ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57782— 2017

Удобрения органические

МЕТОДЫ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Методы определения ооцист и цист простейших

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина» (ФГБНУ ВНИИП им. К.И. Скрябина) и Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт органических удобрений и торфа» (ФГБНУ ВНИИОУ)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 25 «Качество почв и грунтов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 октября 2017 г. № 1383-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2020 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2017, 2020

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Основные положения 2
4 Требования безопасности 3
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы 3
6 Отбор, хранение и транспортирование проб 5
7 Приготовление растворов 6
8 Методы определения наличия ооцист и цист паразитических простейших 7
9 Методы определения количества ооцист и цист простейших в навозе 10
10 Методы определения жизнеспособности ооцист и цист простейших 11
11 Метод установления интенсивности инвазии 11
12 Метод исследования почвы (тепличных грунтов) на наличие ооцист и цист простейших 12
Приложение А (справочное) Результаты паразитологического анализа органических удобрений (почв, грунтов) 13
Библиография 14

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Удобрения органические

МЕТОДЫ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Методы определения ооцист и цист простейших

Organic fertilizers. Methods of parasitological analysis. Methods for determination of oocysts and cysts of parasitic protozoa

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на все виды органических удобрений, производимых на основе отходов животноводства, и устанавливает методы паразитологического анализа возбудителей простейших (ооцист, цист), общих для животных и человека.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2 Селитра аммиачная. Технические условия

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.4.011 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих. Общие требования и классификация

ГОСТ 244 Натрия тиосульфат кристаллический. Технические условия

ГОСТ 490 Кислота молочная пищевая. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3760 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 4168 Реактивы. Натрий азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4174 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4236 Реактивы. Свинец (II) азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4523 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4529 Реактивы. Цинк хлористый. Технические условия

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5789 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 5833 Реактивы. Сахароза. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6259 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6672 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18300 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 18481 Ареометры и цилиндры стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 19126 Инструменты медицинские металлические. Общие технические условия

ГОСТ 21239 Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 22867 Реактивы. Аммоний азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 23932 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26074 Навоз жидкий. Ветеринарно-санитарные требования к обработке, хранению, транспортированию и использованию

ГОСТ 26713 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические условия. Методы испытаний

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Основные положения

3.1 Паразитологический анализ органических удобрений проводят, руководствуясь действующими нормативными документами [1]—[9], по показателям:

- общего количества обнаруженных ооцист и цист паразитических простейших в каждой анализируемой пробе (шт./кг, шт./см^3);

- количества жизнеспособных ооцист и цист паразитических простейших определенных видов в количественном или процентном отношении к общей численности обнаруженных.

3.2 При обнаружении ооцист и цист простейших их жизнеспособность определяют и подтверждают в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

3.3 Классификация органических удобрений по результатам паразитологического анализа:

- удобрения чистые — не содержат жизнеспособных ооцист и цист простейших различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологий и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности;

- удобрения загрязненные — содержат любое количество жизнеспособных ооцист и цист простейших различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологий и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности.

4 Требования безопасности

4.1 Сотрудники, выполняющие работу по отбору, доставке и анализу проб, должны иметь рабочую спецодежду: халаты, фартуки, перчатки, резиновую обувь по ГОСТ 12.4.011. Рабочие халаты подлежат обмену на чистые по истечении каждой рабочей недели. Спецодежду и обувь хранят в шкафах.

Сотрудники должны быть обеспечены средствами и условиями для личной гигиены и обязаны соблюдать санитарно-гигиенические требования.

4.2 Требования безопасности при работе с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007, с электрооборудованием — по ГОСТ Р 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.018.

4.3 Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Работы необходимо проводить в вытяжном шкафу с применением резиновых перчаток.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Шкаф вытяжной.

Холодильник эклектический бытовой, любого класса, позволяющий поддерживать температуру от минус 6 °С до плюс 5 °С, по техническим характеристикам и условиям эксплуатации соответствующий требованиям ГОСТ 16317.

Термостат электрический, позволяющий поддерживать температуру от 50 °С до 60 °С с допустимой погрешностью ± 0,4 °С.

Центрифуга напольная с частотой вращения 1500—2500 об/мин.

Микроскоп биологический, предназначенный для исследования прозрачных препаратов в проходящем свете в светлом поле, обеспечивающий 100 и 400-кратное увеличение.

Осветитель к микроскопу.

Столик нагревательный к микроскопу (столик Морозова).

Весы лабораторные с пределами допустимой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 5 мг и ± 10 мг.

Пинцеты анатомические.

Пинцеты хирургические.

Набор ареометров АОН-1 типа 1 (А1) с пределами измерений от 1,000 до 1,600 кг/см^3 по ГОСТ 18481.

Сита почвенные с размером диаметра ячеек 0,5, 0,25 и 0,3 мм^2.

Стаканы пластмассовые вместимостью 30 см^3.

Петли металлические паразитологические с диаметром восемь-девять мм.

Штатив для пробирок лабораторный.

Кюветы эмалированные.

Кюветы почковидные.

Спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336.

Камеры счетные Горяева, ВИГИС.

Часы песочные на три — пять мин или сигнальные.

