 см. При необходимости отбор проб проводят из более глубоких (40 - 60 см) слоев почвы послойно. Объединенную пробу составляют путем смешивания 10 точечных проб, отобранных на одной пробной площадке.

Пробы помещают в банки с крышками или пакеты из клеенки, пластика, этикетируют с указанием места отбора, даты, глубины, характера исследуемого участка (в тени или на солнце, состав почвы, наличие растительности и т.д.). В этикетке обязательно разборчиво указывается фамилия и должность отборщика пробы и представителя учреждения, на территории которого отбирались пробы. Все объединенные пробы должны быть зарегистрированы в журнале, пронумерованы. В процессе транспортирования и хранения почвенных проб должны быть приняты меры по исключению возможности их загрязнения.

Паразитологический анализ проб почвы проводят в день доставки их в лабораторию. При невозможности немедленного проведения исследований пробы почвы хранят в холодильнике при температуре около 5 °С. Для исследования на цисты кишечных патогенных простейших почву без обработки хранят не более 2 суток; на яйца биогельминтов - до 7 суток, а на яйца геогельминтов - не более 1 месяца. Для предотвращения высыхания и развития личинок в яйцах геогельминтов почву увлажняют и аэрируют один раз в неделю, для чего пробы вынимают из холодильника и оставляют на 3 ч при комнатной температуре, увлажняют водой по мере потери влаги и снова помещают для хранения в холодильник. При необходимости хранения проб почвы более месяца применяют консервирующие средства: почву пересыпают в кристаллизатор, заливают жидкостью Барбагалло или 3 %-ным раствором соляной кислоты, а затем ставят в холодильник.

Перед исследованием объединенную пробу почвы рассыпают на бумаге или кальке, разминают пестиком крупные комки, выбирают из нее корни растений, камни, насекомых, стекло, уголь, кости животных и др. Затем почву переносят в ступку, растирают пестиком и просеивают через сито с ячейками диаметром 1 мм. Этот материал исследуют на яйца гельминтов и на цисты простейших.

4.1.1. При обнаружении возбудителей гельминтозов определяют:

- вид возбудителя;
- жизнеспособность;
- экстенсивный показатель загрязнения (отношение числа положительных проб к числу исследованных проб);
- интенсивный показатель загрязнения (общее количество возбудителей в 1 кг или 100 г почвы);
- категория загрязнения почв (чистая, умеренно опасная, опасная, чрезвычайно опасная) в соответствии с [СанПиН 2.1.7.1287-03](#).

## 4.2. Исследование почвы на яйца гельминтов. Метод Романенко (1996)

Ход исследования. Из объединенной пробы берут на исследование 4 порции по 25 г почвы, помещают их в центрифужные пробирки объемом 250 мл (в случае отсутствия таковых можно пользоваться

пробирками объемом 80 - 100 мл, но помещать в них следует не более 15 г почвы) и заливают 3 %-ным раствором натриевой или калиевой щелочи (в соотношении 1:1). После этого содержимое пробирок тщательно размешивают, отстаивают в течение 20 - 30 мин. и центрифугируют 5 мин. при 800 об./мин. Надосадочную жидкость сливают, а почву промывают водой (1 - 5 раз, в зависимости от типа почвы: для песчаных и супесчаных - достаточно одной промывки, для глинистых, суглинистых, черноземных - от 2 до 5) до получения прозрачной надосадочной жидкости. После добавления очередной порции промывочной воды осадок на дне центрифужной пробирки тщательно перемешивают при каждом промывании. После промывки к почве добавляют насыщенный (плотность 1,38 - 1,40) раствор нитрата натрия. Объем насыщенного раствора зависит от величины стакана (пробирки): в 250 мл стаканы добавляют по 150 мл насыщенного раствора, в более мелкие пробирки, например объемом 80 - 100 мл соответственно 45 - 50 мл насыщенного раствора. Почву тщательно размешивают, полученную смесь центрифугируют. Пробирки устанавливают в штатив, доливают тем же насыщенным раствором соли до уровня на 2 - 3 мм ниже краев пробирок и накрывают предметными стеклами. Яйца гельминтов всплывают и концентрируются в поверхностной пленке насыщенного раствора. Очень важно исключить какую-либо потерю поверхностной пленки. Для этого между краем пробирки и предметным стеклом оставляют пространство шириной не более 10 мм, куда с помощью пипетки вносят насыщенный раствор соли до его соприкосновения с нижней стороной стекла, которое осторожно передвигают до полного покрытия центрифужной пробирки. Через 20 - 25 мин. отстаивания стекла снимают, переворачивая нижней поверхностью вверх, а на их место ставят другие (при необходимости и третьи). На предметные стекла с поверхностной пленкой наносят 1 - 2 капли 30 %-ного раствора глицерина, накрывают их покровными стеклами, а затем микроскопируют. Для обнаружения яиц гельминтов препарат просматривают при увеличении в 80, а для определения степени их развития или деформации - в 400 раз.

При необходимости приготовленные препараты можно хранить в холодильнике до 5 - 7 суток, не допуская подсыхания. При подсыхании препаратов по краям покровных стекол добавляют несколько капель 30 %-ного раствора глицерина.

Для оценки результатов число яиц, обнаруженных в 4-х порциях пробы, умножают на 10, получая показатель содержания яиц в 1 кг исследуемой почвы.

Эффективность метода колеблется от 59,6 - 83,1 %, в среднем - 73,0 %.

Для определения истинной обсемененности почвы яйцами аскарид и власоглава необходимо использовать поправочные коэффициенты для различных типов почв (табл. 2), для чего необходимо определить тип почвы, а затем умножить число обнаруженных яиц гельминтов одного вида на коэффициент для этого типа почвы и для данного вида гельминта. Тип почвы должен быть определен при отборе проб и указан в сопроводительных документах.

**Таблица 2**

**Поправочные коэффициенты для определения истинной обсемененности почв яйцами аскарид и власоглавок**

Тип почвы	Яйца геогельминтов	
	аскарид	власоглавок
Дерново-подзолистая (супесь)	1,23	1,43
Дерново-подзолистая (суглинок)	1,45	1,50

Торфяно-глыевые	1,84	2,40
Чернозем обыкновенный	1,60	1,85
Чернозем типичный	1,70	2,30
Чернозем выщелоченный	1,43	2,10
Чернозем каштановый (супесь)	1,28	1,95
Чернозем каштановый (суглинок)	1,64	2,15
Аллювиально-лугово-лесная	1,37	1,65
Сероземы	1,39	1,60
Черноземная лесная коричневая	1,49	1,71
Горная лесная бурая	1,54	1,72
Желтоземы	1,79	1,94

Для обнаружения в почве яиц гельминтов, имеющих более высокую плотность (яйца описторхов, клонорхов), чем яйца аскарид и власоглавов, следует использовать насыщенный раствор хлорида цинка (плотность 1,78); яйца токсокар лучше выявляются при обработке почвы насыщенным раствором сульфата цинка или сульфата магния в смеси с 5 %-ным раствором йодата калия.

**Примечание.**

При работе по данной методике необходимо строго соблюдать следующие требования:

1. Обязательность применения обезжиренных предметных стекол.
2. Обязательность контроля плотности насыщенного раствора с помощью ареометра (плотность должна быть не ниже 1,38 - 1,40).

В случае нарушения указанных требований, поверхностная пленка с яйцами гельминтов не прилипнет к стеклу, а скорость всплывания яиц гельминтов замедлится, и в указанные сроки они не достигнут поверхностной пленки.

Для эффективного использования рабочего времени исследователя рекомендуется: во время первого отстаивания смеси "почва с щелочью" проводить подготовку предметных и покровных стекол, запись в журнале; во время второго - "почвы с насыщенным раствором соли" - подготовку рабочего места для микроскопирования, уборку центрифуги и другого лабораторного оборудования.

После окончания проведения анализов использованную посуду (центрифужные пробирки, предметные и покровные стекла, стеклянные палочки) замачивают в стиральном порошке и кипятят 15 - 20 мин., затем моют в чистой воде.

Стекла протирают хлопчатобумажной тканью и помещают для обеззараживания в смесь Никифорова (из расчета 1 мл смеси на 1 стекло), где они могут храниться длительное время.

Извлеченные из смеси Никифорова стекла протирают хлопчатобумажной тканью, заворачивают в бумагу небольшими партиями и стерилизуют.

### 4.3. Исследование почвы на яйца гельминтов.

#### Метод Васильковой и Гефтер (1955)

Ход исследования. Из объединенной пробы берут навеску 50 г почвы, помещают в центрифужную пробирку емкостью 250 мл. Одновременно ведется обработка почвы из 4-х проб. Отобранные навески заливают 3 %-ным раствором щелочи (NaOH, KOH) или 1 %-ным раствором стирального порошка "Лотос" (или другим СМС) в соотношении 1:2 на 60 мин. для размягчения почвы. Содержимое пробирок тщательно перемешивают стеклянными палочками или электромешалкой в течение 5 мин., а затем центрифугируют 5 мин. при 800 - 1000 об./мин., надосадочную жидкость сливают (при обработке черноземной, торфяной почвы или илового осадка обработку щелочью повторяют и промывают от 1 до 5 раз в зависимости от типа почвы до получения прозрачной надосадочной жидкости). К осадку добавляют насыщенный раствор азотнокислого натрия (удельный вес 1,38 - 1,40) в соотношении 1:2, тщательно перемешивают стеклянной палочкой 5 мин., уравнивают и центрифугируют 5 мин. при 800 - 1000 об./мин.

Эта процедура повторяется 3 раза. После каждого центрифугирования раствор над уплотненным осадком сливают в отдельную емкость для дальнейшего фильтрования.

Раствор фильтруют через мембранные фильтры "Владипор" типа МФАС-СПА диаметром 35 мм фильтровальной установкой ПВФ-35/2. С фильтра делают соскоб осадка покровным стеклом в каплю 50 %-ного раствора глицерина и микроскопируют.

### 4.4. Исследование почвы на личинки гельминтов.

#### Метод Бермана (1942)

Ход исследования. Из объединенной пробы берут 20 г почвы и помещают на металлическую сетку (или ситечко для молока), которую устанавливают в аппарат Бермана. Последний представляет собой стеклянную воронку (диаметром 10 - 15 см), соединенную при помощи резиновой трубки с узкой пробиркой. Систему устанавливают в штатив, наполняют теплой (температура 45 - 50 °С) водой, а затем металлическую сетку с почвой помещают в воронку так, чтобы нижняя часть ее соприкасалась с водой.

Воронку с почвой ставят в термостат при температуре 37 °С. Личинки гельминтов, обладая термотропностью, мигрируют из почвы через сито в теплую воду и оседают на дно пробирки. Через 3 - 4 часа осторожно отсоединяют пробирку от воронки, сливают верхний слой жидкости, а осадок переносят на предметное стекло и микроскопируют. Но лучше содержимое пробирки центрифугировать, а после этого исследовать осадок.

### 4.5. Исследование почвы на личинки гельминтов.

#### Метод Супряга

Ход исследования. В химический стаканчик помещают 10 г почвы, заливают теплым (40 °С) физиологическим раствором так, чтобы он полностью покрывал пробу. Через 20 мин. жидкость сливают в чашку Петри и исследуют под стереоскопическим бинокулярным микроскопом. По эффективности метод Супряга не уступает методу Бермана.

## 4.6. Дифференциальная диагностика личинок свободноживущих и паразитических нематод. Метод Корта

Принцип метода Корта заключается в воздействии на личинок нематод формалином. При этом личинки свободноживущих нематод погибают быстрее, чем паразитические. Личинки помещают в воду в чашку Петри или на часовое стекло. При добавлении 40 %-ного раствора формалина к жидкости с личинками нематод в соотношении 1:5 личинки свободноживущих нематод гибнут через 5 - 8 мин., а паразитические остаются живыми в течение 15 - 20 мин., но подвижность их замедляется; при добавлении формалина в соотношении 1:25 первые гибнут через 12 мин., тогда как вторые в 95 % случаев остаются нормально подвижными.

## 4.7. Исследование почвы на цисты кишечных простейших. Метод Падченко (1992)

Ход исследования. Из объединенной пробы берут 25 г почвы, помещают в фаянсовую ступку, постепенно добавляют к ней водопроводную воду, тщательно растирают пестиком до гомогенной кашицы и выливают ее в цилиндр емкостью 1 л, предварительно наполненный на 3/4 объема чистой водой. Смесь размешивают стеклянной палочкой и отстаивают в течение 15 мин. Образовавшуюся на поверхности смеси пленку удаляют петлей, а жидкую часть ее отсасывают сифоном в чистый цилиндр. Осадок повторно промывают (не менее 3-х раз), собирая промывные воды в одном цилиндре. Промывные воды отстаивают, через 24 ч надосадочную жидкость удаляют сифоном, а осадок исследуют в окрашенном растворе Люголя препаратах. С этой целью осадок тщательно встряхивают и одну каплю полученной взвеси наносят пастеровской пипеткой на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и исследуют под световым микроскопом. Микроскопируют не менее 1 мл осадка с последующим пересчетом на его общий объем. Анализ осадка проводят в течение первых 2 - 3 суток после его получения.

Для того чтобы осадок длительное время оставался пригодным к исследованию (до 2-х месяцев), к нему добавляют консервант, содержащий мертиолят 0,0016 - 0,0018 г, 40 %-ный раствор формалина, 10,4 - 0,9 г 96 %-ного этилового спирта и физиологический раствор до 100 мл. Консервант добавляют к осадку в соотношении 1:2 и хранят в холодильнике.

