

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТРИХИНЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

1. Общие положения.
2. Взятие и пересылка материала для исследования.
3. Микроскопическое исследование (компрессорная трихинеллоскопия).
4. Биохимическое исследование (трихинеллоскопия после искусственного переваривания мышц).
5. Оценка результатов.
6. Дифференциальная диагностика.

Приложение 1.

Приложение 2.

МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента
ветеринарии Минсельхозпрода России

В.М.Авилов

ДЕПАРТАМЕНТ ВЕТЕРЕНАРИИ

28.10.98г. №13-7-2/1428

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по лабораторной диагностике
трихинеллеза животных

1. Общие положения.

1.1. Трихинеллез - опасный антропозоогельминтоз, вызываемый трихинеллами двух видов: *trichinella spiralis* и *trichinella pseudospiralis*, протекает остро и хронически. Весь цикл развития обоих видов проходит в организме одного хозяина - половозрелая стадия локализуется в кишечнике, личиночная - в мышечной ткани.

1.2. Трихинеллезом болеют свины, кабаны, медведи, другие всеядные и плотоядные (собаки, волки, лисы), морские млекопитающие (киты, тюлени, моржи), насекомоядные, грызуны и другие животные.

1.3. Обязательному исследованию на трихинеллез подлежат: туши, полутуши, четвертины свиней (кроме поросят до 3-недельного возраста), кабанов, барсуков, медведей, всеядных и плотоядных животных, а также нутрий.

1.4. При послеубойной диагностике трихинеллеза используют два метода исследования: микроскопический (компрессорный) и биохимический (метод переваривания), прижизненную диагностику осуществляют методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Мясо и субпродукты животных (имеющие мышечную ткань) исследуют микроскопическим или биохимическим методами.

Шпиг (с наличием мышечных прослоек) исследуют только микроскопическим методом.

Исследование копченостей, импортной свинины в блоках (при выборочном контроле) и других видов продукции проводят только

биохимическим методом.

Диагноз на трихинеллез ставят на основании результатов лабораторных исследований.

2. Взятие и пересылка материала для исследования.

2.1. Для исследования отбираются пробы из ножек диафрагмы (на границе перехода мышечной ткани в сухожилие), при их отсутствии – части межреберных, шейных, жевательных, поясничных, икроножных мышц, сгибателей и разгибателей пясти, а также мышцы языка, пищевода и гортани; от туш морских млекопитающих – мышцы кончика языка и глаза.

Масса пробы от каждой группы мышц должна быть не менее 5г, а общая масса пробы от одного животного должна составлять не менее 25 г.

2.2. Пробы шпига соленого, копченого (при наличии прирези или прослоек мышечной ткани) отбирают от каждого куска, масса пробы должна быть не менее 25 г.

2.3. Пробы копченостей отбирают от 3% упаковочных единиц, делая по 10–15 выемок из каждой упаковочной единицы, из которых составляют объединенную пробу.

2.4. Субпродукты свиные (языки, головы, ножки, хвосты) при отсутствии ветеринарного подтверждения об их происхождении от туш, подвергнутых трихинеллоскопии, исследуют следующим образом: от 3% упаковочных единиц берут по 10–15 выемок из каждой и делают объединенную пробу массой не менее 25 г.

2.5. Импортную свинину (в тушах, полутушах) исследуют не менее 10% от партии мяса, пробы берут из остатков ножек диафрагмы или межреберных мышц. Масса пробы мышц от туши, полутуши должна составлять не менее 1г, общая масса пробы для исследования – не менее 25 г.

2.6. Импортную свинину в блоках исследуют не менее 1% от партии мясных блоков, пробы отбирают по 25 выемок (1г каждая) от блока общей массой не менее 25 г.

2.7. Пробы упаковывают во влагонепроницаемую тару и доставляют в лабораторию в день отбора.

3. Микроскопическое исследование (компрессорная трихинеллоскопия) .

3.1. При исследовании мяса и мясопродуктов количество срезов мышечной ткани (от 24 до 96) определяют в зависимости от эпизоотической и эпидемиологической ситуаций территории в соответствии с методическими указаниями "Профилактика гельминтозов, передающихся через мясо и мясные продукты", утвержденными Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 23.09.96 13-7-37 (включенными в СанПиН 3.2.569-96 "Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации", утвержденные Госкомсанэпиднадзором России 31.10.96 43) .