Шпатели пластмассовые и металлические по ГОСТ 19126.

Ножницы анатомические.

Ножницы хирургические по ГОСТ 21239.

Прибор для уравновешивания центрифужных пробирок вместимостью 10—100 см^3.

Прибор вакуумного фильтрования.

Пробоотборник А.А. Черепанова.

Термометры технические стеклянные с пределом измерения температуры от 0 °С до 100 °С и от 100 °С до 200 °С по ГОСТ 28498.

Совки, портативные лопаты, пробоотборники.

pH-метр, обеспечивающий измерения с погрешностью не более 0,01 ед. pH.

Дозаторы пипеточные.

Шкаф сушильный лабораторный, обеспечивающий поддержание температуры от 0 °С до 105 °С с допустимой погрешностью ± 2 °С.

Карандаши по стеклу (стеклографы).

Груши резиновые разных размеров.

Перчатки резиновые.

Фартук клеенчатый.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Бумага пергаментная.

Емкости для отбора проб воды, органических удобрений, навоза, навозных стоков, осадков, пригодные для обеззараживания из нейтральных материалов, канистры, ведра вместимостью 80 $дм^3$, тазы.

Клеенка, полиэтиленовые пленка, пакеты, мешки.

Вата медицинская по ГОСТ 5556.

Марля медицинская по ГОСТ 9412.

Стекла предметные размерами 25 × 75, 60 × 120 мм по ГОСТ 9284.

Стекла покровные размерами 18 × 18 мм, 24 × 24 мм по ГОСТ 6672.

Чашки биологические Петри по ГОСТ 25336.

Стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 400 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Чашки выпарные плоскодонные сферические вместимостью 1000 и 2500 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные вместимостью 1—10 $см^3$ и 50 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Пипетки глазные.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336.

Цилиндры измерительные с носиком вместимостью 1,25 и 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Стекла часовые разных размеров по ГОСТ 23932.

Цилиндры градуированные с носиком на 100, 200, 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные.

Банки стеклянные с притертыми пробками вместимостью (до 1000 $см^3$).

Ступки и пестики фарфоровые разных размеров по ГОСТ 9147.

Эксикаторы с притертой крышкой.

Стаканы стеклянные высокие с носиком (ВН) вместимостью 50,100 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Стаканы аптечные вместимостью 50 и 100 $см^3$.

Пробирки центрифужные градуированные (ПЦГ) вместимостью 10 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Кристаллизаторы стеклянные.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Натрий хлористый, х. ч. на изотоническом растворе с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло).

Натрий азотнокислый по ГОСТ 4168.

Аммоний азотнокислый по ГОСТ 22867 или гранулированная аммиачная селитра по ГОСТ 2.

Цинк хлористый по ГОСТ 4529.

Свинец азотнокислый по ГОСТ 4236.

Формальдегид 40 %-ный.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

Глицерин по ГОСТ 6259.

Аммиак.

Эфир этиловый (диэтиловый, серный).

Метиленовый синий, х. ч.

Карбол-фуксин.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174.

Натрия тиосульфат по ГОСТ 244.

Толуол по ГОСТ 5789.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962.

Спирт метиловый по ГОСТ 6995.

Кислота молочная по ГОСТ 490.

Индикаторы бумажные для определения pH в диапазоне шесть — восемь с интервалом деления 0,2.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

6 Отбор, хранение и транспортирование проб

6.1 Точечные пробы отбирают не менее чем из трех точек (мест) партии органического удобрения на разных участках технологической линии производства, хранения, применения органических удобрений, для навоза по ГОСТ 26074.

6.2 Отбор проб твердых видов органических удобрений

6.2.1 Точечные пробы твердых видов органических удобрений (подстилочного навоза, помета, компостов, твердой фракции бесподстилочного навоза, сухого навоза) отбирают из разных слоев штабелей, буртов. Предварительно по всей длине штабелей, буртов намечают сечения, из которых планируется отбор проб. Глубина отбора проб из каждого слоя — не менее 20 см. Точечные пробы отбирают из пяти точек каждого слоя. Масса точечных проб — не менее 100 г каждая. При отборе проб используют почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели. Точечные пробы помещают в ведра.

6.2.2 Из точечных проб составляют объединенную пробу, которую высыпают на клеенку, полиэтиленовую пленку, кальку или оберточную бумагу, удаляют посторонние включения, тщательно перемешивают и методом квартования сокращают до лабораторной пробы массой не более 1 кг, предназначенной для разных видов паразитологических анализов.

Лабораторную пробу органического удобрения помещают в полиэтиленовый мешок, снабжают этикеткой, тщательно изолированной от удобрения, на которой указывают:

- вид удобрения;
- обозначение настоящего стандарта;
- место отбора проб;
- дату отбора проб;
- номер объединенной пробы;
- количество точечных проб;
- массу удобрения, от которого отобрана проба;
- массу пробы;
- фамилию и подпись ответственного за отбор проб.

6.2.3 После отбора проб почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели, ведра тщательно очищают от остатков удобрений, моют и дезинфицируют кипящей водой в течение 20 мин.