Для приготовления мазков каплю исследуемой смеси осадка с консервантом после встряхивания наносят пипеткой на предметное стекло, смешивают ее с каплей акридинового оранжевого, разведенного 1:500, накрывают покровным стеклом и исследуют под световым или люминесцентным микроскопом, подсчитывают число неокрашенных (живых) и окрашенных (мертвых и дегенерирующих) цист кишечных простейших каждого вида. При изучении исследуемого материала под световым микроскопом жизнеспособные цисты кишечных простейших остаются неокрашенными, а дегенерирующие и мертвые цисты окрашиваются в желтый цвет. Погибшие цисты под люминесцентным микроскопом полностью прокрашиваются и имеют красный цвет. Жизнеспособные накапливают краску на поверхности цисты и имеют вид светящихся колец красного цвета.

## 5. Исследование воды

## 5.1. Исследование воды питьевого и хозяйственно-бытового назначения, в том числе воды плавательных бассейнов и аквапарков

Исследование воды регламентируется методическими указаниями [МУК 4.2.1884-04](#) "Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов" и [МУК 4.2.2314-08](#) "Методы санитарно-паразитологического анализа воды".

## 6. Исследование бытовых и ливневых стоков

### 6.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Пробы сточных вод отбирают на входе и выходе с очистных сооружений (механическая очистка, аэро- и биостанции, компактные установки, биологические пруды, поля фильтрации), на полях орошения и в местах сброса их в поверхностные водоемы.

Количество сточных вод на одну пробу должно быть не менее: неочищенной (до поступления на очистные сооружения) - 1 л, после сооружений механической очистки - 3 л, в остальных случаях - 10 л.

Отбор проб сточных вод проводят в резиновых перчатках при помощи емкостей 200 - 500 мл.

Отдельные порции сточных вод сливают в широкогорлые пластиковые или стеклянные емкости соответствующего объема.

При определении эффективности работы очистных сооружений по паразитологическим показателям следует строго соблюдать следующее правило: после отбора проб входящей на очистные сооружения сточной воды, последующие пробы отбирают с учетом времени ее нахождения на каждом этапе очистки, т.е. после первичных отстойников - через 2,5 ч, аэротенков - 8,5 ч, вторичных отстойников - 10,5 ч, хлораторной - через 11 ч.

При определении роли дождевого или паводкового стоков в обсеменении поверхностных водоемов яйцами гельминтов и цистами кишечных простейших пробы их отбирают из естественных водотоков во время дождей по окраинам населенных пунктов или в местах перед их попаданием в водоемы. Пробы воды отбирают отдельными порциями (кружками или банками) по 0,5 л из движущегося потока в широкогорлую стеклянную или пластиковую посуду с крышкой. Объем пробы - 1 л.

Можно отбирать пробы поверхностного стока и другим способом. По основным водотокам устраивают так называемые "ловушки" - ямы размером 0,5×0,5×0,1 м. Во время дождя в них происходит накопление воды поверхностного стока, из которой и отбирают пробы. При этом отбирают как воду - во флаконы, так и поверхностный слой почвы (0,1 - 1,0 см) - в пластиковые пакеты (200 г на пробу).

Пробы этикетуют, регистрируют в журнале и доставляют в лабораторию, где их хранят в прохладном месте не более суток. В этикетке обязательно разборчиво указывается фамилия и должность отборщика пробы и представителя учреждения, на территории которого отбирались пробы.

### 6.2. Исследование сточной воды на яйца гельминтов. Метод Романенко (1996)

Ход исследования. В каждую пробу сточных вод добавляют один из следующих коагулянтов: сульфат алюминия, сульфат железа, сульфат меди в дозе 0,5 - 0,6 г/л и тщательно размешивают. Полное осветление стоков наступает через 40 - 50 мин.

После слива надосадочной жидкости осадок помещают (равномерно распределяя) в пробирки объемом 100 - 250 мл и центрифугируют в течение 3 мин. при 1000 об./мин. Воду сливают, а к осадку добавляют 2 - 4 мл 3 %-ного раствора соляной кислоты для растворения хлопьев коагулянта.

Смесь размешивают и центрифугируют, жидкость сливают, а осадок обрабатывают по методике Романенко для исследования почвы.

Для облегчения доставки проб сточных вод и сокращения времени на ее первичную обработку внесение коагулянта можно производить сразу после доставки сточной воды в лабораторию. Коагулянт можно добавлять в сосуд для сбора проб до отбора проб, коагуляция начинается сразу же после заполнения посуды водой. В этом случае в лабораторию доставляют только осадок сточных вод, который и обрабатывают. Эффективность метода составляет 82 - 91 %, в среднем - 86 %.

### 6.3. Исследование сточной воды на цисты кишечных простейших.

#### Метод Падченко (1992)

Ход исследования. Пробы сточной воды отстаивают в течение 12 - 16 ч, затем надосадочную жидкость сливают, осадок переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 5 мин. при 1000 об./мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок переносят на предметное стекло, добавляют консервант (п. 4.7) и исследуют под световым или люминесцентным микроскопом.

Жизнеспособные цисты кишечных простейших остаются в составе этих консервантов неокрашенными. Дегенерирующие цисты окрашиваются красителем в фиолетовый цвет. Эффективность метода в среднем 90 %.

## 7. Исследование донных отложений и осадка сточных вод

### 7.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Пробы донных отложений отбирают в поверхностных водоемах выше, ниже и непосредственно в месте сброса в них сточных вод, их осадков, навозных стоков, а также в местах водозабора и попадания стоков с поверхности территорий населенных пунктов, индивидуальных и фермерских хозяйств.

Для отбора проб применяют различные системы пробоотборников: дночерпатели, драги и трубки различных конструкций. Отбор проб донных отложений ручным или механизированным способом проводят с берега или с различных плавсредств. Пробы объемом 200 г помещают в широкогорлые стеклянные или пластиковые емкости с крышками, этикетировывают, регистрируют в журнале и доставляют в лабораторию, где их хранят в холодильнике. Требования к этикетированию такие же, как и к пробам почвы и воды (см. выше).

Пробы "сырых" (97 - 98 % влажности) осадков сточных вод из первичных и вторичных отстойников, а также с иловых площадок очистных сооружений берут с помощью черпака или кружки отдельными

порциями по 100 - 200 мл и сливают в широкогорлые стеклянные или пластиковые сосуды объемом 1 л с притертыми или завинчивающимися крышками.

Пробы обезвоженных (до 70 % влажности) осадков сточных вод берут совком или лопатой навесками по 50 г с 4 - 5 мест иловых площадок (2 - 3-летнего выдерживания осадка), компостных буртов, объединяют в одну пробу массой 200 г. Пробы помещают в пластиковые пакеты или баночки с крышками, этикетируют, регистрируют в журнале и доставляют в лабораторию. Хранение доставленных в лабораторию проб донных отложений или осадка сточных вод возможно не более 2 суток.

## **7.2. Исследование осадков сточных вод и донных отложений на яйца гельминтов.**

### **Метод Романенко (1996)**

Ход исследования. Из объединенной пробы осадка сточных вод берут 4 навески по 25 г (можно использовать мерную ложку) и помещают в центрифужные пробирки объемом 250 мл, добавляют 150 мл чистой воды и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Смесь центрифугируют 5 мин. при 1000 об./мин., затем надосадочную жидкость сливают, а к осадку вновь доливают 150 мл чистой воды. Промывку проводят 3 - 5 раз, до получения чистой надосадочной жидкости. Промытый осадок исследуют методом Романенко для исследования почвы на яйца гельминтов.

"Сырой" осадок сточных вод обезвоживают: 100 - 150 мл осадка помещают в центрифужные пробирки объемом 250 мл (в пробирки объемом 100 мл по 30 - 45 мл материала) и центрифугируют в течение 5 мин. при 1000 об./мин. Воду сливают, а к осадку доливают такую же порцию чистой воды и размешивают стеклянной палочкой в течение 1 - 2 мин., снова центрифугируют. Промывку осадка проводят 2 - 3 раза.

Промывку обезвоженных (влажность 70 % и ниже) осадков сточных вод проводят аналогичным способом при тех же технологических режимах, помещая в центрифужные пробирки объемом 250 мл по 25 г осадка и 150 мл чистой воды.

После промывки к полученному осадку в каждую центрифужную пробирку добавляют по 3 - 5 г чистого песка, тщательно размешивают и исследуют на яйца гельминтов по методике Романенко Н.А. "Исследование почвы на яйца гельминтов" (п. 4.2).

## **7.3. Исследование осадков сточных вод и донных отложений на цисты кишечных простейших.**

### **Метод Падченко (1992)**

Ход исследования. Пробу осадка сточных вод 98 % влажности объемом 1 л или 0,2 кг при плотной его консистенции (70 % влажности) тщательно растирают пестиком в большой фарфоровой ступке, постепенно добавляя к нему водопроводную воду до общего объема 1,5 л. Полученную взвесь выливают в цилиндр емкостью 2,0 л и отстаивают. Через 15 мин. надосадочную жидкость переливают в цилиндр емкостью 5,0 л, а осадок повторно отмывают (2 - 3 раза) чистой водой путем встряхивания в цилиндре емкостью 2,0 л. Полученную при отмывании и собранную в большом цилиндре жидкую часть отстаивают 24 ч, надосадочную жидкость удаляют, а осадок исследуют, окрашивая раствором Люголя или акридиновым оранжевым (п. 4.7).

## 8. Исследование навоза и навозных стоков

### 8.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Точечные пробы жидкого навоза и навозных стоков берут из навозосборников, навозоотстойников отдельными порциями по 0,1 - 0,2 л из 5 - 10 точек. Объединенную пробу жидкого навоза или навозных стоков объемом 1 л помещают в широкогорлый стеклянный или пластиковый сосуд с притертой пробкой или завинчивающейся крышкой. Обезвоженную твердую фракцию (влажность до 70 %) навоза массой 200 г помещают в полиэтиленовые пакеты или баночки. Пробы этикетировывают, регистрируют в журнале и доставляют в лабораторию.

При невозможности исследования проб навоза в день доставки в лабораторию, допускается их хранение в холодильнике или в другом месте при температуре от 0 до 20 °С в течение 2 суток. Чтобы не допустить развития в навозе и навозных стоках гнилостных процессов в пробы добавляют 3 - 5 капель толуола.

### 8.2. Исследование навоза и навозных стоков на яйца гельминтов.

#### Метод Романенко и Черепанова

Ход исследования. В фарфоровую ступку помещают 100 г твердой фракции навоза, добавляют 900 мл воды и перемешивают. Полученную смесь навоза, так же как и пробу навозных стоков, фильтруют через двойной слой марли, уложенный на металлический каркас. Фильтрат переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 3 мин. при 1500 об./мин. Надосадочный слой сливают, а к осадку добавляют насыщенный раствор нитрата натрия и снова центрифугируют. После этого в пробирки добавляют тот же флотационный раствор (до образования мениска), покрывают обезжиренными предметными стеклами, а через 20 мин. их снимают и микроскопируют поверхностную пленку.

## 9. Исследование снега

### 9.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Пробы снега отбирают в специальные мешочки-фильтры. Они представляют собой устройство в виде мешочка-кисета круглой формы радиусом 30 - 50 см, сшитых из сатина, репса, перкали, бязи с ячейками диаметром 0,08 - 0,04×0,04 - 0,012 мм. По краю мешочки подогнуты и прошиты для шнура, затягивающего их. Мешочки со снегом выдерживают при комнатной температуре в подвешенном состоянии над тазами. После таяния снега на дне мешочков остается осадок. Дно мешочков смачивают глицерином, мешочки складывают, упаковывают в полиэтиленовые пакеты, доставляют в лабораторию, где до их исследования хранят в холодильнике. Требования к этикетированию проб снега такие же, как и к этикетированию другого материала (воды, почвы и пр.)

### 9.2. Исследование снега.

#### Метод Чернышовой (1996)

Ход исследования. В лаборатории осадок из мешочков смывают небольшим (0,5 л) количеством воды. Смывные воды разливают в пробирки объемом 250 мл и центрифугируют 15 мин. при 1500 об./мин. Надосадочную жидкость сливают, а осадок переносят на предметные стекла и микроскопируют.

## 10. Исследование смывов с поверхностей

### 10.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

При определении обсемененности возбудителями паразитарных болезней предметов обихода смывы берут с посуды, скатертей или клеенок, мебели, ковров, нательного и постельного белья, халатов, спецодежды, ночных горшков, игрушек, дверей, парт, спортивного инвентаря, поручней, а также с рук детей, персонала детских учреждений, работников пищеблока, официантов, поливальщиков на оросительных системах с использованием сточных вод, их осадков, животноводческих стоков, персонала водоочистных и канализационных очистных сооружений.

Смывы берут в столовых, магазинах, детских дошкольных и школьных учреждениях, оздоровительных и спортивных лагерях, детских домах, лечебно-профилактических учреждениях, общежитиях, парикмахерских, плавательных бассейнах, спортивных залах, банях, фермах, теплицах, маслозаводах, мясокомбинатах, мастерских по выделке шкур и пошиву меховых изделий.

При взятии проб нужно соблюдать определенную очередность. Например, в детских учреждениях пробы вначале берут в пищеблоке, а затем в столовой, игровой комнате, спальне, умывальной и, в заключение, в санузле.