3.2. Из кусочков мышц изогнутыми ножницами по ходу мышечных волокон делают 24 среза величиной с овсяное зерно, которые помещают в середину клеточки компрессориума, накрывают вторым стеклом и закручивают винты, раздавливая срезы так, чтобы они стали прозрачными и удобными для их качественного просмотра.

3.3. Срезы исследуют под малым увеличением (8:10) с помощью соответствующих приборов для трихинеллоскопии (приложение 1) .

3.4. При исследовании шпига из прослоек мышечной ткани (каждого куска) делают 24 среза, помещают в чашку Петри с 0,5 см³ раствора (1%-ный раствор фуксина в 5%-ном растворе едкого натра) на 5–8 мин. Затем срезы размещают в компрессориум и просматривают согласно п.п.3.3.

3.5. При просмотре срезов обнаруживают капсулы с личинками трихинелл, которые могут иметь лимоновидную или округлую формы, внутри капсул расположены одна или несколько спирально свернутых личинок. Личинки бескапсульных трихинелл имеют специфическую конфигурацию расположения в мышечных волокнах и их легче обнаружить по краям срезов мышц и в тканевой жидкости, окружающей срезы. Могут встречаться обызвествленные капсулы. Для их просветления срезы мышц помещают в чашку Петри с 5-10%-ным раствором соляной кислоты. Чашку ставят в термостат при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ на 20-30 мин. Затем срезы переносят на компрессориум и просматривают согласно п.п.3.3.

4. Биохимическое исследование

(трихинеллоскопия после искусственного переваривания мышц).

4.1. При проведении исследования используют искусственный желудочный сок (ИЖС), который готовят по следующей прописи: вода водопроводная температуры $41-42^\circ\text{C}$ - 1000 см³; кислота соляная концентрированная (уд. масса 1,2) - 10 см³; пепсин пищевой свиной (ТУ 10.02.01.111-89) при исследовании свежего мяса и мясопродуктов - 2,0 г, при исследовании соленого, копченого мяса и мясопродуктов, шпига - 10,0 г.

При использовании пепсина медицинского (Временная фармакопейная статья 42-1000-80) дозу увеличивают до 20,0 г.

Искусственный желудочный сок годен для применения в течение 8 ч с момента приготовления.

4.2. При исследовании мяса в тушах, полутушах, четвертинах, блоках, а также копченостях (при выборочном контроле) и других видов продукции количество срезов (массу навески) определяют согласно п.п. 3.1.

4.3. Навеску измельчают в мясорубке с диаметром решетки 3-4 мм, переносят в коническую колбу соответствующей вместимости и заливают ИЖС в соотношении 1:15. Колбу помещают в термостат при температуре $41-42^\circ\text{C}$ и выдерживают 5-7 ч, периодически перемешивая. За 10 мин до окончания переваривания перемешивание прекращают. После окончания переваривания в осадке остаются хлопья коричневого или темно-коричневого цвета.

4.4. Из колбы сливают (осторожно) 2/3 надосадочной жидкости, осадок выливают на капроновое сито (полусферической формы с диаметром ячеек 400 мкм), установленное в стеклянной воронке диаметром 90-120 мм, соединенной резиновой трубкой с пробиркой вместимостью 5 см³.

Залитый осадок отстаивают 15-20 мин, затем резиновую трубку перекрывают зажимом и пробирку отсоединяют. Содержимое пробирки (осадок) переносят по частям на часовое стекло и исследуют под малым (8×10) увеличением микроскопа или трихинеллоскопа на наличие личинок трихинелл.

4.5. Для выделения личинок трихинелл может быть использован метод группового переваривания в аппаратах типа АВТ (приложение 1) согласно действующей инструкции.

5. Оценка результатов.

5.1. Результаты считают положительными, если в образцах исследованной продукции обнаружена хотя бы одна личинка капсульных или бескапсульных трихинелл.

6. Дифференциальная диагностика.

6.1. Капсулообразующих трихинелл необходимо дифференцировать от наиболее часто встречаемых в мясе и мясопродуктах саркоцист (мишеровы мешочки) и микрофинн (приложение 2). Дифференциация основана на морфологии возбудителя и строении капсулы:

6.1.1. Трихинеллы имеют капсулу лимоновидной, округлой формы, внутри

спирально свернутая личинка (или несколько личинок) .

6.1.2. Саркоцисты имеют собственную оболочку цилиндрической или неправильной формы; циста заключена в собственную тонкую оболочку и состоит из камер, внутри которых находятся мерозоиты.