6.2.4 В процессе транспортирования и хранения лабораторных проб принимают меры по предупреждению возможности их загрязнения.

6.2.5 Паразитологический анализ лабораторных проб твердых видов органических удобрений проводят в день доставки их в лабораторию.

При невозможности немедленного проведения анализов лабораторные пробы хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С не более одного месяца, предварительно определив влажность органического удобрения по ГОСТ 26713, либо при температуре 0 °С—20 °С в течение 2 сут, предварительно добавив в лабораторную пробу удобрения три — пять капель толуола по ГОСТ 5789.

Для предупреждения высыхания и для споруляции ооцист паразитических простейших удобрения увлажняют и аэрируют один раз в неделю, для чего лабораторные пробы вынимают из холодильника и оставляют на 3 ч при комнатной температуре, увлажняют водой по мере потери влаги и вновь помещают для хранения в холодильник.

Допускается хранение лабораторных проб удобрений более месяца при применении консервирующих средств: удобрения пересыпают в кристаллизатор, заливают раствором формалина с массовой долей 3 %, приготовленном на изотоническом растворе хлористого натрия с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло), или раствором соляной кислоты с массовой долей 3 %, после чего помещают в холодильник.

6.2.6 Из лабораторной пробы методом квартования готовят анализируемые пробы, предназначенные для проведения конкретного вида паразитологического анализа.

6.3 Отбор проб бесподстилочного навоза (помета)

6.3.1 Точечные пробы полужидкого, жидкого навоза (помета), навозных стоков (пометных), жидкой фракции бесподстилочного навоза (помета) отбирают с помощью пробоотборника конструкции А. А. Черепанова, либо пробоотборника типа ПВК-1 с разной глубины навозо(помето)хранилища, отстойников-накопителей, приемных резервуаров различных сооружений по обработке бесподстилочного навоза (помета).

Объем точечной пробы — не менее 1 дм^3. Количество точечных проб — не менее восьми. Перед отбором проб бесподстилочный навоз (помет) тщательно перемешивают механическими или пневматическими устройствами в течение 30 мин.

6.3.2 Отбор точечных проб бесподстилочного навоза (помета) возможен непосредственно из цистерны или разливочно-раздаточного устройства машины для внесения удобрений.

6.3.3 Точечные пробы бесподстилочного навоза (помета) сразу после отбора сливают в ведро либо емкость, тщательно перемешивают. Полученную объединенную пробу отстаивают не менее 30 мин. При хранении образуется осадок и надосадочная фракция (фильтрат 1), которую сливают в отдельное ведро. Осадок переносят на двойной марлевый фильтр и промывают водой. Полученный фильтрат 2 отстаивают 30 мин. Надосадочную фракцию (фильтрат 3) объединяют с фильтратом 1. Отстаивают 30 мин. Сливают (удаляют) 2/3 верхнего слоя отстоявшейся надосадочной фракции. Оставшуюся часть надосадочной фракции объединяют с осадками. Полученную таким образом лабораторную пробу объемом 1 дм^3 помещают в герметично закрывающуюся емкость.

6.3.4 Упакованные лабораторные пробы, снабженные этикетками (см. 6.2.2), доставляют в лабораторию для проведения анализов в день их отбора. Лабораторные пробы транспортируют в ящиках, имеющих гнезда для стандартной посуды.

6.4 Отбор и подготовка проб почвы

Точечные пробы с поверхности почвы (тепличного грунта) с глубины 1—3 см берут из затененных и освещенных солнцем участков шпателем, а с глубины до 20 см — лопаточкой или буром. С каждого обследуемого участка одновременно по диагонали отбирают три — пять точечных проб по 100 г каждая.

Из точечных проб, взятых с одного участка на одной глубине, путем перемешивания получают объединенную пробу.

Из объединенной пробы получают лабораторные пробы массой 50—100 г.

Лабораторные пробы помещают в банки с крышкой или целлофановые пакеты. Каждая проба должна иметь этикетку с указанием места отбора, даты, глубины, характера исследуемого участка (в тени или под солнцем, состав почвы, наличие растительности и другие). В лаборатории пробы помещают в холодильник или каждую из них пересыпают в кристаллизатор, заливают жидкостью Барбагалло.

В холодильнике почву хранят не более одного месяца при температуре 4 °С, периодически аэрируя и увлажняя ее.

7 Приготовление растворов

7.1 Приготовление флотационных растворов

В качестве флотационных растворов, с помощью которых из анализируемых проб фекалий выделяют ооцисты и цисты простейших, используют насыщенные растворы солей. Наибольшей флотационной способностью обладают растворы солей при температуре 20 °С — 22 °С. Плотность растворов определяют ареометрами по ГОСТ 18481. Правильность приготовленных растворов определяют также по образованию кристаллической пленки на поверхности раствора и выпадению кристаллов на дно сосуда.

7.1.1 Приготовление насыщенного раствора хлористого натрия плотностью 1,18—1,19 г/см^3

420 г хлористого натрия по ГОСТ 4233 растворяют в 1 дм^3 кипящей дистиллированной воды.

