

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ



Главный государственный
гигиенический врач Республики

М.И. Римжа
М.И. Римжа

апрель 2005 г.

Регистр. № 37-0305

**Экспресс-методы индикации возбудителей
паразитарных болезней в плодоовощной продукции**
Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии

Авторы: д.б.н. Скрипова Л.В., Павлюченко В.Б., Веденьков А.Л. (г.Минск)
д.м.н. Романенко Н.А., д.м.н. Сергиев В.П. (г.Москва)

Минск, 2005

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Санитарно-гельминтологические и протозоологические исследования растениеводческой продукции осуществляются согласно Санитарным правилам и нормам «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» (СанПиН 11-63 РБ-98).

2. В настоящей инструкции представлены методы отбора проб и исследования плодоовощной, плодово-ягодной и растительной продукции, а также полуфабрикатов и готовой продукции, выращенных на их основе, на наличие возбудителей паразитарных болезней.

3. Инструкция предназначена для использования в лабораториях, контролирующих качество растениеводческой продукции, организаций здравоохранения, сельского хозяйства, пищевой промышленности, научно-исследовательских учреждений.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Вновь поступающая плодоовощная продукция на продажу.

2. Производственный контроль за выращиваемой продукцией перед реализацией.

3. По эпидемическим показаниям — вне плана, по предписанию центров гигиены и эпидемиологии.

РЕАКТИВЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Дистиллированная вода.

2. Раствор № 1 — 5% NaHCO_3 .

3. Раствор № 2 — 20% HCl (концентрированная) или 15% CH_3COOH (уксусная ледяная кислота).

4. Раствор Люголя 1%.

5. Концентратор гидробиологический.

6. Десорбент (содержимое полиэтиленового пакетика выливают в колбу, промывая, доливают теплой водой (40–45° С) до 500 мл).

7. Нить капроновая или леска.

8. Центрифужная (конусная) пробирка.

9. Предметные и покровные стекла.

10. Стекланные палочки.

11. Центрифуга (ОПН, ЦЛС-31М со сменным ротором с гнездами для пробирок объемом 10–250 мл).
12. Микроскоп МБИ.
13. Емкости стеклянные, эмалированные, пластиковые (кастрюли, миски, кюветы, узкое ведро (для бахчевых плодов)).
14. Дуршлаг.
15. Ножницы.
16. Пинцет анатомический.
17. Шпатель.
18. Штативы лабораторные.
19. Весы лабораторные.
20. Цилиндры измерительные.
21. Колбы 2-100, 2-1000.

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ПЛОДООВОЩНОЙ ПРОДУКЦИИ

Санитарно-паразитологический метод исследования овощей, фруктов, плодов бахчевых культур

Пробу с овощами, фруктами, плодами бахчевых культур закладывают в чистый дуршлаг, помещенный в стеклянную, эмалированную или пластиковую емкость (кастрюля, миска, кювета, узкое ведро (для бахчевых плодов)). Заполняют ее раствором № 1 в количестве 1,5–2,0 л (с таким расчетом, чтобы исследуемый материал был полностью погружен в раствор), встряхнув, оставляют на 20 мин. Затем добавляют соответственно 75,0–100,0 мл раствора № 2, встряхнув, оставляют на 5 мин. После отстаивания дуршлаг с овощами и фруктами удаляют из смеси растворов. Через 5 мин оставшийся раствор (1,5–2,0 л) энергично взбалтывают, разливают в центрифужные стаканы емкостью 80–100–250 мл и центрифугируют в течение 5 мин при 2000 об./мин. Надосадочную жидкость сливают, из осадка готовят препараты на предметных стеклах с 1% раствором Люголя, покрывают их покровными стеклами и микроскопируют, сканируя всю площадь покровного стекла, с использованием 100–600-кратного увеличения (объективы — 10×, 40×, окуляры — 10×, 15×) сухой оптической системы.