Для отбора смывов применяют кисточки из щетины, беличьи кисточки, смоченные в 1 %-ном растворе едкого натра, или в 10 %-ном растворе глицерина, или 1 %-ном растворе стирального порошка. В центрифужные пробирки наливают до половины объема 10 %-ный раствор глицерина. Для каждой группы предметов берут отдельную пробирку и кисточку, которые нумеруются (номер кисточки и пробирки должны совпадать). В одну пробу, то есть в пробирку, можно собирать смывы с нескольких однородных предметов.

Смывы с рук персонала берут у каждого отдельно, чтобы при обнаружении яиц гельминтов или (и) цист кишечных простейших можно было знать, какой именно сотрудник нарушает правила гигиены.

Для снятия яиц гельминтов с рук рекомендуется мыть их раствором питьевой соды или 1 %-ным раствором едкого натра; смывные воды центрифугируют, осадок можно также профильтровать в аппарате Гольдмана и затем исследовать фильтры.

При взятии смывов с поверхностей кисточкой, смоченной в растворе, многократно и с нажимом проводят по поверхности однородных предметов обследуемого объекта (стулья, столы, подоконники, ручки дверей и др.). Причем кисточку в процессе отбора часто и тщательно ополаскивают в пробирке, и вновь делают смывы с поверхности предметов. Площадь исследуемой поверхности для одной пробы смывов составляет не менее 0,25 кв. м (0,5×0,5 м); для одной пробы смывов с однородных предметов обрабатывают не менее 10 тарелок, кукол, ручек дверей и пр.

После отбора проб пробирки с вложенными в них кисточками в штативах доставляются в лабораторию. Эtiquетирование целесообразно проводить не для каждой отдельной пробирки, а списком для штатива.

## 10.2. Исследование смывов на яйца гельминтов. Метод центрифугирования

Ход исследования. Кисточки со смывами ополаскивают в жидкости пробирки. Центрифугируют полученные пробы в этих же пробирках, надосадочную жидкость сливают. Осадок помещают на предметное стекло и микроскопируют. Плотный осадок делят на несколько предметных стекол.

## 10.3. Исследование смывов на яйца гельминтов

Ход исследования. В пробирку со смывом добавляют 5 - 6 мл флотационного раствора, в котором тщательно и многократно промывают кисточку в течение 3 - 5 мин. вертикальными и круговыми движениями, после чего кисточку сразу удаляют из пробирки.

В пробирку доливают флотационный раствор до образования выпуклого мениска, накрывают ее обезжиренным покровным стеклом до полного соприкосновения с поверхностной пленкой раствора. Время экспозиции 12 - 15 мин. При использовании флотационного раствора хлорида натрия - 20 - 25 мин. Затем покровное стекло снимают пинцетом и полученную висячую каплю на покровном стекле аккуратно переносят на предметное стекло в каплю 50 % глицерина. Полученный препарат микроскопируют при 80 - 150-кратном увеличении.

Готовить пробы к исследованию одновременно следует партиями не более 5 - 6 пробирок, так как при большом количестве пробирок увеличивается время экспозиции, и яйца, поднявшиеся в поверхностную пленку, покрываются кристаллами соли, что затрудняет их обнаружение.

## 10.4. Исследование смывов на цисты простейших. Метод Романенко

Ход исследования. Кисточки со смывом ополаскивают в жидкости пробирки, затем сливают эту жидкость в высокий цилиндр емкостью 0,5 - 1,0 л с чистой водой, которую наливают с таким расчетом, чтобы при добавлении смыва не превысить общую емкость цилиндра. Всплывшие на поверхность жидкости кусочки бумаги, ткани и другие крупные частицы удаляют петлей с сеткой, а оставшуюся жидкость отстаивают в течение 12 - 16 ч, надосадочную жидкость удаляют, а осадок микроскопируют, окрашивая раствором Люголя или акридиновым оранжевым (п. 4.7).

## 11. Исследование смывов с поверхностей инструментальным методом. Метод Гузеевой (2008)

Метод предназначен и эффективен для исследования санитарно-паразитологического состояния больших площадей объектов санитарного надзора, перечисленных в п. 10.1 (больших площадей полов, дверей, предметов обихода, большого числа людей, например персонала или детей и т.п.), когда он дает значительное снижение трудоемкости по сравнению с методом тампонов и кисточек. Кроме того, возможность исследования больших площадей повышает надежность обнаружения возбудителей паразитарных заболеваний. Целесообразность применения именно этого метода определяет исполнитель исходя из вышеуказанных конкретных условий.

## 11.1. Инструментальное исследование паразитарной обсемененности помещений, мебели, полов, перил, постельных принадлежностей и спецодежды

Необходимое оборудование и материалы.

Пробоотборник-концентратор гидробиологический типа "ПробоКонГ-СЭС", или аналог, пластмассовая емкость для выполнения фильтрации 20 - 50 л, диаметр дна 35 - 40 см, например пластмассовый (для большей электробезопасности) таз круглый с ручками емкостью 32 литра, [ГОСТ Р 50962-96](#), арт. 202, производства ОАО "Полимербыт", или аналог, моющий пылесос (типа Thomas Bravo 20S Aquafilter, Thomas Twin TT Aquafilter, Philips FC 6844 Triatlon), моющее средство для посуды типа "Ферри", вода питьевая, ткань фильтровальная типа мельничного газа.

Ход отбора пробы.

Тщательно промытый моющий пылесос заправляют питьевой водой, добавляют в нее моющее средство из расчета 5 - 10 капель средства на каждые 10 литров воды и пылесосят исследуемые объекты или по группам, или подряд в режиме влажной уборки, а объекты, не допускающие влажной уборки, - в режиме сухой уборки (отключив распыление воды). Всасываемый воздух или воздушно-водяная смесь с захваченными с объекта частицами поступают в аквафильтр, где задерживаются водой. Моющий раствор из пылесоса процеживают от грубых загрязнений через капроновую ткань (типа мельничного газа) в тщательно вымытую емкость. Пылесос перед отбором следующей пробы тщательно моют. В пластмассовую емкость (20 - 50 л) набирают примерно 10 - 20 литров питьевой воды с добавкой 5 - 10 капель "Ферри" на каждые 10 литров, надевают на головку насоса "ПробоКонГа" защитный предфильтр (обычно входит в комплект "ПробоКонГа" или запрашивается в фирме-производителе прибора), помещают его на дно емкости с питьевой водой, присоединяют подающий шланг к прибору через его собственный (входящий в комплект) входной предфильтр. Направляют выходной и сбросовый шланги прибора в емкость с насосом и запускают фильтрацию питьевой воды по инструкции к "ПробоКонГу" по схеме рециркуляции. Затем выливают моющий раствор пылесоса в фильтровальную емкость с раствором "Ферри" в питьевой воде и записывают показания счетчика прибора. Поддерживают рабочее давление фильтрации по инструкции к прибору 3 - 4 атмосферы. Фильтрацию заканчивают по инструкции к прибору, когда через счетчик прибора пройдет не менее 3х объемов смеси моющего раствора пылесоса и раствора "Ферри" в питьевой воде, находящейся в емкости для фильтрации.

Паразитарные объекты при этом улавливаются порошковым фильтром прибора. Концентрат ПробоКонГа обрабатывают и исследуют на наличие паразитарных объектов как концентрат питьевой воды по [МУК 4.2.2314-08](#).

## 11.2. Исследование паразитарной обсемененности пластмассовых и резиновых игрушек инструментальным методом

Необходимое оборудование и материалы.

ПробоКонГ-СЭС, или эквивалент, пластмассовый (для большей электробезопасности) таз круглый, с ручками, емкостью 32 литра, [ГОСТ Р 50962-96](#), арт. 202, производства ОАО "Полимербыт", или эквивалент емкостью 25 - 40 л, с диаметром дна 35 - 40 см (для размещения насоса ПробоКонГа), моющее средство для посуды "Ферри" ("FAIRY" или эквивалент), вода питьевая.

Ход отбора пробы.

На дно емкости кладут насос "ПробоКонГа", заливают примерно 20 л питьевой воды, добавив к ней средство для мытья посуды "Ферри" из расчета 5 - 10 капель на каждые 10 литров воды, выходной и сбросовой шланги ПробоКонГа направляют в емкость так, чтобы потоки воды могли омывать сверху игрушки. Запускают по инструкции к прибору фильтрование моющего раствора по схеме рециркуляции. Устанавливают по манометру давление 2 - 3 атмосферы и бросают в емкость исследуемые игрушки в таком количестве, чтобы они не препятствовали интенсивному перемешиванию раствора. Моют игрушки 5 - 10 мин., вылавливают их и помещают в емкость новую партию. Повторяют эту операцию по мере необходимости. После этого устанавливают давление фильтрации 3 - 4 атмосферы, профильтровывают по счетчику примерно 60 литров моющего раствора и прекращают операцию по инструкции к прибору. При этих процедурах за счет вибрации насоса и интенсивных потоков воды паразитарные объекты смываются с игрушек и улавливаются порошковым фильтром ПробоКонГа. Концентрат далее обрабатывают и исследуют на наличие паразитарных объектов, как концентрат питьевой воды по [МУК 4.2.2314-08](#).

### 11.3. Исследование групповой паразитарной обсемененности рук персонала и детей

Необходимое оборудование и материалы.

"ПробоКонГ-СЭС", или аналог, емкость на 10 л и более для сбора смыва, моющее средство, пластмассовая (для большей электробезопасности) емкость для выполнения фильтрования (20 - 50 л) предпочтительно с диаметром дна 35 - 40 см (для удобного размещения насоса ПробоКонГа), вода питьевая.

Ход отбора пробы.

Персонал по очереди моет руки питьевой водой с моющим средством для мытья посуды "Ферри" (нельзя применять мыло - оно забивает фильтр прибора) над тазом для сбора смывов. В тщательно вымытую пластмассовую емкость для проведения фильтрования набирают питьевой воды примерно 20 литров и запускают ее фильтрование по схеме рециркуляции при 2 - 3 атмосферах. Затем помывочные воды из таза выливают в емкость для фильтрования и записывают показания счетчика прибора. Фильтрование заканчивают, когда через счетчик пройдет не менее чем тройной объем (примерно 60 - 80 л) смеси питьевой воды и помывочного раствора. Концентрат смыва обрабатывают и исследуют на наличие паразитарных объектов, как пробу питьевой воды по [МУК 4.2.2314-08](#). При обнаружении паразитарных объектов проводят обследование для выявления индивидуальных носителей по п. 10.1. После выполнения смыва по п. 11 емкость промывают и заполняют питьевой водой с добавкой 5 - 10 капель моющего средства на каждые 10 литров. Помещают в нее насос прибора, выходной и сбросовой шланги направляют в слив, включают насос, кранами прибора устанавливают "на глаз" примерно равные потоки через выходной и сбросовой шланги и откачивают моющий раствор из емкости до уровня, чтобы насос оставался покрытым водой, выключают насос, достают его из емкости и освобождают от раствора, остатки моющего раствора выливают из емкости. Промывают элемент Крапухина по инструкции к прибору. Прибор и емкость для выполнения смыва готовы к следующему отбору пробы.

## 12. Исследование твердых бытовых отходов

## 12.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Пробы твердых бытовых отходов берут в коммунальных и индивидуальных домовладениях, детских дошкольных и школьных учреждениях, больницах (инфекционные отделения), мусоросортировочных и мусороперерабатывающих заводах.

Используют два способа отбора проб:

а) из недробленных твердых бытовых отходов отбирают крупные предметы, в т.ч. бумагу, тряпки, кости, не имеющие признаков фекального загрязнения, а из оставшейся массы отбросов для исследования отбирают 200 - 250 г;

б) из дробленных твердых бытовых отходов, предназначенных и для химического исследования, пробы берут также в количестве 200 - 250 г.

Пробы твердых бытовых отходов помещают в целлофановые пакеты, этикетируют, регистрируют в журнале и доставляют в лабораторию.

## 12.2. Исследование твердых бытовых отходов на яйца ГЕЛЬМИНТОВ

Ход исследования. Пробу недробленных твердых бытовых отходов помещают в большой кювет с 1,0 - 1,5 л воды. Тщательно отмывают и ополаскивают наиболее крупные части отходов и удаляют их. Шероховатые и сильно загрязненные объекты обмывают кисточкой в той же воде и также удаляют. Промывные воды переливают в 2 -3-литровую банку с широким горлом и с притертой, резиновой или корковой, покрытой полиэтиленовой пленкой, пробкой.

Пробу дробленных твердых бытовых отходов помещают в 2 - 3-литровую банку с 1,0 - 1,5 л воды и замачивают в течение 1 ч.

Банки со смывными водами или дроблеными бытовыми отходами встряхивают в аппарате для встряхивания или вручную в течение 15 - 20 мин. и оставляют на 1 ч для отстаивания. Затем верхний слой жидкости сливают, стараясь удалить все, что всплыло на поверхность. Остаток жидкости разливают в крупные центрифужные пробирки объемом от 60 до 250 мл (в зависимости от типа центрифуги), банку ополаскивают небольшим количеством воды, последнюю разливают по тем же пробиркам. Пробирки уравнивают и центрифугируют в течение 3 - 5 мин. при 600 об./мин.; воду из пробирок сливают, а осадок обрабатывают, как почву по методу Романенко на яйца гельминтов (п. 4.2) и по методу Падченко (п. 4.7) на цисты кишечных простейших.