Затем раствор охлаждают и фильтруют через воронку с ватой или двуслойной марлей в чистую стеклянную посуду. Ареометром проверяют плотность раствора, которая должна быть 1,18—1,19 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.2 Приготовление раствора нитрата аммония плотностью 1,28—1,29 г/см^3

1500 г нитрата аммония по ГОСТ 22867 или аммиачной селитры по ГОСТ 2 растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной или стеклянной посуде при постоянном размешивании и подогревании.

Затем раствор охлаждают и фильтруют в чистую посуду. Ареометром проверяют плотность раствора, которая должна быть 1,28—1,29 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.3 Приготовление раствора сульфата магния плотностью 1,28—1,29 г/см^3

920 г сульфата магния по ГОСТ 4523 растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды и остужают.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.4 Приготовление смеси хлористого натрия и нитрата аммония плотностью 1,27—1,28 г/см^3

250 г хлористого натрия по ГОСТ 4233 и 550 г нитрата аммония по ГОСТ 4523 растворяют в 1 дм^3 кипящей дистиллированной воды.

Остывший раствор фильтруют в чистую посуду, ареометром проверяют плотность, которая должна быть 1,27—1,28 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.5 Приготовление смеси азотнокислого натрия и магния сернокислого плотностью 1,27—1,28 г/см^3

500 г азотнокислого натрия по ГОСТ 4168 и 960 г сернокислого магния по ГОСТ 4523 растворяют в 1 дм^3 кипящей дистиллированной воды.

Остывший раствор фильтруют в чистую посуду, ареометром проверяют плотность, которая должна быть 1,27—1,28 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.6 Приготовление раствора сернокислого цинка плотностью 1,24 г/см^3

400 г сернокислого цинка по ГОСТ 4174 растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной или стеклянной посуде при постоянном размешивании и подогревании. Через 24 ч раствор может дать осадок, и его плотность понизится.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

8 Методы определения наличия ооцист и цист паразитических простейших

8.1 Флотационные методы

Сущность флотационных методов основана на определении наличия ооцист и цист простейших, всплывающих на поверхность флотационного раствора, и дальнейшем их установлении с помощью микроскопа, сравнивая с действующим определителем паразитических простейших.

8.1.1 Метод Фюллеборна для диагностики кокцидиозов и балантидиоза

Анализируемую пробу массой 1 г заливают в ступке 3—5 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия, приготовленного по 7.1.1, тщательно размешивают пестиком или стеклянной палочкой и по мере размешивания добавляют раствор до 15 см^3. Затем процеживают через сито в чистый стакан и отстаивают в течение 30 мин. За время флотации ооцисты и цисты простейших, удельный вес которых меньше веса насыщенного раствора хлористого натрия, всплывают на поверхность и концентрируются на поверхностной пленке.

Затем, прикасаясь металлической петлей к разным местам поверхностной взвеси, снимают три капли раствора и наносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом. Для недопущения быстрого высыхания и кристаллизации капель на предметных стеклах к ним добавляют по небольшой капле 50 %-ного водного раствора глицерина.

Металлическую петлю обжигают над пламенем спиртовки в начале и конце испытаний. При массовых исследованиях каплю на предметном стекле покровным стеклом не накрывают, а металлическую петлю промывают резкими движениями в стаканчике с дистиллированной водой.

8.1.2 Метод Котельникова-Хренова для определения ооцист и цист простейших

Анализ проводят с помощью флотационного раствора нитрата аммония, приготовленного по 7.1.2 с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости от 10 до 15 мин.

8.1.3 Комбинированный флотационный метод для определения ооцист и цист простейших

Анализ проводят с помощью комбинированного флотационного раствора, приготовленного по 7.1.4 с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости от 10 до 15 мин

8.2 Седиментационные методы определения цист простейших

Сущность седиментационных методов основана на осаждении цист простейших в процессе обработки проб навоза дистиллированной водой или другими жидкостями и исследовании осадка. В основе

методов седиментации (осаждения) лежит разность удельного веса используемых химических реактивов и ооцист и цист простейших, удельный вес которых выше, и они концентрируются в осадке.

Данные методы применяют для определения цист в навозе жвачных животных, реже — других животных.

8.2.1 Метод последовательного промывания для определения цист простейших в навозе жвачных животных

В навозе крупного рогатого скота помимо яиц гельминтов, могут содержаться цисты паразитических простейших (букстонеллы) и ооцисты кокцидий. Анализируемую пробу навоза массой 3 г помещают в стакан вместимостью 50—100 $см^3$, вливают небольшое количество дистиллированной воды и палочкой размешивают до получения жидкой кашицеобразной массы, затем добавляют дистиллированную воду порциями до объема 50 $см^3$ при постоянном размешивании.

Смесь фильтруют, пропуская через ситечко в другой стакан, и отстаивают в течение 5 мин до образования осадка, после чего верхний слой жидкости сливают до осадка, а к осадку добавляют снова такое же количество дистиллированной воды и отстаивают в течение 5 мин, после чего жидкость снова сливают до осадка.