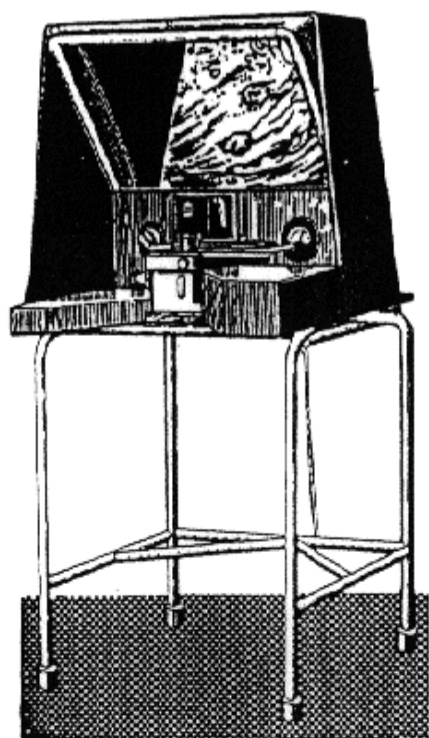
6.1.3. Микрофинны располагаются в отличие от трихинелл между мышечными волокнами, имеют овальную форму и окружены слоистой соединительнотканной оболочкой.

С утверждением настоящих методических указаний на территории Российской Федерации утрачивают силу "Методические указания по лабораторной диагностике трихинеллеза животных", одобренные Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 29.12.85 и "Методика лабораторной диагностики трихинеллеза", утвержденные Главветупром Госагропрома СССР 16.10.86.

Методические указания по лабораторной диагностике трихинеллеза животных разработаны Всероссийским НИИ гельминтологии имени К.И.Скрябина (А.С.Бессонов, А.В.Успенский, Н.В.Шеховцов), Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией (В.А.Седов, В.Д.Певнева), Краснодарской научно-исследовательской ветеринарной станцией (А.Я.Сапунов, О.А.Митникова), Кубанским агроуниверситетом (Б.Л.Гаркави), Управлением ветеринарии г.Краснодара (А.А.Иващенко) .

Приложение 1

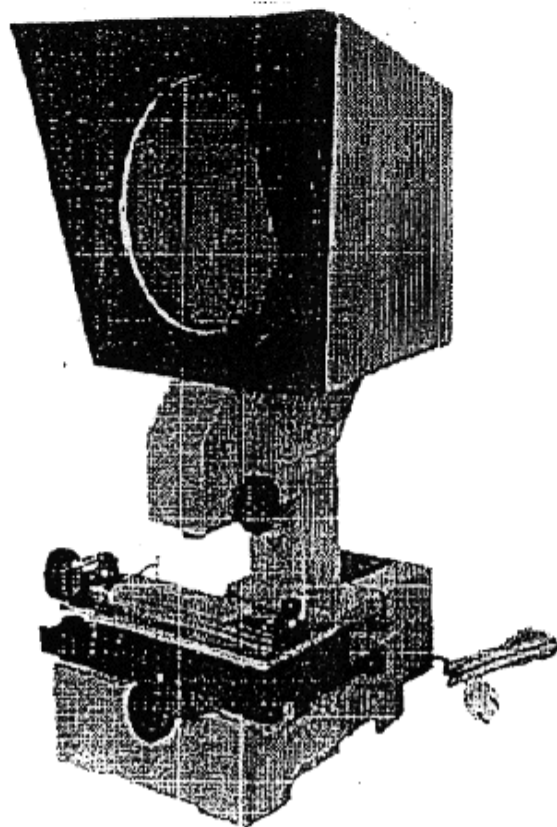
ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ТРИХИНЕЛЛОСКОПИИ



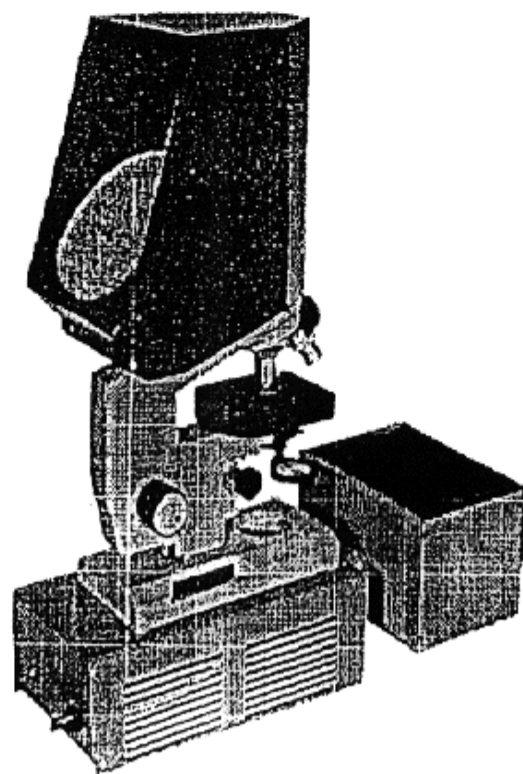
Трихинеллоскоп (ТМП)