## 13. Исследование пыли и воздуха

### 13.1. Отбор проб, транспортировка, хранение и подготовка к исследованию

Для сбора пыли используют камеру, представляющую металлический цилиндр длиной 110 - 120 мм с внутренним диаметром 27 мм (по ширине стандартного предметного стекла). В стенке цилиндра имеется всасывающее отверстие размером 2 x 25 мм. Внутри цилиндра укреплены 2 стержня, фиксирующие предметное стекло в диаметральной плоскости и продольном направлении. С одного

конца цилиндр закрывают съемной крышкой, а открытым концом присоединяют к патрубку пылесоса или другого всасывающего устройства (аспиратор, воздуходувка и т.п.).

На одну сторону чистого предметного стекла наносят тонкий слой 50 %-ного раствора глицерина в виде полоски шириной 1,5 - 2,0 см и длиной 4 - 5 см. Стекло вставляют в камеру так, чтобы смазанная глицерином поверхность была обращена к всасывающему отверстию камеры. Камеру закрывают крышкой. Затем включают пылесос или другое всасывающее устройство и производят отбор пыли.

При отборе проб всасывающее отверстие камеры должно быть обращено к исследуемой поверхности на расстоянии 2 - 3 мм. Перемещать всасывающее устройство во время работы над поверхностью следует равномерно. На одну пробу собирают пыль с площади не менее 0,25 кв. м в течение 20 сек., воздуха - 60 сек. После отбора пробы пылесос или другое всасывающее устройство выключают, открывают камеру и извлекают предметное стекло. На смазанной стороне стекла будет отчетливо виден пылевой след, представляющий собой готовый препарат, который микрокопируют (при увеличении  $\times 56 - 80$ ). Если препарат получился плотным, его просветляют 1 - 2 каплями воды или 50 %-ного раствора глицерина. Под микроскопом среди пылевых частиц хорошо видны яйца гельминтов. Микрокопирование препаратов может производиться на обследуемом объекте сразу после отбора проб или в лаборатории.

Сбор проб пыли и воздуха непосредственно на предметное стекло, покрытое клейкой смазкой, исключает использование фильтров, центрифугирование, приготовление мазков и другие действия, во время которых могут быть потери яиц гельминтов или нарушение их целостности. Кроме того, использование клейких стекол ускоряет время отбора проб и позволяет, что особенно важно, при обследовании детских учреждений, просматривать предметные стекла на местах обследования. Последнее дает возможность на местах составлять план мероприятий по предупреждению загрязнения и дегельминтизации внешней среды.

## **13.2. Исследование пыли и воздуха на яйца гельминтов. Метод Каледина и Романенко (1982)**

Для отбора и исследования проб пыли используют липкую прозрачную целлофановую ленту (скотч) со слоем клея до 3 мм. Ленты шириной 20 мм и длиной 7 - 8 см приклеивают липким слоем к разным участкам исследуемой поверхности 6 - 8 раз, в зависимости от запыленности объекта, а затем ее помещают на предметное стекло. Липкой лентой нельзя делать отбор проб пыли с бумажных поверхностей (книги), мягких игрушек и очень загрязненных предметов (половики, коврики).

В лаборатории ленту отклеивают на участках микрокопирования и вносят под нее несколько капель касторового или вазелинового масла (для устранения пузырьков воздуха), исследуют при малом увеличении микроскопа. Препарат может храниться несколько дней.

## **14. Методы исследования компонентов экосистемы при санитарно-паразитологической оценке природных очагов**

### **14.1. Исследование травы и водных растений на наличие адолескариев**

Отбор проб. Материал для исследования растений на наличие адолескариев отбирают в биотопах моллюсков, осуществляя целенаправленный поиск. Для отбора проб водных растений с адолескариями желательно пользоваться лупой, хотя адолескарий можно заметить даже невооруженным глазом на листьях и стеблях растений. Адолескарии встречаются одиночно и группами. Их обнаруживают преимущественно на нижней и реже верхней поверхности листьев, черешках листьев и стеблях растений. Адолескарий фасциолы внешне представляет округлое образование диаметром около 0,3 мм, прикрепившееся к растению. Адолескарии парамфистомат сходны с таковыми фасциол, замечаются в виде блестящих черных или коричневых точек.

Для получения достоверных данных, характеризующих исследуемую экосистему, объем пробы околородной и (или) водной растительности должен составлять не менее 300 г.

Ход исследования. В лаборатории собранный материал внимательно изучают с помощью лупы. Обнаруженные адолескарии освобождают с помощью иглы и скальпеля и помещают на предметное стекло в каплю физиологического раствора. Если адолескарий живой, то внутри цисты личинка может свободно двигаться. Это чаще наблюдается, если адолескарий поместить в каплю теплой воды (37 - 38 °С). Детальное изучение морфологии и диагностических признаков проводится при микроскопировании.

Морфология адолескариев. Описание личинок фасциол и парамфистомат представлено в табл. 3.

**Таблица 3**

**Морфология свободноживущих личинок (адолескариев) трематод**

Морфологические признаки	<i>Fasciola hepatica</i>	<i>Fasciola gigantica</i>	<i>Paramphistomae</i>
Форма	округлая	округлая	полусферическая
Размер (диаметр)	0,3 мм	0,3 мм	0,23 - 0,26 мм
Оболочка	двойная	двойная	слоистая светлая
Цвет	молодые адолескарии молочно-белого цвета, позднее желтеют, затем темнеют до буро-коричневого цвета		черные, коричневые, блестящие
Присоски	почти одинаковые по размеру ротовая и брюшная присоски		брюшная присоска очень крупная, ротовая, наоборот, рудиментарная или слабо развита
Органы, различимые при микроскопировании	глотка, два кишечных ствола, продолжающиеся до конца тела, экскреторный пузырь		глазки, глотка, экскреторные сосуды и пузырь
Активность живой личинки	подвижная	подвижная	подвижная

## 14.2. Обнаружение и сбор адолескариев.

### Метод Горохова

Для обнаружения и сбора адолескариев фасциолы в небольших водоемах (мочажинах, временных водоемах, где обитают малые прудовики) используют стекла размером 18×13 см, толщиной 1,5 мм (можно использовать куски плексигласа размером 16×7 см, толщиной 1,2 мм). Стекла ставят вертикально, закрепляют нижнюю часть на 2 - 3 см в грунт водоема. Плоскости стекол должны быть обращены с востока на запад. Установленные в водоеме стекла оставляют на 7 суток. Церкарии, встречая на своем пути стекла, прикрепляются к ним и инцистируются, превращаясь в адолескарии. При проверке стекол их исследуют невооруженным глазом и при необходимости заменяют другими. При наличии белых точек (возможно адолескариев) их исследуют под лупой.

В лаборатории стекла микроскопируют. Ведут учет количества и состояния найденных личинок.

## 14.3. Исследование травы и сена на наличие личинок

### стронгилят.

### Метод Котельникова (1991)

Отбор проб. Траву для исследования собирают на пастбище (объединенная проба 0,5 - 1,0 кг). Для исследования используют нижнюю часть растений, так как наибольшее количество личинок стронгилят обнаруживают в прикорневой части травы, в 3 - 5 см от почвы. Перед исследованием траву разрезают на части ножницами, выбирая для исследования нижнюю часть растений. Отбор проб сена из стогов проводят аналогично.

Ход исследования. Для выявления личинок нематод применяют аппарат Бермана. Подготовленные нижние участки растений закладывают в аппарат Бермана, заливают теплой водой. Оставляют на 1 - 2 ч. Затем пробирки с осадком центрифугируют 1 - 2 мин. при 800 об./мин., надосадочную жидкость сливают, а осадок микроскопируют на предметном стекле.

## 14.4. Исследование травы и сена на наличие личинок

### стронгилят.

### Метод Акулина

Отбор проб. Метод позволяет исследовать пробы трав большой массы (более 1 кг), что увеличивает вероятность выявления личинок стронгилят.

Оборудование.

Сита диаметром 31 см, высотой боковой стенки 12 см (сетка из нержавеющей проволоки, размер ячеек 1 мм, укрепляется на уровне 2 см от нижнего края сита).

Тазы диаметром 36 см (по верхнему краю), высотой 15 см, книзу таз имеет постепенное сужение.

Стекланные воронки диаметром 18 - 20 см (по верхнему краю) с резиновыми трубками и пробирками на концах, установленные в штатив для воронок.

Ход исследования. Сито должно быть установлено в таз таким образом, чтобы нижний край сита упирался в сужение таза, тогда между сеткой сита и дном таза создается пространство высотой 5 см. Установив сито в тазу, его заполняют водой комнатной температуры. Уровень воды не должен доходить до верхнего края таза на

1,0 - 1,5 см. Образовавшиеся под сеткой пузырьки воздуха удаляют резким движением сита вверх-вниз. В каждое сито с водой вносят 100 - 120 г травы и оставляют на сутки, в течение которых личинки должны осесть на дно таза. Через сутки сита с травой осторожно удаляют из таза. Через 15 - 20 мин. после удаления сита надосадочную жидкость сливают, оставляя на дне таза около 1,0 - 1,5 л. Жидкость перемешивают и вместе с осадком переливают в воронки с пробирками на концах. Отстаивание личинок в воронках продолжается 1 - 2 ч. Надосадочную жидкость удаляют из пробирок, осадок микроскопируют. При обилии личинок в осадке и трудности просмотра и подсчета их применяют способ разведений. Личинки подсчитывают при малом увеличении микроскопа. В каплю воды с личинками для их обездвиживания вносят 1 каплю раствора Люголя.

## 14.5. Исследование моллюсков на зараженность шистосоматидами

Отбор проб. Роль промежуточных хозяев шистосоматид (*T. ocellata*) в средней полосе России в основном выполняют моллюски рода *Lymnaea*: *L. auricularia*, *L. ovata*, *L. psilia psilia*, *L. balthica*; в меньшей степени: *L. stagnate*, *L. fragilis*, *L. palustris*; относительно редко: *L. intermedia*, *L. monnardi*, *L. fontinalis*, *L. atra*. Основное значение (с учетом распространенности, плотности популяций, общей численности в водоемах разных типов, инвазированности возбудителями шистосоматид) имеют первые 4 вида.

Для установления экстенсивности инвазии моллюсков шистосоматидами в конкретных водоемах репрезентативная исследуемая выборка моллюсков должна составлять не менее 50 экз. (желательно - 100 экз.) каждого вида, встречающегося в водоеме. Моллюсков собирают в прибрежной полосе шириной до 5 м, с грунта или водных растений, вручную или прочным бентосным сачком, в поверхностном слое воды или на глубине до 30 - 40 см.

Учитывая особенности биологии легочных моллюсков (сроки жизни не превышают 2 лет, период размножения приходится на начало лета, массовая гибель взрослых ("прошлогодних") особей наблюдается в середине лета), моллюсков на зараженность шистосоматидами исследуют в первой трети летнего сезона. Моллюсков новой генерации ("сеголеток") исследуют в последней трети летнего и начале осеннего периода.

Чаще всего моллюски встречаются в мелководных, хорошо прогреваемых участках пойменных озер, прудов, речных заливов, стариц, отстойников, обильно заросших водной растительностью. Распределение и плотность популяций моллюсков в разных зонах водоема могут быть весьма неравномерными - от единичных до 200 - 300 экз./кв. м. Особенно многочисленными могут быть популяции сравнительно мелких видов моллюсков: *L. ovata*, *L. palustris*, *L. balthica*. Наиболее высокой численности моллюски достигают в прибрежной полосе шириной от 1 до 10 метров (в среднем - 5 м). Именно эти мелководные участки водоемов представляют наибольшую опасность в отношении риска заражения человека церкариозами.

Ход исследования. При исследовании живых моллюсков применяют метод прижизненной диагностики, основанный на положительном фототаксисе церкарий. Он дает наиболее достоверные результаты лишь тогда, когда партеногенетический цикл паразитов в моллюсках завершился формированием церкарий. Моллюсков поштучно рассаживают в бюксы с водой, выставляют под яркий (солнечный или искусственный) свет на 30 - 40 мин. Затем бюксы поочередно просматривают под стереоскопическим биноклем при увеличении  $\times 20 - 30$ . В микроаквариумах, где находятся инвазированные моллюски, хорошо заметны активно двигающиеся церкарии.

Для более детального исследования церкарий применяют метод компрессии гепатопанкреаса моллюсков. Тела исследуемых моллюсков (поштучно) извлекают пинцетом из раковин, раздавливают между двумя предметными стеклами и просматривают при малом увеличении ( $\times 40 - 60$ ) светового микроскопа. Церкарии шистосоматид относятся к группе "вилкохвостых" (или фуркоцеркарий), так как их хвост на конце раздвоен в виде вилки. Похожее строение хвоста имеют и церкарии трематод некоторых других семейств, которые не нападают на человека и не вызывают дерматиты. Учитывать этот факт необходимо для избежания неверной экспертной оценки и ошибочного завышения степени риска заражения человека церкариями в конкретных обследуемых водоемах.