Такие операции повторяют до тех пор, пока надосадочный слой воды не будет прозрачным. Последний раз верхний слой сливают или отбирают спринцовкой, опустив наконечник в стакан, не доводя до дна 1,5—2,0 см, а осадок поочередно разливают на часовые или предметные стекла и исследуют под микроскопом. Цисты букстонелл, имеющие размеры (0,13 х 0,7 мм), просматривают с помощью микроскопа под малым увеличением (х 100). Ооцисты кокцидий мельче (0,03 х 0,02 мм), поэтому необходимо тщательно просматривать препараты под большим увеличением микроскопа (х 400).

8.2.2 Метод формалин-эфирной или уксусной седиментации

Тщательно перемешивают пробу фекалий массой 3 г с 10 %-ным раствором формалина в фарфоровой чашке фарфоровым пестиком. В центрифужную пробирку помещают воронку, на нее — 2 слоя марли (можно также использовать металлические или пластмассовые ситечки). Фильтруют не менее 8 $см^3$ суспензии из чашки (если объем фильтрата будет меньше, добавляют 10 %-ный раствор формалина до 8 $см^3$). Доливают в пробирку 2 $см^3$ эфира и закрывают пробкой. Энергично встряхивают пробирку не менее 30 с. Центрифугируют при 1500 об/мин в течение 2 мин или 2000 об/мин в течение 1 мин. После центрифугирования образуются 4 слоя: осадок, раствор формалина, коагулированный белок, фекальный детрит — «пробка», а сверху эфир с растворенными в нем жирами. Верхние три слоя удаляют опрокидыванием пробирки, пипеткой отбирают нижнюю часть осадка, помещают на предметное стекло и микроскопируют в начале при малом затем при большом увеличении. В методе формалин-эфирной седиментации формалин можно заменить 5 %-ным водным раствором уксусной кислоты. Ход анализа остается без изменений.

8.2.3 Паразитологический анализ навоза на наличие ооцист криптоспоридий

8.2.3.1 Метод нативного мазка

Из пробы влажного навоза делают тонкий мазок, высушивают, фиксируют метиловым спиртом по ГОСТ 6995, после чего окрашивают карбол-фуксином по Цилю-Нильсену.

Ооцисты криптоспоридий диаметром 3—7 мкм окрашиваются в красный цвет. Внутри них можно видеть четыре спорозойта. Сопутствующая микрофлора окрашивается в зеленый цвет.

8.2.3.2 Флотационный и комбинированный методы

Для увеличения в исследуемом материале концентрации ооцист используют флотационный метод Фюллеборна или комбинированный метод Дарлинга. В качестве растворов применяют насыщенные растворы хлористого натрия по ГОСТ 4233 или сахарозы по ГОСТ 5833. Из материала, взятого паразитологической петлей с пленки поверхностного натяжения, в пробирке готовят мазок, фиксируют и красят. Вероятность обнаружения ооцист криптоспоридий повышается во много раз.

8.3 Комбинированные (седиментационно-флотационные) методы

Сущность комбинированных (седиментационно-флотационных) методов основана на комбинации противоположных приемов обработки проб фекалий — седиментации и флотации, благодаря чему происходит обогащение осадка или поверхностной пленки ооцистами и цистами простейших и удаление излишних посторонних частиц взвеси, которые значительно мешают исследованию.

Методы более трудоемкие, однако при некоторых протозоозах более информативны.

8.3.1 Метод Черепанова

Лабораторные пробы жидкого навоза, жидкой фракции и иловой смеси отстаивают, сливают надосадочный слой, осадок промывают и удаляют грубые включения через двойной марлевый фильтр. Если первичное промывание осадка проводили на месте отбора проб, то его сразу переносят в центрифугу, добавляют чистую воду и 2—3 мин центрифугируют при 1000 об/мин. Твердую фракцию обрабатывают и исследуют по той же методике, что и осадок. После центрифугирования жидкость сливают, а осадок исследуют с применением центрифужного флотационного метода. Перед центрифугированием пробирки с анализируемыми пробами уравновешивают, добавляя, при необходимости, соответственно насыщенный раствор соли или воду, и устанавливают в гнезда ротора центрифуги. Объем одной анализируемой пробы в расчете на центрифужную пробирку вместимостью 250 $см^3$ составляет 100 $см^3$ для твердой фракции и 25—50 $см^3$ — для осадка.

К осадку, находящемуся в центрифужных пробирках (после центрифугирования его с водой), добавляют до 150 $см^3$ насыщенного раствора нитрата натрия по ГОСТ 4168 или другой соли. После перемешивания стеклянной палочкой смесь центрифугируют в течение 3 мин при 1000—1500 об/мин.

По окончании центрифугирования в пробирки добавляют тот же по объему насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска и накрывают большими предметными стеклами по ГОСТ 9284 размерами 70 × 70 мм. Стекла предварительно обезжиривают смесью спирта по ГОСТ 18300 и эфира или нашатырным спиртом по ГОСТ 3760 или моют в горячей воде порошком, обладающим дезинфицирующим свойством. Обрабатывают обе стороны стекол и просушивают. На сухой поверхности стекол стеклографом наносят три-четыре тонкие линии, делящие ее на равные части.