Для исследования на ооцисты криптоспоридий осадок наносят на предметные стекла, высушивают и проводят окраску по Циллю — Нильсену. Крашенные мазки микроскопируют, используя масляно-иммерсионный 90–100-кратный объектив или фазово-контрастное микроскопирование.

**Санитарно-паразитологический метод исследования
овощей, фруктов, столовой зелени, бахчевых плодов и ягод
(земляника, клубника, малина, смородина, крыжовник)**

Пробу закладывают в чистый дуршлаг, помещенный в стеклянную, эмалированную или пластиковую емкость (кастрюля, миска, кювета, узкое ведро (для бахчевых плодов)). Ее заполняют раствором № 1 в количестве 1,5–2,0 л (с таким расчетом, чтобы исследуемый материал был полностью погружен в раствор), встряхивают и оставляют на 20 мин. Затем добавляют раствор № 2 из расчета 50 мл на 1 л раствора № 1, встряхивают и оставляют на 5 мин. После отстаивания дуршлаг с овощами и фруктами энергично встряхивают и удаляют из смеси двух растворов. Затем в нее помещают концентратор гидробиологический, придерживая за закрепленную к нему нитку, плавным круговым движением, а также вверх и вниз, ритмично, меняя глубину погружения, и собирают со дна емкости осадок. Через 3–5 мин концентратор извлекают.

Концентратор ножницами вскрывают и его содержимое (собрав со стенок ткани) помещают в мерную центрифужную пробирку (10 мл). Добавляют 6–8 мл приготовленного десорбента, размешивают стеклянной палочкой и оставляют на 15–20 мин. Надосадочную жидкость (не выбрасывая!) сливают в чистую пробирку, добавляют такое же количество воды, размешивают стеклянной палочкой и центрифугируют в течение 5 мин при 1500 об./мин (600 g). Затем надосадочную жидкость сливают, из осадка готовят препараты на предметных стеклах с 1% раствором Люголя, покрывают их покровными стеклами и микроскопируют, сканируя всю площадь покровного стекла, с использованием 100–600-кратного увеличения (объективы — 10×, 40×, окуляры — 10×, 15×) сухой оптической системы.

Для исследования на ооцисты криптоспоридий осадок наносят на предметные стекла, высушивают и проводят окраску по Циллю — Нильсену. Крашенные мазки микроскопируют, используя масляно-

иммерсионный 90–100-кратный объектив или фазово-контрастное микроскопирование.

Исследование столовой зелени, травы на наличие личинок гельминтов

Столовую зелень и другую растительную продукцию исследуют на наличие личинок нематод (стронгилоид, анкилостом) по методу Бермана и адолескариев трематод — по методу Горохова. Наибольшее количество личинок стронгилят обнаруживают в прикорневой части в 3–5 см от поверхности почвы.

Метод Бермана

Оборудование: штатив, стеклянная воронка (диаметр — 10 см), металлическое сито, резиновая трубка с зажимом, предметные стекла, стеклянные палочки, чашки Петри, центрифуга, микроскоп.

Ход исследования. Столовую зелень, траву измельчают ножницами. Затем укладывают на сито, находящееся в воронке диаметром 10 см, и на 10 мин заливают 1% раствором NaOH, покрыв целиком содержимое. Пробирки с осадком центрифугируют 2 мин при 1500 об./мин (600 g). Далее верхний слой жидкости сливают, осадок помещают на предметные стекла и микроскопируют.

Метод Горохова

Оборудование: лупа (2-кратного увеличения), препаровальная игла, скальпель, предметные стекла, физиологический раствор (0,9% NaCl).

Ход исследования. Листья и стебли рассматривают с помощью лупы или визуально. Обнаруженные адолескарии отделяют с поверхности листа иглой или скальпелем. Помещают на предметное стекло в каплю физиологического раствора и изучают.