**Таблица 4**

**Морфология церкарий *T. ocellata***

Общий размер	Довольно крупные: общая длина (тело церкарии + стебель хвоста + фурки) достигает 1,0 - 1,3 мм
1	2
Основные размеры (в микронах)	Длина тела вместе с головным органом - 215 - 360,
	ширина - 50 - 90, длина стебля хвоста - 300 - 375,
	ширина стебля хвоста - 34 - 45,
	длина вилок (фурок) хвоста - 200 - 275,
	диаметр переднего (головного) органа - 60 - 85,
	диаметр брюшной присоски - 35
Цвет	Тело церкарии прозрачное, слегка желтоватого цвета
Железы проникновения	Пять пар, колбовидной формы, хорошо видны выводные протоки
Головной орган	На дорзальной поверхности имеется два пигментированных глазка, расположенных немного впереди брюшной присоски
Хвостовой орган	Стебель хвоста длиннее фурок. Утолщение в передней части стебля хвоста отсутствует
Брюшная присоска	Мощная, хорошо заметна (особенно при боковом положении церкарий), может выпячиваться в виде "трубки"
Характер движения	Движения живых, вышедших из моллюсков в воду, церкарий энергичные, как бы "ввинчивающиеся в воду хвостом вперед". Двигаются в направлении "к свету" и почти мгновенно реагируют на изменения освещенности. Механические колебания воды и растительного субстрата, имитирующие движение лапок утки, стимулируют движения церкарий

Жизнеспособность	В течение двух суток при температуре воды 17 - 20 °С и не менее трех суток при 5 - 10 °С
Инвазионность	В жизнеспособном состоянии постоянно

## 14.6. Разработка экспертного заключения об опасности природного объекта (водоема, пастбища) в отношении риска заражения людей паразитами

Обследование природного объекта (водоема, серии водоемов, отдельных их зон, пастбища, урочищ и пр.) должно завершаться экспертным заключением: "Об опасности природного объекта в отношении риска заражения людей".

Рассмотрим последовательность подготовки экспертного заключения на примере водоема - места обитания водоплавающих птиц. Выбор объекта зависит от его эпидемиологической значимости. Прежде всего, это необходимо в отношении водоемов, имеющих рекреационное значение, т.е. расположенных в зонах отдыха людей и разрешенных для купания.

Для составления экспертного заключения необходима первичная информация, получаемая при комплексном обследовании водоема. Обследования проводят в середине дня при солнечной погоде (при условиях максимальной активности промежуточных хозяев и церкарий шистосоматид). Информацию по нижеприведенным показателям заносят в лабораторный журнал или компьютерную базу данных. Учитывают следующие показатели:

1. Географическое положение водоема и его название.
2. Дата проведения обследования и метеоусловия.
3. Тип водоема (одиночное озеро, одиночный пруд, система сообщающихся прудов или озер, участок реки, участок канала, система водоемов, образованных в результате зарегулирования русла реки, участок водохранилища, отстойник и др.).
4. Площадь обследуемой акватории.
5. Число обследованных станций (число обследованных в водоеме прибрежных участков длиной 5 м, шириной 1 - 2 м).
6. Видовой состав легочных моллюсков, обнаруженных в водоеме и собранных для лабораторных исследований с целью определения пораженности церкариями шистосоматид.
7. Плотность популяций моллюсков (рассчитывается по среднему числу особей на 1 кв. м).
8. Число моллюсков, взятых для лабораторных исследований (указывать отдельно для каждого вида моллюсков).
9. Экстенсивность инвазии моллюсков шистосоматидами (число инвазированных от числа исследованных в процентах для каждого вида моллюсков).
10. Степень зарастания водоема (растительности нет; зарастание слабое (менее 10 стеблей на 1 кв. м); зарастание умеренное и сильное (более 10 стеблей на 1 кв. м); наличие плавающей растительности).

11. Характер фоновой растительности (учитываются: элодея, рдесты, осоки, роголистник, нимфеи, частуха, стрелолист, плавающая растительность (прежде всего, ряска), крупные макрофиты (тростник, камыш, рогоз, аир).

12. Наличие в водоеме утиных птиц (прежде всего, кряквы). Указывают численность птиц на момент обследования.

13. Степень загрязненности водоема (остатки пищи, остатки предметов быта, промышленные отходы, строительный мусор и др.). Водоем (его участок) загрязнен слабо: менее 3 указанных выше предметов загрязнения на 10 м прибрежной акватории шириной 3 м; водоем (его участок) загрязнен умеренно или сильно: более 3 предметов загрязнения в той же акватории.

14. Использование водоема в рекреационных целях ("ДА", "НЕТ"; отдельно указывают: используется ли водоем или отдельный его участок как официально разрешенное место для купания людей).

15. Благоустроенность водоема: водоем полностью бетонирован, полностью или частично бетонирована береговая линия, производится или нет регулярная очистка от мусора и растительности, имеются или нет оснащенные пляжные территории и огороженные от остальных мест акватории для купания с песчаным грунтом без растительности, имеются или нет (на остальных береговых участках или в целом на несанкционированных для купания водоемах) знаки, запрещающие купание, подкормку птиц, свалку мусора.

На основании проведенных полевых и лабораторных исследований, составляют экспертное заключение об эпидемической опасности водоема (серии водоемов, отдельных их участков) в отношении риска заражения людей церкариозом. При этом делают вывод о том, что:

1) риск заражения отсутствует (либо: нет экологических условий, благоприятных для обитания промежуточных хозяев возбудителей и нет легочных моллюсков, либо: нет источника заражения, либо: отсутствуют оба эти фактора);

2) имеется потенциальный риск заражения (на исследуемой территории, в принципе, имеется источник инвазии (водоплавающие, прежде всего утиные, птицы) и имеются популяции промежуточных хозяев возбудителя (одного или нескольких видов легочных моллюсков). Однако на период обследования водоема в исследованной выборке моллюсков не выявлены особи, зараженные церкариями шистосоматид);

3) риск заражения присутствует (имеются популяции легочных моллюсков и в исследованной выборке обнаружены особи, зараженные шистосоматидами).

Во избежание ошибочного суждения о степени риска и, учитывая, что этот показатель изменчив в зависимости от целого ряда условий, определением "риск заражения присутствует", как правило, целесообразно ограничиться.

Когда ряд факторов со всей очевидностью указывает на высокий риск заражения в конкретных водоемах или их отдельных участках (обнаружена высокая численность популяций промежуточных хозяев, выявлена высокая пораженность моллюсков церкариями шистосоматид, имеется обильное зарастание водоема при одновременно его слабо выраженной загрязненности, водоем фактически используется для купания, особенно детьми, даже в тех случаях, когда он официально не признан рекреационной зоной), в экспертном заключении этот факт следует особо подчеркивать.

## 15. Методы определения жизнеспособности яиц и личинок гельминтов

Жизнеспособность яиц гельминтов определяют по внешнему виду, путем окрашивания витальными красками, культивированием в оптимальных условиях и постановкой биологической пробы.

## 15.1. Определение жизнеспособности яиц или личинок гельминтов по внешнему виду

Яйца гельминтов микроскопируют вначале при малом, затем при большом увеличении. У деформированных и мертвых яиц гельминтов оболочка разорвана или прогнута внутрь, содержимое мутное, разрыхленное. У нежизнеспособных яиц, содержащих шары дробления (бластомеры) разного размера, неправильной формы, часто сдвинуты к одному полюсу. Иногда встречаются аномальные яйца, которые, имея внешние уродства, развиваются нормально. У живых личинок аскарид мелкая зернистость имеется только в средней части тела, по мере их гибели она распространяется по всему телу, появляются крупные блестящие гиалиновые вакуоли, так называемые "нити жемчуга".

Для определения жизнеспособности зрелых яиц аскарид, власоглавок, остриц следует нагреть препарат до температуры не выше 37 °С, чтобы вызвать активные движения личинок.

Жизнеспособность личинок аскарид и власоглавок удобнее оценивать после их высвобождения из скорлупы яйца, которое достигается надавливанием на покровное стекло препарата препаровальной иглой или пинцетом.

У инвазионных личинок аскарид часто замечается чехлик, отслоившийся на головном конце, а у закончивших развитие в яйце личинок власоглавок на этом месте при большом увеличении обнаруживается стилет. У погибших личинок гельминтов независимо от их места нахождения (в яйце или вне его) можно заметить распад тела. При этом внутренняя структура личинки становится глыбчатой или зернистой, а тело - мутным и непрозрачным. В теле обнаруживаются вакуоли, а на кутикуле - разрывы.

Жизнеспособность онкосфер тениид (бычьего, свиного цепней и др.) определяют по движению зародышей при воздействии на них пищеварительных ферментов. Яйца помещают на часовое стекло с желудочным соком собаки или искусственным дуоденальным соком. Состав последнего: панкреатина - 0,5 г, натрия бикарбоната - 0,09 г, дистиллированной воды - 5 мл. Часовые стекла с яйцами ставят в термостат при 36 -38 °С на 4 часа. При этом живые зародыши освобождаются от оболочек. Оболочки живых онкосфер также растворяются в подкисленном пепсине и в щелочном растворе трипсина через 6 - 8 часов в термостате при 38 °С.

Если поместить яйца тениид в 1 %-ный раствор натрия сульфида, или 20 %-ный раствор натрия гипохлорида, или же в 1 %-ный раствор хлорной воды при 36 - 38 °С, зрелые и живые зародыши освобождаются от оболочек и не изменяются в течение 1 суток. Незрелые и мертвые онкосферы сморщиваются или набухают и резко увеличиваются, а затем "растворяются" в течение 10 мин. - 2 ч. Живые зародыши тениид также активно двигаются в смеси 1 %-ного раствора натрия хлорида, 0,5 %-ного раствора натрия гидрокарбоната и желчи при 36 - 38 °С.

Для определения жизнеспособности яиц карликового цепня наиболее проста методика Иониной Н.С.: у живых яиц медианная пара эмбриональных крючьев или параллельна латеральным, или последние образуют с медианной парой угол у основания меньше 45°. У мертвых яиц латеральные пары образуют у основания угол с медианной парой больше 45° или же крючья беспорядочно разбросаны (утрачивается их парное расположение); иногда наблюдается сморщивание зародыша, образование зернистости.

Более точен метод, основанный на появлении движений онкосферы при резкой смене температур: от 5 - 10° до 38 - 40 °С.

Определение жизнеспособности незрелых яиц нематод следует изучать во влажной камере (чашках Петри), помещая яйца аскарид в 3 %-ный раствор формалина, приготовленный на изотоническом растворе натрия хлорида при температуре 24 - 30 °С, яйца власоглавок в 3 %-ном растворе соляной кислоты при температуре 30 - 35 °С; яйца остриц в изотоническом растворе натрия хлорида при температуре 37 °С. Чашки Петри следует открывать 1 - 2 раза в неделю для лучшей аэрации и снова увлажнять фильтровальную бумагу чистой водой.

Наблюдения за развитием яиц гельминтов ведут не реже 2 раз в неделю. Отсутствие признаков развития в течение 2 - 3 месяцев свидетельствует о их нежизнеспособности. Признаками развития яиц гельминтов являются сначала стадии дробления, деление содержимого яйца на отдельные бластомеры. В течение первых дней развивается до 16 бластомеров, которые переходят во вторую стадию - морулу и т.д.

Яйца анкилостомид культивируют в стеклянном цилиндре (высотой 50 см и диаметром 7 см), закрытом пробкой. Смесь из равных объемов стерильного песка, древесного угля и испражнений с яйцами анкилостомид, разведенную водой до полужидкой консистенции, наливают осторожно на дно цилиндра при помощи стеклянной трубки. В течение 1 - 2-суточного отстаивания в темноте при температуре 25 - 30 °С из яиц вылупляются рабдитовидные личинки, а через 5 - 7 суток они становятся уже филяриеvidными: личинки выползают вверх по стенкам цилиндра, где видны даже невооруженным глазом.

Яйца трематодного типа, естественно развивающиеся в воде, например описторхов, лентецов, фасциол и других, помещают на часовое стекло, чашку Петри или в другой сосуд, наливают небольшой слой обычной воды. При культивировании яиц фасциол следует учесть, что они развиваются быстрее в темноте, при этом в живых яйцах при температуре 22 - 24 °С через 9 - 12 суток формируется мирацидий. При микроскопировании развивающихся яиц трематод хорошо заметны движения мирацидия. Мирацидий фасциолы и корацидий лентецов из оболочек яйца выходят только на свету.

Жизнеспособность адолескариев фасциол, собранных на растениях и других объектах водоемов, проверяют исследованием их на предметном стекле в физиологическом растворе под микроскопом с нагревательным столиком. При подогревании личинки трематоды, находящиеся в цисте, начинают двигаться.

## 15.2. Определение жизнеспособности личинок анкилостомид и стронгилид.

### Метод Фюллеборна

Личинки анкилостомид и стронгилид культивируют на агаре в чашке Петри с животным углем. После выдерживания в термостате при температуре 25 - 30 °С в течение 5 - 6 часов личинки расползаются по агару, оставляя за собой дорожку из бактерий.

## 15.3. Определение жизнеспособности личинок анкилостомид и стронгилид.

### Метод Харада и Мори

В пробирки, помещенные в штатив, добавляют 7 мл дистиллированной воды. Деревянной палочкой берут 0,5 г испражнений и делают мазок на фильтровальной бумаге (15×150 мм) в 5 см от левого края (эту операцию проводят на листе бумаги, чтобы защитить поверхность лабораторного стола). Затем полоску с мазком вставляют в пробирку так, чтобы свободный от мазка левый конец достигал дна пробирки. Накрывают верхний конец куском целлофана и плотно обхватывают резинкой. На пробирке пишут номер, фамилию обследуемого. В таком состоянии пробирки хранят 8 - 10 суток при температуре 28 °С. Для изучения личинок снимают и удаляют целлофановую крышку и извлекают пинцетом полоску фильтровальной бумаги. При этом следует проявлять осторожность, так как небольшое количество инвазионных личинок может передвигаться к верхнему концу фильтровальной бумаги или к стенке пробирки и проникать под поверхность целлофана.