Стекла с пробирок снимают через 20 мин. Просматривают под микроскопом пленку жидкости, образующуюся на их поверхности, соприкасавшейся с раствором. Микроскопирование повторяют два-три раза. Для просветления пленки и предотвращения выпадения в ней кристаллов на ее поверхность наносят три-четыре капли водного раствора глицерина по ГОСТ 6259 и дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в соотношении 1:1.

Анализируемые пробы обычного твердого (подстилочного) навоза и помета компостов, биоперегноя и биогумуса массой 50—100 г помещают в лабораторный стакан по ГОСТ 25336. В него добавляют дистиллированную воду по ГОСТ 6709. Содержимое в стакане перемешивают и фильтруют через двойной марлевый фильтр в другой стакан или колбу конической формы. Фильтрат отстаивают 15—20 мин или переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 3 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют насыщенный раствор нитрата натрия по ГОСТ 4168 или других солей и смесь вновь центрифугируют в том же режиме. Центрифужные пробирки устанавливают в штатив, в них добавляют насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска, поверх которого кладут покровные стекла. Через 15—20 мин стекла снимают, поворачивая внутренней стороной вверх, и образовавшуюся пленку просматривают под микроскопом под малым и большим увеличением на предмет обнаружения ооцист и цист простейших.

В процессе микроскопирования подсчитывают количество обнаруженных ооцист и цист простейших в анализируемой пробе. Затем подсчитывают их количество на единицу объема анализируемой массы — на 1—10 $дм^3$ жидкого навоза или жидкой фракции, 100—1000 $см^3$ или на 1 кг твердой фракции навоза данной влажности.

8.3.2 Экспресс-метод паразитологического анализа бесподстилочного навоза (помета)

Берут 25—50 $см^3$ осадка бесподстилочного навоза (помета), полученного после первичного отстаивания проб по 6.3.3., удаляют из него грубые включения путем промывания, переносят осадок на марлевый или капроновый фильтр. Промывают его 200 $см^3$ насыщенного раствора нитрата натрия, поваренной соли по ГОСТ 4233 или аммиачной селитры. Оставшуюся в осадке на фильтре влагу тщательно отжимают в те же емкости. Фильтрат выдерживают 15—20 мин, после чего поверхностную пленку жидкости переносят паразитологической петлей на предметные стекла и просматривают под микроскопом. Можно пользоваться и большими предметными обезжиренными стеклами, накрывая их поверх мениска флотационного раствора.

Метод менее точен, чем центрифужный, однако более прост по выполнению, не требует сложного оборудования и может быть применим для экспресс-диагностики загрязнения бесподстилочного навоза (помета) ооцистами и цистами простейших.

Для выполнения указанного метода применяют стаканы для фильтрата по ГОСТ 25336, насыщенного раствора соли, предметные стекла по ГОСТ 9284, марлю по ГОСТ 9412 или капроновую ткань с ячейками 0,1 мм и микроскоп.

8.3.3 Метод Дарлинга

Анализируемую пробу массой 1 г заливают в ступке 5 см^3 дистиллированной воды, тщательно размешивают, добавляя дистиллированную воду до 15 см^3. Затем полученную взвесь процеживают через сито в стакан и отстаивают в течение 5 мин. После отстаивания верхний слой жидкости сливают, а на дне оставляют осадок с водой, который переносят в центрифужную пробирку. Наполненные до одинакового уровня пробирки центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. После чего жидкость из пробирок сливают, а к осадку добавляют 10 см^3 флотационного раствора хлористого натрия, приготовленного по 7.1.1, тщательно перемешивают до получения взвеси и опять центрифугируют в течение 1 мин.

Затем металлической петлей снимают из каждой пробирки по три капли поверхностной взвеси, переносят на предметное стекло и препарат исследуют под микроскопом.

8.3.4 Метод Щербовича

Испытания проводят по 8.3.3, а в качестве флотационного раствора используют насыщенный раствор сульфата магния по 7.1.3.

8.3.5 Метод Вишняускаса

Применяется для определения ооцист и цист простейших, а также яиц гельминтов жвачных животных.

Анализируемую пробу фекалий массой 3 г от крупного рогатого скота и 1 г от овец тщательно размешивают с 50 см^3 дистиллированной водой в ступке, затем фильтруют через сито в стеклянную посуду вместимостью 100 см^3. Ступку прополаскивают несколько раз 50 см^3 дистиллированной воды, которой промывают фекальные массы на сите.

100 см^3 полученного фильтрата отстаивают в течение 5 мин, затем верхний слой жидкости отбирают спринцовкой или осторожно сливают, оставляя на дне 20 см^3 жидкости с осадком.

К жидкости с осадком добавляют 80 см^3 дистиллированной воды и вновь отстаивают в течение 5 мин. После чего надосадочную жидкость отбирают спринцовкой или сливают, оставляя на дне 10 см^3 жидкости, которую перемещают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 1 мин при 1500—2000 об/мин.

Затем верхний слой жидкости отбирают спринцовкой или сливают, оставляя только осадок. К осадку постепенно добавляют раствор сульфата цинка по 7.1.6 так, чтобы мениск жидкости образовался выше краев центрифужной пробирки. Центрифужную пробирку покрывают покровным стеклом так, чтобы жидкость всей своей поверхностью соприкасалась с покровным стеклом. Заблаговременно перед началом испытания края центрифужных пробирок шлифуют на бруске. Центрифугируют в течение 0,5 мин при 1500—2000 об/мин.