Трихинеллоскоп проекционный "Стейк"



Трихинеллоскоп проекционный ТП-1



Насадка проекционная микроскопа НПМ-2

1. Компрессорная трихинеллоскопия

- стационарные и лабораторные проекционные устройства типа ТМП, "Стейк", микроскопы, бинокулярные лупы, устройства для полевой трихинеллоскопии и соответствующее импортное оборудование, прошедшее испытания во Всероссийском НИИ гельминтологии им. К.И. Скрябина;
- компрессоры, ножницы.

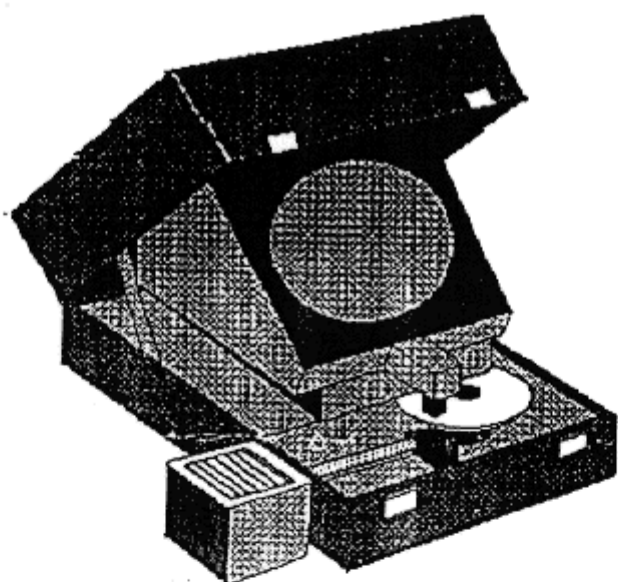
2. Метод переваривания мышечной ткани

2.1. Автоматизированная диагностика

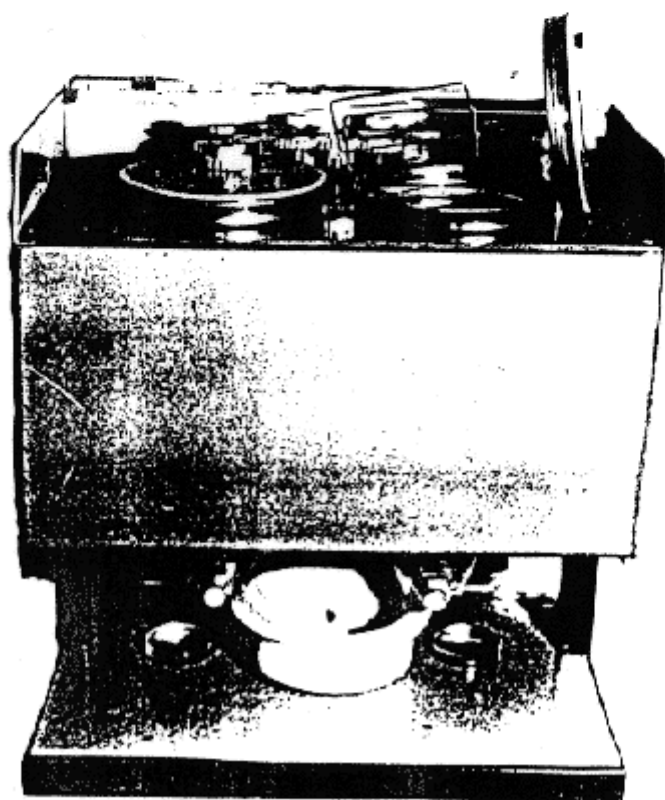
- аппараты для выделения личинок трихинелл методом переваривания мышечной ткани в искусственном желудочном соке АВТ-Л2, АВТ-Л3 и др.

2.2. Лабораторная диагностика

- термостаты, стеклянные колбы.



Трихинеллоскоп проекционный портативный ТПП



Аппарат для выделения личинок трихинелл