Пробирки помещают в горячую водяную баню при температуре 50 °С на 15 мин., после чего содержимое их встряхивают и быстро переливают в пробирку емкостью 15 мл для осаждения личинок. После центрифугирования надосадочную жидкость удаляют, а осадок переносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют при малом увеличении.

Для дифференциального диагноза филяриевидных личинок необходимо пользоваться данными табл. 5.

**Таблица 5**

**Дифференциальная диагностика филяриевидных личинок *A. duodenale*, *N. americanus*, *S. stercoralis*, *Trichostrongylus* sp.**

Личинки	Размеры	Характерные признаки
<i>A. duodenale</i>	Длина тела около 660 мкм, чехлика - 720 мкм	Исчерченность чехлика менее выражена, ротовой выступ менее заметен, передний конец тела (но не чехлика) тупой, диаметр кишечной трубки меньше, чем бульбус пищевода, хвостовой конец тупой
<i>N. americanus</i>	Длина тела около 590 мкм, чехлика - 660 мкм	Чехлик заметно исчерчен, особенно в хвостовой части тела, ротовой выступ кажется темным, передний конец тела (но не чехлика) закруглен подобно узкому концу куриного яйца, передняя часть кишечной трубки такого диаметра, как бульбус пищевода, хвостовой конец резко заострен
<i>S. stercoralis</i>	Длина тела около 500 мкм	Личинка без чехлика, пищевод составляет около половины длины тела, хвост тупой или разветвленный
<i>Trichostrongylus</i> sp.	Длина тела около 750 мкм	Просвет кишечника не прямой, а зигзагообразный, хвостовой конец закруглен и имеет форму кнопки

#### 15.4. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов методом окрашивания

Мертвые ткани в большинстве случаев воспринимают краски быстрее, чем живые. Эти особенности используют в гельминтологии для определения жизнеспособности яиц и личинок гельминтов. Однако в отдельных случаях некоторые краски лучше воспринимаются живыми тканями, чем мертвыми.

Для дифференциального определения живых и мертвых яиц и личинок применяют следующие краски и способы.

Для окраски живых и мертвых тканей часто используют лейкобазу метиленового синего. Живая клетка или ткань редуцирует метиленовый синий в бесцветную лейкобазу, мертвая ткань не обладает такой способностью, поэтому приобретает окраску.

Критерием состояния яйца является окрашивание зародыша, но не оболочки. Такая его способность связана с условиями гибели яйца. В тех случаях, когда волокнистая оболочка в мертвом яйце не теряет свойств полупроницаемости, она не будет пропускать красители, следовательно, мертвый зародыш не будет окрашиваться. Окрашенный зародыш всегда свидетельствует о гибели яйца.

Для окраски яиц аскарид можно использовать метиленовый синий в растворе молочной кислоты с едкой щелочью (метиленового синего 0,05 г, едкого натра 0,5 г, молочной кислоты 15 мл). Живые яйца окраску не воспринимают; окрашиваются в синий цвет зародыши мертвых яиц. Окрашивание личинок аскарид основным раствором краски бриллианткрезилового синего в концентрации 1:10000 осуществляют следующим образом: на предметное стекло наносят каплю жидкости с яйцами аскарид и каплю основного раствора краски. Препарат накрывают покровным стеклом, которое плотно прижимают к предметному стеклу при легком постукивании препаровальной иглой. Под микроскопом наблюдают количество вышедших личинок и степень их окрашиваемости; после чего этот же препарат просматривают повторно через 2 - 3 ч. Живыми считаются только недеформированные личинки, не окрасившиеся в течение 2 ч. Мертвые личинки или не выходят из яиц или окрашиваются при разрыве скорлупы (частично или полностью).

При определении жизнеспособности яиц аскаридат птиц возможна окраска препаратов 5 %-ным спиртовым раствором йода. При его нанесении на препарат зародыши мертвых яиц аскаридат в течение 1 - 3 с окрашиваются в оранжевый цвет.

Мертвые яйца описторхов и онкосферы бычьего цепня окрашиваются раствором толудинового синего (1:1000), а мертвые онкосферы бычьего цепня - раствором бриллианткрезилового синего (1:10000). При этом приобретают цвет зародыши и оболочки как мертвых, так и живых яиц. Поэтому после окраски яйца и онкосферы отмывают в чистой воде и дополнительно окрашивают их сафранином (в разведении 1:10000 спирта). Спирт удаляет краску с оболочек, а сафранин окрашивает в красный цвет. В результате живые яйца окрашиваются в красный цвет; яйца с мертвыми зародышами - в синий, а оболочка остается красной. Мертвые зародыши онкосфер бычьего цепня быстро, в течение нескольких минут, окрашиваются в ярко-красный или розовый цвет сафранином или в синий цвет бриллианткрезиловым синим в разведении 1:4000 или индигокармином в разведении 1:1000 - 1:2000. Живые зародыши не изменяются под влиянием этих красок даже спустя 2 - 7 ч.

Для определения жизнеспособности яиц карликового цепня рекомендуется использовать следующие краски:

1. Бриллианткрезиловый синий (1:8000) - через 1 ч у мертвых яиц особенно ярко окрашивается онкосфера, которая резко выделяется на бледном или бесцветном фоне остальной части яйца;
2. Сафранин (1:8000 при воздействии в течение 2 ч и 1:5000 - в течение 3 - 5 ч);
3. 50 %-ный раствор пирогалловой кислоты в разведении 1:2 при воздействии в течение 1 ч при температуре 29 - 30 °С (чем ниже температура, тем продолжительнее процесс окрашивания).

## 15.5. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов люминесцентным методом

Люминесцентная микроскопия дает возможность дифференцировать живые и мертвые объекты без повреждения яйца. Для флюоресценции используются не ультрафиолетовые лучи, а сине-фиолетовая часть видимого света, с обычным микроскопом и предметными стеклами; к осветителю микроскопа добавляют специальный набор цветных фильтров.

Живые и мертвые яйца аскарид, остриц, карликового цепня, бычьего цепня, лентецов и других гельминтов люминесцируют неодинаково. Это явление наблюдается как при первичной люминесценции без применения красителей, так и при окраске флюорохромами (акридиновый оранжевый, корифосфин, примулин, аурамин, сульфат берлерины, трипафлавин, риванол, акрихин и др.)

Неокрашенные, живые несегментированные яйца аскарид светятся ярко-зеленым светом с желтоватым оттенком; у мертвых яиц оболочка излучает зеленый свет значительно ярче, чем темно-зеленая зародышевая часть; у яиц аскарид с личинкой проявляется только оболочка, а у мертвых - и оболочка, и личинка ярко-желтого цвета.

Непигментированные и несегментированные живые яйца остриц и карликовых цепней излучают зеленовато-желтый свет, у мертвых яиц интенсивно люминесцирует оболочка на фоне темно-зеленой зародышевой массы.

При вторичной люминесценции (при окраске акридиновым оранжевым в разведении 1:10000 и 1:50000 от 30 мин. до 2 ч) оболочка живых и мертвых нематод, трематод и цестод люминесцирует неодинаково.

Скорлупа живых и мертвых яиц аскарид, токсокар, остриц, карликового, крысиного, бычьего цепней, лентецов окрашивается в оранжево-красный цвет. Зародыши живых яиц аскарид, токсоаскарид, крысиного цепня, широкого лентеца и онкосферы бычьего цепня люминесцируют тусклым темно-зеленым или серо-зеленым цветом. Мертвые зародыши яиц этих гельминтов излучают "горящий" оранжево-красный цвет. Живые личинки остриц и токсокар (освобожденные от скорлупы яйца) излучают тусклый серо-зеленый свет, при их гибели цвет изменяется от головного конца в "горящий" светло-зеленый, затем желтый, оранжевый и, наконец, в ярко-оранжевый.

При окраске флюорохромами - корифосфилом, примулином у мертвых яиц аскарид и власоглавок наблюдается свечение от лилово-желтого до медно-красного цвета. Жизнеспособные яйца не люминесцируют, а окрашиваются в темно-зеленый цвет.

Живые яйца трематод (парагонимов и клонорхов) не люминесцируют после окраски акридиновым оранжевым, а от мертвых яиц исходит желтовато-зеленый цвет.

Метод люминесценции может быть применен и для определения жизнеспособности личинок гельминтов. Так, обработанные раствором акридинового оранжевого (1:2000) личинки стронгилят, рабдитат светятся: живые - зеленым (с оттенком), мертвые - ярко-оранжевым светом.

Живые мирацидии, вышедшие из оболочки, излучают тусклый голубоватый свет с еле заметным светло-желтым венчиком ресничек, но спустя 10 - 15 мин. после гибели проявляются ярким "горящим" светло-зеленым, а затем - оранжево-красным светом.

## 15.6. Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов методом биологической пробы

Биологическая проба - определение жизнеспособности инвазионных яиц гельминтов посредством их скармливания лабораторным животным. Это наиболее точный метод. Личинками гельминта заражают соответствующего промежуточного или окончательного хозяина, можно использовать также лабораторных животных, которым скармливают зрелые яйца или личинки паразитов.

Например, для определения жизнеспособности яиц аскаридат (аскариды свиные, человека, токсокары, токскарисы и др.) на одно животное (морские свинки, мыши) необходимо не менее 100 - 300 яиц с развившейся личинкой. Яйца аскаридат в изотоническом растворе натрия хлорида вводят пипеткой через рот мыши или морской свинке. Через 6 - 7 суток животное забивают, вскрывают и исследуют его печень и легкие в отдельности на наличие личинок аскаридат. Для этого печень и легкие измельчают ножницами на мелкие кусочки и исследуют их по методу Бермана или Супряги.

Если животных заражали живыми инвазионными яйцами, то при вскрытии в печени и легких обнаруживают мигрирующие личинки аскаридат.

Для определения жизнеспособности адолескариев фасциол, собранных на растениях в биотопах малого прудовика - промежуточного хозяина паразита, используют мышей, морских свинок или кроликов, которым скармливают эти личинки или вводят их пипеткой через рот.

В случае заражения яйца фасциол в фекалиях лабораторных животных можно обнаружить у кроликов через 2 месяца, у морских свинок через 50 суток, у мышей через 35 - 40 суток.

Для более быстрого получения ответа лабораторных животных вскрывают через 20 - 30 суток и исследуют печень на наличие молодых фасциол.

Для определения жизнеспособности яиц карликового цепня также рекомендуется их скармливание незараженным ими ранее белым мышам с последующим вскрытием животных через 92 - 96 ч и выявлением цистицеркоидов в кишечных ворсинках или цестод в просвете кишечника.

## 15.7. Определение жизнеспособности яиц описторхов. Метод Германа и Беэра (1984)

Метод основан на физико-химической активации железа вылупления мирацидия и стимуляции двигательной активности личинки, что приводит к открыванию крышечки яйца и активному выходу мирацидия.

Взвесь яиц описторхов в воде предварительно охлаждают до 10 - 12 °С (все последующие операции осуществляют при комнатной температуре 19 - 20 °С). В центрифужную пробирку вносят 1 каплю взвеси, содержащую 100 - 150 яиц. Пробирку ставят в штатив на 5 - 10 мин. За это время все яйца успевают опуститься на дно. Затем полоской фильтровальной бумаги осторожно отсасывают излишек воды и в пробирку добавляют 2 капли специальной среды. Среду готовят на 0,005 М Трис-НСl буфере: в буфер добавляют 12 - 13 %-ный раствор этанола и краситель (фуксин, сафранин, эозин, метиленовый синий и т.д.). Пробирку встряхивают, ее содержимое переносят пипеткой на предметное стекло и оставляют на 10 мин., слегка покачивая. Затем на стекло добавляют еще 2 капли указанной среды и микроскопируют при 20-кратном увеличении.

За это время у жизнеспособных личинок открывается крышечка, и мирацидий активно выходит в указанную среду. Благодаря наличию в ней этанола, они через 2 - 5 мин. обездвиживаются и затем окрашиваются с помощью красителя. Их легко можно обнаружить при микроскопировании и произвести подсчет.

# 16. Методы экспериментального изучения сроков развития и выживаемости возбудителей паразитозов в окружающей среде

## 16.1. Выживаемость яиц гельминтов в различных условиях окружающей среды

При изучении сроков развития и выживаемости яиц гельминтов требуется проведение специальных экспериментов с искусственной закладкой проб на различных объектах окружающей среды. Опыты необходимо проводить, с одной стороны, в условиях наиболее приближающихся к естественным, а с другой, при которых пробы с яйцами гельминтов сохранялись бы в окружающей среде и их легко было бы извлекать для исследования в любые сроки.

16.1.1. Почва как среда обитания возбудителей паразитозов. На поверхности почвы закладку яиц гельминтов проводят одним из следующих способов:

а) на предварительный фильтр наносят не менее 1000 яиц гельминтов и покрывают его другим таким же фильтром, края которых загибают конвертами, после чего их укладывают на полосы плотного мельничного газа и прошивают. Расстояние между соседними фильтрами должно быть не менее 10 см, чтобы при извлечении конца ленты и забора для исследования 1 - 2 фильтров не нарушать другие; мельничный газ с пробами укладывают на поверхность опытного участка, а затем отбирают пробы для исследования;

б) на поверхности участка в почву на глубину 2 - 3 см вдавливают кювет из металлической сетки так, чтобы края его были на 2 - 3 мм выше ее поверхности. Кювет засыпают исследуемой почвой и обсеменяют яйцами гельминтов (из расчета не менее 1000 на 1 кв. см). И в том, и в другом случае пробы для исследования отбирают: весной и осенью 1 раз в 10 суток, летом через каждые 3 - 5 суток, зимой 1 раз в месяц.