Адолескарий *Fasciola hepatica* представляет собой округлое образование, прикрепившееся к растению, диаметром около 0,3 мм, покрытое двумя оболочками; внутри цисты личинка может свободно двигаться. Под микроскопом видны почти одинаковые по размеру ротовая и брюшная присоски, глотка, два кишечных ствола, продолжающиеся до конца тела, и экскреторный пузырь. Молодые адолескарии — молочно-белого цвета.

Для идентификации личинок паразитических нематод от свободноживущих применяется метод Корта.

Метод Корта

Оборудование: чашки Петри, формалин 40% (аптечный).

Принцип метода заключается в воздействии на личинок нематод формалином. При этом личинки свободноживущих нематод погибают быстрее, чем паразитические. Жидкость с личинками помещают в чашку Петри или на часовое стекло. При добавлении 40% раствора формалина к жидкости (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.

Санитарно-паразитологические методы исследования соков, нектаров, напитков, плодоовощных и плодово-ягодных пюре

Санитарно-паразитологические исследования соков, нектаров, напитков, плодоовощных и плодово-ягодных пюре проводят по эпидемическим показаниям.

Исследование соков, нектаров, напитков

Исследование прозрачных соков проводят с использованием концентратора гидробиологического с предварительным разбавлением пробы дистиллированной водой в соотношении 1:1.

Концентратор гидробиологический помещают в разведенный сок, придерживая пинцетом, плавным круговым движением, а также вверх и вниз, ритмично, меняя глубину погружения. Через 3–5 мин его извлекают и исследуют по вышеописанной методике.

Исследование плодоовощных и плодово-ягодных пюре

Пробу плодоовощных и плодово-ягодных пюре разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:10 и исследуют с применением концентратора гидробиологического (см. Исследование соков, нектаров, напитков).

Отбор проб плодоовощной, плодово-ягодной и растительной продукции для санитарно- паразитологических исследований

1. Пробы для исследования отбирают от каждой партии (партией считается количество плодоовощной и растительной продукции

одного вида, доставленное по одному документу о качестве, транспортной накладной и другим сопроводительным документам).

2. Отбор проб при выращивании в закрытом и открытом грунте осуществляют в период достижения товарного вида (перед началом сбора урожая для массовой реализации). Виды выращиваемой продукции и сроки созревания указывают при паспортизации объекта.

3. Для санитарно-паразитологического анализа отбирают объединенную пробу, состоящую из трех точечных проб от партии или объекта (поле, теплица, овощехранилище, потребительская тара и т.п.) одного вида плодоовощной и/или растительной продукции.

4. Объем объединенной пробы плодов, овощей должен составлять не менее 0,5 кг каждого вида одноименной продукции при количестве продукции в партии от 100 до 500 кг. При партии свыше 500 кг отбирают 0,5 кг с каждых 500 кг продукции (не более 1,5 кг).

5. Объем объединенной пробы столовой зелени, листовых овощей, грибов и других продуктов должен составлять не менее 0,1 кг из каждой потребительской тары. При отборе проб перед реализацией продукции непосредственно на производстве по выращиванию продукции (теплица, поле) отбирают по 0,1 кг с каждых 50 м² объекта методом «конверта» (не более 0,5 кг).

6. Отбор проб капусты, салатов допускается с поверхностных листьев (прикорневых).

7. Отбор проб в виде смыва с поверхности допускается только с наземных плодов и плодов бахчевых культур крупных размеров с гладкой поверхностью (арбузы, тыквы и т.д.).

8. Отбор проб ягодной продукции проводят по 0,2 кг с каждых 100 кг продукции и/или по 2 единицы упаковки (расфасовки) из разных мест транспортной тары (не более 1 кг).

Отбор проб свежих и свежемороженых плодов, ягод, овощей, столовой зелени представлен в табл. 1.

Отбор проб готовой плодоовощной продукции, кулинарных изделий, соков, напитков представлен в табл. 2.

