

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель министра,
Главный государственный
санитарный врач

_____ М.И. Римжа

21 января 2008 г.

Регистрационный № 106-1207

**ЭКСПРЕСС-МЕТОД САНИТАРНО-ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «НИИ эпидемиологии и
микробиологии»

АВТОРЫ: д-р биол. наук Л.В. Скрипова, В.Б. Павлюченко

Минск 2008

Инструкция предназначена для паразитологов, врачей-лаборантов по паразитологии санитарно-эпидемиологических учреждений Республики Беларусь, а также лабораторий ведомственных организаций.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

- Дистиллированная вода
- Десорбент – содержимое полиэтиленового пакетика выливают в колбу, промывая, доливают теплой (40-45°) водой до 500 мл
- Концентратор гидробиологический
- Раствор Люголя 1%
- Центрифужная (конусная) пробирка
- Предметные и покровные стекла
- Стеклянные палочки
- Центрифуга ОПН-3
- Микроскоп МБИ для микробиологических исследований

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Осуществление государственного санитарного надзора, а также производственного лабораторного контроля за молочной продукцией.
2. Предупредительный и текущий санитарный надзор.
 - 2.1. Оценка эффективности оздоровительных мероприятий в очагах и микроочагах кишечных паразитозов.
 - 2.2. Контроль за правильным и безопасным использованием на этапах технологической обработки молока.
3. Оценка эффективности обработки молока на предприятиях пищевой промышленности различного типа.

Молоко и молочные продукты могут быть загрязнены яйцами, личинками гельминтов и ооцистами криптоспоридий доярок и других лиц, работающих на фермах, молокозаводах, в сфере переработки, расфасовки и торговли, а также яйцами, личинками гельминтов и ооцистами криптоспоридий коров. В первом случае возбудители паразитозов попадают в молоко с рук персонала. Во втором они попадают с загрязненных сосков и вымени животного. Кроме того, существует лактационный путь выделения возбудителей из организма животного.

Санитарно-паразитологическое исследование молока 1-4% жирности

Для исследования пробу молока в количестве 10 мл разбавляют 10 частями (1:10) дистиллированной или кипяченой воды и опускают в емкость с разбавленным молоком концентратор гидробиологический (КГ) на 5 мин (ритмично меняя глубину погружения – «вверх», «вниз»). После истечения времени КГ в чашке Петри доставляют в лабораторию для исследования.

Содержимое концентратора (собрав со стенок ткани), доставленного на исследование, помещают в мерную, центрифужную пробирку (10 мл). Добавляют 6-8 мл приготовленного десорбента для отделения возбудителей от сорбирующего реагента. Смесь размешивают стеклянной палочкой и оставляют на 15-20 мин. Надосадочную жидкость с отделившимися возбудителями сливают в чистую пробирку. Для осаждения возбудителей добавляют такое же количество дистиллированной воды, размешивают стеклянной палочкой и центрифугируют в течение 5 мин при 1500 об./мин (600g).

Надосадочную жидкость сливают, оставляя 0,5-1,0 мл осадка, и готовят из него препараты на предметных стеклах с раствором Люголя, покрывают покровными и микроскопируют, сканируя всю площадь покровного стекла, с использованием 100-600-кратного увеличения (объективы – 10x, 40x, окуляры – 10x, 15x) сухой оптической системы.

Для исследования молока на ооцисты криптоспоридий осадок, полученный после концентрирования, наносят на предметные стекла, высушивают и проводят окраску. Крашенные мазки микроскопируют, используя масляно-иммерсионный 90-100-кратный объектив или фазово-контрастное микроскопирование.

Метод окраски мазков на криптоспориоз

Реактивы и оборудование

1. Карболовая кислота, водный раствор 5%.
2. Фуксин основной спиртовой 10%.
3. Серная кислота 5% или смесь 10 частей спирта и 1 части соляной кислоты.
4. Метиленовый синий 0,5% водный раствор.
5. Фильтровальная бумага.
6. Предметные стекла.
7. Стеклянные или деревянные палочки.
8. Горелка (спиртовка).
9. Кюветы эмалированные.
10. Мостики стеклянные или «контейнеры» для окраски мазков.
11. Химические стаканчики.
12. Пипетки, стеклянные капилляры.
13. Груши резиновые.
14. Металлические петли.
15. Микроскоп для микробиологического исследования.

Подготовка к работе

Приготовление рабочего раствора краски карболового фуксина: к 10 мл 10% спиртового раствора основного фуксина добавляют 100 мл 5% раствора карболовой кислоты.

Подготовка материала для исследования: из полученного осадка после концентрирования приготовить мазки: – небольшое количество осадка

нанести на предметное стекло, растереть его тонким слоем и высушить мазки на воздухе (не менее 30 мин).

Ход окраски

На препарат кладут кусочек фильтровальной бумаги и наливают раствор карболового фуксина. Препарат нагревают над пламенем горелки до появления паров, охлаждают и снова нагревают (3 раза). Дают остыть, сбрасывают фильтровальную бумагу. Опускают препарат в 5% раствор серной кислоты или солянокислый спирт для обесцвечивания. Обесцвечивают до полного отхождения окраски. Промывают водой. Докрашивают препарат метиленовым синим 3-5 мин. Промывают водой и высушивают на воздухе. Микроскопируют с иммерсионной системой.

Ооцисты криптоспоридий окрашиваются в красный цвет, все остальные микроорганизмы – в синий.

Изображения ооцист криптоспоридий, цист кишечных простейших и яиц гельминтов, определяемых данным методом, представлены на рис..

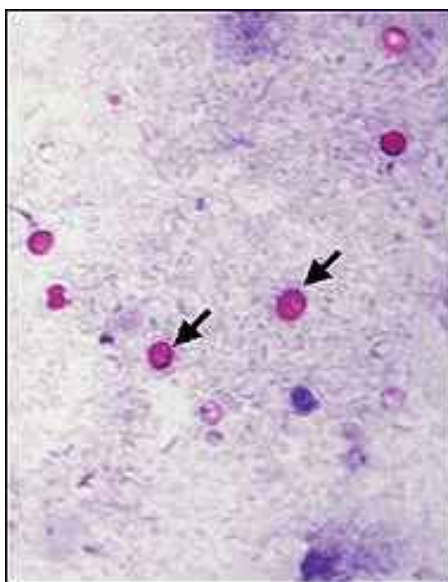


Рис. Окраска на кислотоустойчивость по Цилю – Нильсену (округлые образования, отмеченные стрелками, являются ооцистами *Cryptosporidium*)

Оценка результатов исследования

При микроскопировании подсчитывают число паразитарных патогенов во всем осадке, а ооцист криптоспоридий в мазках, что соответствует их числу во всей исследованной пробе. Отрицательный результат анализа не гарантирует отсутствие паразитарных патогенов в пробе, поэтому результат исследования должен представляться в протоколе термином «не обнаружены». Обнаружение даже одного экземпляра патогена в пробе указывает на эпидемиологическое неблагополучие.