При изучении сроков выживаемости яиц гельминтов в почве на разных глубинах (5, 10, 20, 40, 60 см) закладку их целесообразно проводить в специальных пробах.

В опытах применяют яйца тех видов гельминтов, которые представляют наибольшую эпидемиологическую опасность в данной местности. Если нужно установить максимальные сроки выживаемости яиц гельминтов, целесообразно ставить опыты с яйцами аскарид. При этом могут быть использованы как яйца *A. lumbricoides*, так и *A. suum*, полученные из рогов матки аскариды, прилегающих к вагине не далее 1 - 1,5 см, а также из фекалий с высокой интенсивностью инвазии (не менее 2 - 3 яиц гельминтов в поле зрения).

Получение чистой взвеси яиц аскарид: порцию фекалий (объемом в столовую ложку) помещают в центрифужную пробирку объемом 150 - 250 мл (лучше в пробирку объемом 250 мл) и заливают водопроводной водой (30 - 120 мл), после чего смесь тщательно размешивают палочкой до образования гомогенной массы и центрифугируют в течение 2 - 3 мин. при скорости 800 об./мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют такую же порцию чистой воды; смесь снова размешивают и центрифугируют.

Промывание повторяют не менее 2 - 3 раз. Затем к осадку добавляют насыщенный раствор натрия хлорида (плотность 1,2), смесь размешивают, всплывшие крупные частицы снимают, а смесь центрифугируют 2 - 3 мин. и петлей с поверхности раствора снимают пленку. Эти операции повторяют

до тех пор, пока в контрольной капле, взятой на предметное стекло, будут попадаться лишь единичные яйца гельминтов. Затем начинают второй этап - выделение яиц гельминтов из слабого раствора соли.

Содержимое сосудов отстаивают в течение 2 - 3 ч, после чего надосадочную жидкость сливают, а осадок фильтруют через 4 - 5 слоев марли или мелкоячеистую сетку на часовые стекла диаметром 10 - 15 см. Легкими круговыми движениями производят закручивание осадка к центру часового стекла, а оставшуюся по периферии жидкость отсасывают пастеровской пипеткой с резиновой грушей. На часовые стекла добавляют небольшое количество воды, смесь снова размешивают и закручивают к центру стекла: такую операцию повторяют до тех пор, пока на стекле не будет чистая взвесь яиц гельминтов. Контроль чистоты взвеси яиц гельминтов проводят под микроскопом. Полученную чистую взвесь переносят в стеклянные бюксы с крышкой, этикетировывают и помещают на хранение в холодильник.

Приготовление тест-объектов. Для приготовления тест-объектов используют крупные алюминиевые или пластмассовые бигуди, применяемые для завивки волос. Такой каркас удобен тем, что со всех сторон доступен для почвенного воздуха, влаги, почвы; кроме того, он может долго пролежать в земле, а при выкапывании предохраняет пробу почвы от разрушения. Каркас взвешивают, заполняют исследуемой почвой и снова взвешивают, по разности полученных показателей определяют массу почвы.

Через отверстия в бигуди в почве делают несколько углублений (в разных местах), в которые вносят с помощью пипеток необходимое количество капель раствора с взвесью яиц гельминтов так, чтобы на 1 г почвы их приходилось не менее 1000. Среднее количество яиц гельминтов в одной капле определяют следующим образом: на предметное стекло наносят 5 - 10 капель хорошо перемешанной взвеси. Под микроскопом подсчитывают их количество в каждой капле, суммируют и делят на число капель.

Необходимое для внесения в тест-объект количество капель взвеси определяют по формуле:

$$n = (P_1 - P_0) \times 1000/K,$$

где:

$n$  - число капель суспензии из яиц гельминтов;

$P_0$  - масса упаковки-контейнера без почвы;

$P_1$  - масса упаковки с почвой;

$K$  - среднее число яиц гельминтов в 1 капле;

1000 - содержание яиц гельминтов в 1 г почвы после обсеменения.

После внесения взвеси яиц гельминтов углубления в каркасе заполняют почвой. Тест-объекты заворачивают в мельничный газ, после чего к нему прикрепляют проволоку длиной на 5 - 10 см больше глубины закладки их в почву. После помещения тест-объектов в почву на концах проволоки, выведенных наружу, устанавливают опознавательные знаки. Лучше всего пробы (тест-объекты) готовить в лаборатории и хранить до постановки опыта в холодильнике.

Для закладки тест-объектов на выбранных участках выкапывают ямы шириной 1,0 - 1,2 м. Длину их рассчитывают в каждом конкретном случае отдельно (в зависимости от количества испытуемых проб). На дно ям укладывают пробы (тест-объекты) на расстоянии 20 - 30 см друг от друга; ямы засыпают сначала той почвой, которая выбрасывалась последней при копке ям; на поверхности полученных грядок устанавливают опознавательные знаки.

Количество тест-объектов должно быть рассчитано на длительный период наблюдения (7 - 10 лет), выемку их для исследования производят в зависимости от климата, характера почв и глубины закладки - не реже 1 раза в месяц при исследовании тест-объектов с глубины до 20 см и не реже 1 раза в квартал при более глубоких закладках. Учитывая, что тест-объекты для исследования можно забирать (для средней полосы России) только с апреля по октябрь, т.е. в течение 7 месяцев, легко подсчитать число тест-объектов, необходимых для закладки на ту или иную глубину (на глубину 5, 10, 20 см в среднем 49 - 70 штук; на глубину 40 и 60 см - 21 - 30 штук).

По опознавательным знакам определяют места нахождения тест-объектов, выкапывают ямы размером 30×30 см так, чтобы между стенкой ямы и ближайшим тест-объектом был оставлен слой почвы не менее 10 см. Изъятые из почвы тест-объекты помещают в пакеты из бумаги или полиэтилена и доставляют в лабораторию для исследования. При определении стадии развития или признаков деформации в каждом опыте необходимо просматривать не менее 100 - 200 яиц гельминтов.

Для изучения сроков развития и выживаемости личинок анкилостомид и стронгилид в почве рекомендуется следующая методика: фекалии, содержащие яйца анкилостомид, смешивают с почвой в пластмассовых кюветах (на дне которых просверлены отверстия; последние помещают в почву экспериментальных участков на 7 - 10 дней и ведут ежедневно отбор проб обсемененной почвы для исследования по методу Бермана. Поиск проводят до тех пор, пока вылупившиеся из яиц личинки не достигнут инвазионной стадии, а затем погибнут.

16.1.2. Вода как среда обитания возбудителей паразитозов. Для изучения сроков выживаемости яиц гельминтов в воде несколько капель насыщенной взвеси их (не менее 1000) наносят пипеткой на планктонные фильтры, сложенные воронками. Для устойчивости воронки помещают в штатив из небольшой картонной крышки, в которой сделаны ячейки. После внесения яиц края воронок загибают и вместе с этикетками, указывающими даты и номера опытов, помещают по 2 - 3 экземпляра в стеклянные трубки. Наиболее удобными являются трубки длиной около 7 см, диаметром 2 см с небольшими раструбами, за которые с обеих сторон закрепляют сатин при завязывании отверстий трубок.

В металлическую сетку заворачивают по 3 - 4 трубки и на капроновом шнуре опускают в воду. Если пробы намечено поставить в местах с быстрым течением воды, для удержания проб на необходимой глубине к сетке подвешивают дополнительный груз. Серия из 3 - 4 трубок, связанных вместе, составляет 1 опыт. Часть трубок подвешивают у дна, остальные - на различном расстоянии от него. Для просмотра берут по 1 трубке из каждого опыта. Подсчитывают не менее 200 яиц, смытых с фильтра на предметное стекло.

16.1.3. Твердые поверхности как среда обитания возбудителей паразитозов. Яйца гельминтов (не менее 1000) наносят непосредственно на исследуемые поверхности (в т.ч. овощей, плодов и пр.). Сроки их нахождения на поверхностях определяют временем роста последних. Опытные поверхности помечают, а через определенные временные интервалы смывы с них забирают на исследование, помещают на фильтр. С мягкой поверхности (овощи) пробу отбирают скальпелем на фильтр и помещают во влажную камеру для развития их в оптимальных лабораторных условиях.

Наблюдения показали, что яйца гельминтов на овощных поверхностях, не защищенных листьями, смываются дождем. Поэтому взвесь яиц гельминтов целесообразно помещать на фильтрах, которые с помощью ниток крепко фиксируют на поверхности овощей. Для исследования берут не менее 3 фильтров, в каждом из них просматривают не менее 200 - 300 яиц гельминтов, определяя их стадию развития или признаки деформации.

## 16.2. Выживаемость цист кишечных простейших в различных условиях окружающей среды

16.2.1. Почва как среда обитания простейших. Для проведения экспериментальных исследований по изучению сроков выживаемости цист патогенных кишечных простейших следует использовать цисты лямблий. При наличии одинаковых микроклиматических условий в окружающей среде, цисты лямблий не отличаются по своей устойчивости от таковой цист дизентерийных амёб. Цисты лямблий выделяют из фекалий больных людей методом механического обогащения.

Для проведения опытов из взвеси цист лямблий готовят специальные тест-объекты: на мембранные фильтры № 4 или 6 наносят 0,2 мл взвеси, содержащей не менее 4 - 5 тысяч жизнеспособных цист. Фильтры складывают по типу конверта и помещают в капроновые мешочки размером 3×2,5 см, которые вкладывают в среднюю, нижнюю и верхнюю части перфорированных алюминиевых трубок длиной 10 см, диаметром 2×2,5 см, содержащих почву с подопытных участков. Трубки с пробами цист кишечных простейших размещают на расстоянии 8 - 10 см друг от друга в алюминиевой сетке сечением 30×50 см и высотой 7 - 10 см, которая предварительно заполняется почвой с подопытного участка. Сетку закапывают в почву на такую глубину, чтобы верхний конец алюминиевых трубок находился на уровне поверхности почвы. Сетку засыпают сверху тонким слоем почвы подопытного участка.

Трубки с пробами цист кишечных простейших вынимают из почвы и доставляют в лабораторию для исследования 1 раз в неделю. Извлеченные из трубок капроновые мешочки ополаскивают чистой водой. Жизнеспособные и погибшие цисты кишечных простейших, содержащиеся на мембранных фильтрах, могут быть идентифицированы под люминесцентным микроскопом при помощи акридинового оранжевого. На предметное стекло наносят каплю 0,1 - 0,2 %-ного водного раствора акридинового оранжевого и делают отпечаток с развернутого фильтра, извлеченного из капронового мешочка. Тщательно смывают красителем с фильтра взвесь цист. Полученную на предметном стекле смесь накрывают покровным стеклом и спустя 30 - 45 мин. исследуют под люминесцентным микроскопом.

У живых цист наблюдается свечение оранжевым цветом оболочки, а цитоплазма не прокрашивается. Цитоплазма и оболочка у погибших цист окрашивается в красный или красно-оранжевый цвет.

При отсутствии в лаборатории люминесцентного микроскопа идентификацию жизнеспособных и нежизнеспособных цист кишечных простейших осуществляют под световым микроскопом в препаратах, окрашенных акридиновым оранжевым. Препараты готовят в этом случае по той же методике, что и при люминесцентной микроскопии. Под световым микроскопом жизнеспособные цисты кишечных простейших остаются неокрашенными, а мертвые приобретают желтую окраску.

Для определения соотношения между жизнеспособными и нежизнеспособными цистами достаточно подсчитать их число в 3 - 5 рядах покровного стекла. Число жизнеспособных и погибших цист, содержащихся в исследуемой пробе, определяют по формуле:

$$X = A \times B \times D,$$

где:

$X$  - число живых или погибших цист соответствующего вида кишечных простейших, содержащихся в пробе;

$A$  - число цист, обнаруженных в 1 ряду под покровным стеклом;

$B$  - число рядов покровного стекла, которое было использовано для подсчета цист;

С - число капель в 1 мл смыва;

Д - объем смыва с мембранного фильтра (мл).

О динамике отмирания цист судят по изменению количественного соотношения между жизнеспособными и погибшими цистами.

16.2.2. Сточные воды как среда обитания простейших. Первый этап приготовления тест-объектов в мембранных фильтрах, вложенных в капроновые мешочки, остается таким же, как и при определении сроков выживаемости цист кишечных простейших в почве. Затем мешочки перевязывают сверху нитками и погружают в пробирки высотой 10 - 15 см, диаметром 2 см. В пробирки наливают изотонический раствор натрия хлорида для предупреждения гибели цист до момента погружения пробирок в сточную воду. Для того, чтобы предупредить всплывание в пробирке мешочков с пакетиками исследуемого материала, в них вкладывают кусочки гранита величиной с фасоль. Пробирки с исследуемым материалом помещают в перфорированные жестяные банки, к которым прикрепляется тонкая медная проволока. Перед погружением банок в исследуемую сточную воду изотонический раствор натрия хлорида из пробирок удаляют. Банки с пробками фиксируют при помощи проволоки в условиях опытной канализационной установки. Пробы для исследования извлекают 1 раз в неделю и обрабатывают по той же методике, что и почву.