Порядок отбора проб

1. При производственном контроле за выращиваемой продукцией отбор проб производят перед реализацией продукции (торго-

вым, заготовительным организациям, организациям общественно-го питания, поставщикам или непосредственно населению).

2. По эпидемическим показаниям — вне плана, исходя из сложившейся эпидемиологической обстановки на территории, по предписанию центров гигиены и эпидемиологии.

Таблица 1

**Отбор проб свежих и свежемороженных
плодов, ягод, овощей, столовой зелени**

Вид продукции	Объем объединенной пробы для исследования
Столовая зелень: укроп, петрушка, кинза, зеленый лук, сельдерей, лук-перо и т.п.	0,1 кг
Листовые овощи: салаты, шпинат, щавель, капуста салатных сортов, травы, употребляемые в пищу	0,1 кг
Грибы, собранные для реализации из природных биотопов и искусственно выращенные	0,1 кг
Овощи: капуста, кочанный салат и т.п.	С 10–15 экземпляров верхние и прикорневые листья
огурцы, томаты, перец сладкий и т.п.	0,5 кг
картофель, свекла, морковь, лук репчатый и т.п.	0,5 кг
Бахчевые: дыни, арбузы, кабачки и т.п. (с гладкой поверхностью)	Смыв с поверхности 20–25 экземпляров
Плодово-ягодная продукция: яблоки, груши, вишня, слива, авокадо, хурма, инжир, цитрусовые и т.п.	0,5 кг
земляника, клубника, малина и т.п.	0,2 кг
Орехи без скорлупы (очищенные)	0,1 кг или 1–2 единицы упаковки (расфасовки)

Таблица 2

**Отбор проб готовой плодоовощной продукции,
кулинарных изделий, соков, напитков**

Вид продукции	Объем пробы для исследования
Сухие овощи, картофель, фрукты, ягоды (в том числе дикорастущие), грибы	0,1 кг или 1–2 единицы упаковки (расфасовки)
Полуфабрикаты овощные, фруктовые, плодово-ягодные свежие и свежемороженые	0,1 кг или 1–2 единицы упаковки (расфасовки)
Соки, нектары, напитки, концентраты овощные и фруктовые, ягодные, фруктово-ягодные свежееотжатые, реализуемые без хранения	0,1 кг или 1–2 единицы упаковки (расфасовки), или не менее 100 мл
Напитки овощные и фруктовые, ягодные, фруктово-ягодные непастеризованные и без консерванта со сроком годности 30 сут	1 единица упаковки (расфасовки) или не менее 100 мл
Салаты и смеси из свежих, свежемороженых овощей, фруктов, ягод, грибов, столовой зелени и трав	По 0,1 кг каждого наименования

Хранение и доставка проб для исследования

1. Перед доставкой в лабораторию пробы упаковывают в полиэтиленовые пакеты или другую герметично закрывающуюся тару (контейнеры и др.), снабжают этикеткой и сопроводительными документами (акт отбора проб, направление на исследование), в которых указывают:

- наименование организации (юридического лица, индивидуального предпринимателя), поставщика;
- дату и час отбора пробы;
- вид продукции;
- должность и подпись представителя, отобравшего среднюю пробу;
- подпись лица, работающего в организации, в присутствии которого отобрана проба;
- показатели, которые должны быть определены в продукте.

2. До исследования пробы свежей продукции хранят в холодильнике при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ в доставленной упаковке или в полиэтиленовых пакетах. Срок исследования зависит от объема проб, но не более 10 сут.

3. Свежемороженую продукцию хранят при температуре морозильной камеры (повторное размораживание не допускается) в соответствии с видом продукта и/или маркировкой на этикетке.

4. Доставленные пробы готовой продукции (соки, напитки, и т.п.) хранят в соответствии с видом продукта и/или рекомендациями изготовителя, обозначенными на этикетке.

5. Кулинарные изделия из сырых овощей и фруктов, салаты и другие полуфабрикаты хранению не подлежат. Их исследуют в день доставки в лабораторию.