Ооцисты и цисты паразитических простейших всплывают и прилипают к покровному стеклу. Покровное стекло с ооцистами простейших снимают и помещают на предметное стекло, предварительно нанеся одну каплю дистиллированной воды, и исследуют под микроскопом.

9 Методы определения количества ооцист и цист простейших в навозе

9.1 Определение количества ооцист и цист простейших с помощью счетной камеры Горяева

1 г навоза размешивают в ступке с 15 см^3 дистиллированной воды и тщательно растирают пестиком. Полученную суспензию фильтруют через сито, 10 см^3 фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. Затем жидкость из пробирки сливают, а к осадку добавляют 10 см^3 флотационного раствора хлористого натрия, тщательно перемешивают и 0,15 см^3 используют для заполнения счетной камеры Горяева.

При отсутствии счетной камеры используют предметное стекло, на которое наносят 0,15 см^3 суспензии, и накрывают покровным стеклом.

Заполненную камеру Горяева или предметное стекло выдерживают в течение 2 мин, чтобы ооцисты и цисты простейших могли подняться к поверхности, и под микроскопом подсчитывают количество ооцист и цист простейших. Полученное число, умноженное на 100, показывает содержание ооцист и цист простейших в 1 г навоза. Для более точного определения количества ооцист и цист используют две-три камеры.

9.2 Определение количества ооцист и цист простейших с помощью счетной камеры ВИГИСа

1 г навоза размешивают в ступке с 5 $см^3$ флотационного раствора аммиачной селитры и тщательно перемешивают пестиком. При осторожном размешивании добавляют флотационный раствор до объема 15 $см^3$. Взвесь фильтруют через ситечко в чистый стакан с последующим отжимом содержимого в ситечко и тщательным размешиванием взвеси. Затем пастеровской пипеткой быстро переносят 0,15 $см^3$ взвеси в одну из ячеек счетной камеры и оставляют на 2 мин, после чего подсчитывают количество ооцист и цист простейших. При необходимости заполняют и другие ячейки взвесью пробы из того же стаканчика, но при этом каждый раз перед заполнением ячейки смесь перемешивают.

Подсчет ооцист и цист простейших в ячейке проводят с помощью микроскопа при искусственном освещении.

Для установления количества ооцист и цист простейших в 1 г навоза делают расчет по числу обнаруженных ооцист и цист в одной, двух или четырех ячейках. Для этого число ооцист и цист, выявленных в ячейке, умножают на 30, в двух ячейках — на 15, а в четырех — на 7,5.

10 Методы определения жизнеспособности ооцист и цист простейших

10.1 Метод световой микроскопии

Под большим увеличением микроскопа выявляют резко выраженные признаки гибели ооцист и цист простейших:

- деформация оболочек;
- вакуолизация плазмы зародыша;
- прогибание оболочек внутрь и их разрушение;
- лизис ооцист, их склеивание;
- отсутствие споруляции.

10.2 Культивирование

Создают условия для развития зародышей у жизнеспособных ооцист и цист простейших в процессе культивирования. Культивируют их в термостате при температуре 26 °С— 28 °С во влажной камере в чашках Петри по ГОСТ 25336. Собранные на предметные по ГОСТ 9284 и часовые стекла по ГОСТ 23932 или фильтры ооцисты и цисты простейших помещают в чашки Петри. На дно чашки для создания влажности кладут вату по ГОСТ 5556, смоченную в 2,5 %-ном растворе бихромата калия. Чашку закрывают крышкой и помещают в термостат. С целью определения сроков достижения инвазионной стадии часть ооцист кокцидий ежедневно подвергают исследованию под микроскопом.

В спорулированных ооцистах оценивают особенности споруляции:

- наличие остаточных тел в ооцисте и спороцистах;
- размер и форму спорозоитов.

В процессе споруляции в ооцисте формируются четыре спороцисты (у изоспор две спороцисты) и в каждой из них по два спорозоита (у изоспор четыре спорозоита). Такие ооцисты называют спорулированными или инвазионными. Они способны заражать восприимчивых животных, в организме которых происходит развитие эндогенных стадий. Для подтверждения инвазионных свойств ооцист кокцидий применяют метод биопробы на молодняке сельскохозяйственных животных (цыплята, поросята, телята и др.).

11 Метод установления интенсивности инвазии

Интенсивность инвазии устанавливают подсчетом числа ооцист и цист простейших в трех каплях анализируемой пробы массой 1 г при микроскопии и делением полученного числа на три в соответствии с таблицей А.1.

Полученное число показывает ориентировочную интенсивность протозоозной инвазии в одной капле анализируемой пробы.

Для более точной оценки содержания ооцист и цист простейших в анализируемых пробах навоза необходимо определить их количество в 1 г материала с использованием вышеотмеченных счетных камер (Горяева и ВИГИСа).

При установлении интенсивности инвазии учитывают одновременное присутствие разных видов паразитических простейших.