16.2.3. Твердые поверхности как среда обитания простейших. Обогащенную взвесь цист кишечных простейших объемом 0,2 мл наносят тонким слоем на поверхность опытных образцов, которые помещают в емкости, позволяющие активно регулировать температуру и относительную влажность воздуха. В качестве таких емкостей можно использовать термостат и холодильник, необходимая температура в которых устанавливается при помощи терморегуляторов. Обеспечение необходимой влажности воздуха достигается путем помещения в указанные емкости соответствующего количества чашек Петри с дистиллированной водой, в которой увлажняются полоски из марли. Выживаемость цист целесообразно изучать при температуре 2 - 6 °С и 18 - 27 °С, относительной влажности воздуха 40 - 65 % и 80 - 100 %. Определение температуры и относительной влажности воздуха производят при помощи термовлагодарометра БМ-2.

Жизнеспособность цист определяют при помощи методов витального окрашивания и люминесцентной микроскопии.

Для того, чтобы установить предельные сроки выживаемости и интенсивность гибели цист кишечных простейших на поверхности опытных образцов, изготовленных из стекла, на изучаемую взвесь цист наносят через определенные промежутки времени каплю 0,1 %-ного водного раствора эозина или 1 каплю 0,1 - 0,2 %-ного водного раствора акридинового оранжевого, тщательно растирают в ней исследуемую взвесь, покрывают покровным стеклом и просматривают приготовленные препараты соответственно при помощи светового или люминесцентного микроскопа. При изучении выживаемости цист кишечных простейших на опытных образцах, изготовленных из светонепроницаемых материалов (металлы, дерево, полимеры, картон и др.) исследуемую взвесь цист вначале тщательно смешивают на поверхности опытного образца с водным раствором соответствующего красителя, затем каплю этой взвеси переносят на предметное стекло, покрывают ее покровным стеклом и анализируют под световым или люминесцентным микроскопом. В препаратах, окрашенных раствором эозина, жизнеспособные цисты кишечных простейших остаются неокрашенными, а мертвые приобретают розовую окраску. Характер окраски живых и погибших цист при применении акридинового оранжевого под световым и люминесцентным микроскопом такой же, как и при определении их жизнеспособности в почве.

# 17. Методы испытания и отбора препаратов для дезинвазии

## 17.1. Изучение овицидной активности различных средств

Основными условиями экспериментальной работы по определению овицидной активности химических препаратов должны быть: тщательное планирование, последовательность проведения опытов и их серий, выбор оптимальной концентрации химических веществ и экспозиции, оптимальная среда для испытываемого средства, правильное определение жизнеспособности яиц.

Лабораторные опыты проводят в двух сериях. В первой - определяют степень воздействия изучаемых химических веществ на яйца гельминтов на стадии дробления и стадии инвазионной личинки. Во второй серии опытов испытывают только те препараты, которые проявили сильное или выраженное овицидное действие в первой серии.

На стадии подготовки эксперимента устанавливают концентрацию испытываемых препаратов, планируемую экспозицию и стадию развития яиц.

Взвесь яиц гельминтов помещают в чашки Петри (по 600 - 800 в каждой) или бюксы. Начинают испытание препарата при 3 %-ном разведении и экспозиции 30 мин. После этого яйца гельминтов отмывают водой вручную не менее 5, а с помощью центрифуги - не менее 2 раз. В контроле яйца гельминтов находятся в воде. Затем взвесь яиц гельминтов центрифугируют и выдерживают в термостате, меняя воду через каждые 2 - 3 суток. Жизнеспособность яиц (не менее 300) определяют через 15 - 20 суток общепринятыми методами. При выявлении эффективных овицидов исследования с ними повторяют, но уже в меньших концентрациях и, соответственно, экспозициях.

Во второй серии опытов испытывают выявленные эффективные препараты на яйца гельминтов в фекалиях. На дощечку (дерево, цемент) размером 10×15 см наносят 0,5 г фекалий, обсемененных яйцами гельминтов (5 яиц на 1 куб. см). Рабочие растворы или эмульсии испытываемых веществ наносят на дощечки с помощью пульверизатора из расчета 1 л/кв. м. Контрольные дощечки поливают водой. Исследования наиболее часто проводят при экспозиции от 30 до 180 мин. Затем фекалии собирают, промывают водой, выделяют яйца гельминтов и культивируют их в термостате. После определения их жизнеспособности устанавливают эффективность испытываемого средства.

Перед тем, как перейти к дальнейшей апробации выявленных овицидов определяют их токсичность и коррозионную активность.

Степень овицидного действия испытываемых соединений оценивают по результатам 1 серии опытов: все химические вещества делят на 3 группы (обладающие сильными, выраженными и слабыми овицидными свойствами, то есть высокой, средней и слабой эффективностью). К овицидам с высокой эффективностью относят соединения, которые в наиболее приемлемых концентрациях вызывают гибель всех яиц гельминтов; ко вторым - соединения, убивающие свыше 50 % яиц; к третьим - соединения, вызывающие гибель менее 50 % яиц гельминтов. Критерий экспозиции предусматривается в пределах 30 мин.

Во 2-й серии опытов экспозиция увеличивается до 60 мин.

В производственных условиях оценку препаратов проводят по результатам дезинвазии помещений. Производственные опыты осуществляют в микроочагах гельминтозов. Составляют план-схему, в которой предусматривают место и количество обрабатываемой площади, концентрацию и норму

расхода рабочего раствора препарата, экспозицию, количество проб почвы, которое необходимо взять до и после обработки объекта.

Дезинвазию оценивают высокоэффективной в том случае, если овицидный эффект (ОЭ) достигает 90 - 100 %; удовлетворительной, если ОЭ равен 60 - 90 %; неудовлетворительной, если ОЭ менее 60 %. В данной оценке за основные критерии принимают допустимые концентрации препарата и экспозицию в пределах 3 ч.

Лабораторные опыты по определению эффективности обработки почвы овицидами проводят в нескольких сериях. В первой серии используют деревянные ящики шириной 20 см, длиной 45 - 60 см, глубиной 20 - 30 см. Дно и стенки ящиков имеют отверстия, а внутри они разделены на секции, предназначенные для разных экспозиций испытуемых препаратов. В контроле используют отдельный ящик. Почву разных видов помещают в ящики послойно (15, 10, 5, 1 см), закладывают пробы яиц на стадии дробления и отдельно на стадии инвазионной личинки (в каждой пробе не менее 1000 яиц). Взвесь яиц гельминтов вносят на полоски фильтровальной бумаги и вокруг нее в почву, огражденную проволочным каркасом. Через 1 - 3 суток на опытные участки вносят рабочий раствор препарата, а на контрольные - воду. Первоначально испытывают 3 %-ный раствор препарата при норме расхода 4 л/кв. м и экспозиции 1, 3, 5 суток. Затем эти пробы извлекают, отмывают от препарата (не менее 5 раз). Выделенные из проб яйца гельминтов культивируют в термостате (24 - 26 °С). Жизнеспособность их определяют через 15 - 20 суток общепринятыми методами. По результатам этих исследований оценивают овицидную эффективность препарата. Опыт повторяют, используя раствор другой концентрации и экспозиции.

Следующую серию опытов осуществляют с активными овицидами по такой же методике, но в почву при этом закладывают пробы фекалий, обсемененные яйцами гельминтов (извлеченные из концевых отделов маток гельминтов или полученные из фекалий зараженных животных). У наиболее перспективных овицидов определяют токсические и коррозионные свойства.

Полевые и полупроизводственные опыты проводят в условиях, исключающих доступ животных и людей. Составляют схему опытов. В первой серии исследования проводят на рыхлой почве, во второй - на твердой, в третьей - на рыхлой и твердой, но после внесения препарата. Поверхность объекта покрывают пленкой. Во всех сериях опытов участок делят на секции в зависимости от экспозиции. Последующую работу проводят так же, как в лабораторных условиях.

Оценку степени эффективности овицидных средств в почве проводят так же, как и препаратов, испытываемых на твердых поверхностях. Различия обусловлены особенностями объекта обеззараживания и свойствами испытуемого средства. Препарат оценивается по его способности вызывать гибель зародышей гельминтов в различных слоях почвы. С этим же связано и увеличение экспозиции опыта.

## 17.2. Определение овицидной и ларвицидной эффективности различных средств

Эффективность воздействия химических и других средств на яйца и личинки гельминтов рассчитывается по результатам экспериментов по формуле Симонова А.П.:

$$ОЭ = 100 - (a_1 \times c_1 / a_2 \times c_2) \times 100 - (P_1 - P_2) / n,$$

где:

ОЭ - овицидная эффективность препарата (в %);

$a_1$  - количество живых яиц гельминтов в опыте;

$a_2$  - количество живых яиц гельминтов в контроле;

$c_1$  - количество яиц, взятых для определения их жизнеспособности, в опыте;

$c_2$  - количество яиц, взятых для определения их жизнеспособности, в контроле;

$P_1$  - процент погибших яиц в опыте;

$P_2$  - процент живых яиц в опыте;

$n$  - количество яиц во взвеси, взятой для испытания в опыте.

### 17.3. Изучение протистоцидной активности различных соединений

Необходимые для исследования концентрации водных растворов испытуемых веществ готовят по методу серийных разведений в серологических пробирках. К 1 мл каждого разведения добавляют по 0,1 мл обогащенной взвеси цист соответствующего вида кишечных простейших. О минимальной протистоцидной дозе испытуемого вещества судят по концентрации водного раствора, вызывающей гибель 100 % цист в течение 1 - 2 ч.

Наблюдение за сроками выживаемости цист кишечных простейших в водных растворах испытуемых веществ осуществляют в течение 30 суток. В первые сутки осадок микроскопируют ежедневно, а затем 1 раз в сутки. Жизнеспособность цист простейших после приготовления из них препаратов определяют через различные промежутки времени при помощи люминесцентной микроскопии. В качестве люминофора применяют водный раствор акридинового оранжевого в разведении 1:500 - 1:1000. В препаратах, подвергшихся воздействию химических веществ, окрашенных водным раствором акридинового оранжевого, у жизнеспособных цист кишечных простейших оболочка слегка окрашивается в оранжевый цвет, цитоплазма остается неокрашенной и имеет темноватый оттенок. У погибших цист цитоплазма и оболочка имеют красный цвет. У дегенерирующих цист цитоплазма темно-салатного цвета, ядра ярко-салатные, четко выделяющиеся на фоне цитоплазмы.

Результаты изучения протистоцидной активности химических и других соединений используют при определении эпидемической значимости того или иного фактора передачи и разработке способов обезвреживания от цист патогенных кишечных простейших различных объектов окружающей среды.

#### **Заключение**

Широкое распространение паразитарных болезней среди людей и животных способствует интенсивному обсеменению окружающей среды их возбудителями (яйцами аскарид, власоглавов, токсокар, онкосферами тениид, цистами амёб, лямблий, балантидиев, ооцистами криптоспоридий и др.). Возбудителей инвазий обнаруживают в почве, воде, предметах обихода, овощах, столовой зелени (абиотическая среда), в организмах окончательных, промежуточных и дополнительных хозяев (биотическая среда).

Выявление возбудителей паразитозов (яиц и личинок гельминтов, цист кишечных патогенных простейших) - наиболее точный показатель санитарно-эпидемиологического неблагополучия (фекального загрязнения) объектов окружающей среды, представляющий значительный интерес для эпидемиологов и санитарных врачей. Поэтому наряду с бактериологическими, химическими, вирусологическими обязательно и санитарно-паразитологические исследования объектов окружающей

среды. Санитарно-паразитологический контроль за состоянием среды обитания человека является важной составной частью профилактической работы органов и учреждений здравоохранения.

Санитарно-оздоровительные и профилактические мероприятия с обеззараживанием источников инвазии и строгим лабораторным контролем за работой сооружений по подготовке питьевой воды, очистке сточных вод и животноводческих стоков, обезвреживанием нечистот, осадков сточных вод перед сбросом в поверхностные водоемы или на поля для удобрения и орошения сельскохозяйственных культур в современных условиях являются ведущими в обеспечении санитарно-эпидемиологической безопасности среды обитания человека.

Лабораторный санитарно-паразитологический контроль является основным и часто единственным способом установить степень риска заражения населения возбудителями гельминтозов и кишечных протозоозов. На основе анализа показателей степени загрузки объектов окружающей среды инвазионным материалом, динамики инвазированности и заболеваемости населения, пораженности эпидемически значимых групп животных прогнозируются направленность и условия изменения риска заражения населения как по отдельным инвазиям, так и по группам паразитозов.

Результаты лабораторных санитарно-паразитологических исследований позволяют оценивать обсемененность окружающей среды возбудителями паразитозов, риск новых заражений, прогнозировать заболеваемость населения и, на основе этого, планировать санитарные, противоэпидемические и лечебно-профилактические мероприятия, а также контролировать их эффективность.

## Список литературы

1. Василькова З.Г. Методы гельминтологических исследований. - М.: Медгиз, 1955. - 228 с.
2. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования окружающей среды. - М.: Росагропромиздат, 1991. - 145 с.
3. Романенко Н.А. Санитарная гельминтология. - М.: Медицина, 1982. - 120 с.
4. Романенко Н.А., Гафурова З.М. Осадок сточных вод. Паразитологическая характеристика. Методы обеззараживания и использования в сельском хозяйстве//Матер. конф. "Почва, отходы производства и потребления: проблемы охраны и контроля". - Пенза, 1996. - С. 7 - 10.
5. Романенко Н.А., Падченко И.К., Чебышев Н.В. Санитарная паразитология. - М.: Медицина, 2000. - 320 С.
6. Гузеева Т.М., Моськина О.В., Ключников С.И., Державина Т.Ю.//Матер. конф. "Актуальные аспекты паразитарных заболеваний в современный период". - г. Тюмень, 2008. - С. 64 - 65; С. 70 - 72.