12 Метод исследования почвы (тепличных грунтов) на наличие ооцист и цист простейших

Исследование почвы на наличие ооцист и цист простейших проводят на разном удалении от животноводческих помещений, на пастбище, в теплицах и других местах с поверхности и различной глубине.

25 г анализируемой пробы почвы, отобранной по 6.4, помещают в центрифужные пробирки вместимостью 80—100 $см^3$ и заливают 3 %-ным раствором едкого натрия или калия в соотношении 1:1.

Содержимое пробирок тщательно размешивают при помощи электромешалки или стеклянных палочек, отстаивают в течение 20—30 мин, затем центрифугируют в течение 5 мин при 800 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, а почву промывают водой от одного до пяти раз в зависимости от типа почвы (для песчаных и супесчаных почв достаточно одной промывки, для глинистых, суглинистых, черноземных — от двух до пяти раз) до получения прозрачной жидкости.

После промывки к почве добавляют 45 $см^3$ насыщенного раствора нитрата натрия, тщательно размешивают и центрифугируют в течение 3 мин. При отсутствии нитрата натрия можно использовать раствор сульфата магния. После центрифугирования пробирки со смесью ставят в штатив и осторожно доливают раствор нитрата натрия до образования выпуклого мениска, а затем покрывают предметными стеклами размером 10х6 см, предварительно обезжиренными смесью спирта с эфиром (в соотношении 1:2) или прокипяченным в воде со щелочью или стиральным порошком. Смесь в пробирках отстаивают в течение 30 мин.

Во время отстаивания ооцисты и цисты простейших всплывают на поверхность и прилипают к стеклу. Затем стекла снимают, а на их место ставят чистые. На снятые стекла наносят несколько капель 50 %-ного водного раствора глицерина, капли накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Затем просматривают вторые стекла.

Для обнаружения ооцист и цист простейших предметные стекла просматривают при увеличении 80—100 раз (окуляр 10х, объектив 8—10), а для определения степени развития, жизнеспособности и степени деформации — при увеличении в 400 раз (окуляр 10х, объектив 40). Подсчитанное в двух предметных стеклах количество ооцист и цист простейших по видам дает характеристику степени загрязнения или обсемененности разных проб почвы ооцистами и цистами простейших.

Приложение А
(справочное)

Результаты паразитологического анализа органических удобрений (почв, грунтов)

А.1 Пример оформления журнала по результатам паразитологического анализа приведен в таблице А.1.

Таблица А.1

№ пп	Место отбора проб	Дата отбора проб	Дата анализа	Метод анализа	Масса анализируемой пробы, г/см^3	Обнаружено ооцист и цист простейших по видам, экз			
						Всего	Деформированные	Жизнеспособные	В среднем на 1 кг/см^3, (1 дм^3 анализируемой пробы)
1									
2									

В журнал заносят данные, учитывающие количество, объем анализируемых проб, взятых после обработки, подготовки органических удобрений (почв, грунтов) к использованию или со складов готовой продукции. Фиксируют результаты отсутствия или обнаружения ооцист и цист простейших соответствующих видов. При обнаружении ооцист и цист простейших отмечают состояние их жизнеспособности и инвазионности.

А.2 Обработка результатов

Сопоставление количества погибших ооцист и цист простейших к выявленному их общему количеству в пробах, отбираемых с определенной периодичностью, свидетельствует о степени и постоянстве эффективности принятого при подготовке органических удобрений метода обеззараживания.

Библиография

[1] РД-АПК 1.10.15.02—2008 Методические рекомендации по технологическому проектированию систем удаления и подготовки к использованию навоза и помета

[2] Ветеринарно-санитарные правила подготовки к использованию в качестве органических удобрений навоза, помета и стоков при инфекционных и инвазионных болезнях животных и птицы. Правила Минсельхоза РФ № 13-7-2/1027, утверждены Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 4 августа 1997 г.

[3] Ветеринарно-санитарные правила по использованию животноводческих стоков для орошения и удобрения пастбищ, М.: Минсельхозпрод РФ, 1993

[4] Инструкция по лабораторному контролю очистных сооружений на животноводческих комплексах. Часть 1. Организация лаборатории. Методы санитарно-бактериологического и гельминтологического анализа сточных вод, М.: Колос, 1982

[5] Методические рекомендации по предотвращению загрязнения окружающей среды бесподстилочным навозом животноводческих комплексов и ферм, М.: ВАСХНИЛ, 1989

[6] МУ 3.2.1022—2001 Методические указания. Профилактика паразитарных болезней. Мероприятия по снижению риска заражения населения возбудителями паразитозов

[7] МУК 4.2.796—99 Методические указания. Методы санитарно-паразитологических исследований

[8] Типовой технологический регламент использования осадков сточных вод в качестве удобрения, М.: Минсельхоз РФ, ГУП НИИССВ «Прогресс», 2000

[9] СанПиН 3.2.3215—14 Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации

УДК 631.861:631.879:006.354

ОКС 65.020
65.080

Ключевые слова: удобрения органические, методы паразитологического анализа возбудителей простейших, ооцисты, цисты

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 02.03.2020. Подписано в печать 16.06.2020. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал
Усл. печ. л. 2.32. Уч.-изд. л. 2,12.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru