Федеральная служба по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека

ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Сборник официальных документов

Том I

Редакторы и составители:
Академик РАМН, профессор Г.Г. Онищенко
Академик РАМН, профессор Б.Л. Черкасский

Москва
«ИНТЕРСЭН»
2006

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.9
УДК 614.4 (083)
П83

П83 Противоэпидемические мероприятия. Том 1 Санитарные правила и методические документы, в 2 томах. /Редакторы и составители: Г.Г. Онищенко, Б.Л. Черкасский. – М.: «ИНТЕРСЭН», 2006. – с. 1216

ISBN 5-89834-091-2
ISBN 5-89834-095-5

Сборник содержит основные действующие на территории Российской Федерации правила и методические документы, регламентирующие деятельность по борьбе и профилактике инфекционных (паразитарных) болезней, предназначен для работников службы Роспотребнадзора, а также представляет интерес для специалистов многих других ведомств и областей знания.

ББК 51.9

ISBN 5-89834-091-2

Набор, верстка Антипина Н.А.

Подписано в печать 10.01.06

Формат 70x100/16 Печ. л. 76,0

Тираж 1000 Зак. 2761

Отпечатано в ОАО «Можайский полиграфический комбинат».
143200, г. Можайск, ул. Мира, 93.

© «ИНТЕРСЭН»,
2006

ПРЕДИСЛОВИЕ

Данное издание представляет собой сборник документов, которые регламентируют противоэпидемическую деятельность в России.

В течение последних лет был утвержден ряд новых Санитарных правил и норм, методических указаний и нормативов. Кроме того, значительная часть документов была пересмотрена и скорректирована в соответствии с новыми научными данными, международными требованиями и новыми законами, направленными на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

При отборе материалов для настоящего сборника составители учитывали наиболее полную информацию о нормативной и методической базе официальных документов департамента Госсанэпиднадзора министерства здравоохранения и социального развития России.

Сборник предназначен, в первую очередь, для работников санитарно-эпидемиологического сектора службы Роспотребнадзора, а также представляет интерес для специалистов самых разных ведомств и областей знания:

– ветеринарной службы,

– МЧС,

– органов охраны природы,

– кафедр,

– научно-исследовательских институтов,

– аналитических центров,

– региональных и местных органов управления, принимающих решения в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и др.

Документы в сборнике расположены по принципу: от наиболее общих и важных к частным, а также по группам инфекционных болезней в зависимости от механизма передачи их возбудителей. Кроме того, представлены документы, касающиеся специальных разделов противоэпидемической деятельности, таких как профилактика внутрибольничных инфекций, санитарно-эпидемиологическая охрана территории, вакцинопрофилактика и др.

Составители и редакторы сборника выражают искреннюю благодарность всем коллегам, которые принимали участие в разработке и совершенствовании документов по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации – Первый заместитель министра здравоохранения Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

25 октября 2000 г.
Дата введения: 1 января 2001 г.

3.2. ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ МЕТОДЫ САНИТАРНО-ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ РЫБЫ, МОЛЛЮСКОВ, РАКООБРАЗНЫХ, ЗЕМНОВОДНЫХ, ПРЕСМЫКАЮЩИХСЯ И ПРОДУКТОВ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Методические указания МУК 3.2. 988-00

1. Область применения и общие положения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы и нерыбных объектов промысла (моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся), а также продуктов их переработки (далее по тексту -рыбная продукция).

1.2. Методические указания предназначены для применения в аккредитованных (или аттестованных, или лицензированных) лабораториях (в т.ч. контрольно-производственных) и лабораториях учреждений государственной санитарно-эпидемиологической и ветеринарной служб Российской Федерации, осуществляющих контроль качества гидробионтов и продуктов их переработки на соответствие СанПиН 2.3.2.560–96 и 3.2.569–96, а также научных учреждений, занимающихся изучением паразитарных болезней.

Специалисты лабораторий должны пройти подготовку в заявленной области аккредитации (аттестации, лицензирования), владеть метрологически аттестованными методиками и методами, утвержденными или допущенными к применению Госстандартом и госсанэпидслужбой России и соответствующих требованиям ГОСТа Р 8.563–96 «Методики выполнения измерений».

1.3. Среди всех классов паразитов (простейшие, ракообразные, гельминты и др.), встречающихся в рыбе и других гидробионтах, опасными для здоровья человека являются только личинки гельминтов: цестод, трематод, нематод и скребней. К наиболее социально значимым и широко распространенным заболеваниям, передающимся через рыбу и других гидробионтов, относятся описторхоз, дифиллоботриозы и эндемичные для Дальнего Востока России ме-тагонимоз, нанофиетоз и клонорхоз. Определенную опасность для здоровья людей могут представлять гельминты, приживающиеся, но не развивающиеся до взрослой стадии у человека (использующие его в качестве резерву арного хозяина), что затрудняет диагностику заболевания. Это спирометра, гнатостомы, болбозомы, коринозомы и некоторые виды анизакид и парагонимид. Заражение человека пирамикоцефалусами, апофаллами, криптокотилюсами происходит крайне редко. Других гельминтов (меторхисов, псевдамфистомумов, гетерофиесов, эхинохазмусов и др.) можно отнести к паразитам, спорадически встречающимся у человека на определенных территориях.

1.4. *Объектами исследований* являются промысловые пресноводные и морские рыбы, моллюски, ракообразные, земноводные, пресмыкающиеся и продукты их переработки.

1.5. Потенциальную опасность для здоровья человека представляют только живые личинки гельминтов. В связи с этим, при паразитологическом инспектировании гидробионтов и продуктов их переработки следует определить жизнеспособность выявленных плероцеркоидов, метацеркарий, акантелл и личинок нематод (см. раздел 5).

1.6. При исследовании гидробионтов и продуктов их переработки следует соблюдать режим работы с инвазионным материалом, регламентированный санитарными правилами 1.2.731–99 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами».

2. Отбор, хранение и подготовка к анализу проб гидробионтов и продуктов их переработки

Отбор и объем проб рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки для исследования на соответствие требованиям безопасности для здоровья человека по паразитарным показателям осуществляется в соответствии с требованиями:

• ГОСТа 7631–85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, ор-ганолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний»;

• Изменений №2 к ГОСТу 7631–85 (п. 1.2), утвержденному Постановлением Госстандарта СССР от 25.10.89 № 3195;

• СанПиНа 3.2.569–96 «Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации», приложение 3, п. 6.2 (при лабораторном контроле рыбной продукции) и п. п. 15.12, 15.13 (при оценке и контроле паразитологического состояния районов промысла (биотопов);

• правил по сертификации «Типовой порядок обращения с образцами, используемыми при проведении обязательной сертификации. ПР 50.3.002–95».

2.1. Отбор, хранение и подготовка к анализу проб гидробионтов при оценке и контроле паразитологического состояния районов промысла (биотопов)

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: глицерин; эфир или хлороформ
2. Кюветы эмалированные
3. Чашки Петри
4. Пинцеты хирургические и глазные
5. Препаровальные иглы
6. Химические стаканы
7. Кастрюли эмалированные
8. Электроплитка
9. Холодильник
10. Весы с набором разновесов или весы электронные
11. Сантиметр или линейка
12. Марля, вата
13. Фильтровальная бумага

2.1.1. При оценке паразитологического состояния водоема (района промысла) следует начинать исследовать виды гидробионтов, наиболее подверженные заражению. Так, наилучшими индикаторами неблагополучия водоема в отношении инвазии личинками описторхисов является язь, далее по убывающей - елец, линь и т д (см. табл. 2), а в отношении *Diphyllobothrium latum* - щука и налим (см. табл. 1).

Для исследования на наличие метацеркарий *Opisthorchis felineus* и плероцеркоидов *D. latum* целесообразнее отбирать рыб старших возрастов, т. к. личинки паразитов живут несколько лет, и их число увеличивается с возрастом рыб. Метацеркарий *Metorchis bilis (albidus)* чаще встречаются у сеголеток и рыб младших возрастов, а *Echinochasmusperfoliatus* - преимущественно у мальков.

2.1.2. До начала исследования рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных и пресмыкающихся следует точно определить видовую принадлежность исследуемого экземпляра и, руководствуясь табл. 1–4 и п. 4.4 настоящего документа и табл. 9 СанПиНа 3.2.569– 96 (прилож. 3), определить, потенциальными носителями каких видов гельминтов, опасных для здоровья человека, он является.

Следует помнить, что один и тот же вид позвоночного или беспозвоночного может служить дополнительным или резервуарным (факультативным) хозяином для нескольких видов гельминтов.

2.1.3. Сохранять свежевыловленную рыбу и нерыбных промысловых гидробионтов до исследования следует в охлажденном состоянии (в холодильнике), не допуская кристаллизации, либо в слегка подвяленном на воздухе виде не более 3–5 дней.

2.1.4. Перед исследованием рыбу (или нерыбный объект промысла) отмывают от слизи, протирают, взвешивают, измеряют длину и делают в журнале записи, касающиеся учета исследований (раздел 7).

2.1.5. Для определения возраста у рыб с циклоидной чешуей последнюю берут с переднебоковой поверхности выше боковой линии в количестве 15–20 крупных чешуек. У рыб с ктеноидной чешуей, а также с голой кожей берут отолиты или колючий шип грудного плавника.

2.1.6. Для исследования на наличие метацеркарий *Metagonimus yokogawai* и *Metagonimus katsuradai* отбирают по 20 чешуек из разных частей тела рыбы в спинной области, у карася - вдоль боковой линии. Крупные чешуйки (у сазанов, карасей) перед исследованием просветляют в течение 15–20 мин в 50 %-ном растворе глицерина.

2.1.7. Перед исследованием живых раков и крабов рекомендуется поместить в кипящую воду на 0,5–1,5 мин (в зависимости от размеров ракообразных) до прекращения движения или усыпить их эфиром (или хлороформом).

2.2. Хранение и подготовка к анализу рыбной продукции при лабораторном исследовании на производстве, при сертификации, инспекционном контроле

2.2.1. Сохранять свежих или охлажденных гидробионтов и продукты их разделки до исследования следует в холодильнике при температуре 2–4°С. Замороженная рыбопродукция (сырье, полуфабрикаты и готовые изделия) до исследования хранится при температуре и в условиях согласно нормативно-технической документации на нее.

2.2.2. Непосредственно перед исследованием мороженую рыбную продукцию размораживают до температуры не ниже 0 °С в толще тела рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки. Живых ракообразных усыпляют (см. п. 2.1.8).

2.2.3. При исследовании вяленой, соленой и копченой рыбы ее предварительно вымачивают в течение суток до размягчения мышц, меняя воду каждые 4–6 ч.

2.2.4. Соленую икру (зернистую, паюсную, ястыковую) выдерживают в воде в течение 2–3 ч. Другие виды рыбной продукции (пресервы, жареная рыба, фарш и пр.) специальной подготовки не требуют и сохраняются в холодильнике до начала исследования.

2.2.5. О видовой принадлежности исследуемого образца судят по документам, сопровождающим пробу. При поступлении гидробионтов в виде, позволяющем произвести видовое определение, следует его уточнить.

3. Методы паразитологического исследования гидробионтов и продуктов их переработки

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор
2. Предметные стекла
3. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 3– 5 мм) или компрессорий
4. Кюветы эмалированные
5. Деревянная доска
6. Чашки Петри
7. Часовые стекла
8. Пинцеты разных размеров (хирургические, анатомические, глазные)
9. Ножницы
10. Скальпели
11. Препаровальные иглы разной толщины
12. Пипетки стеклянные (пастеровские)
13. Резиновые груши
14. Фильтровальная бумага
15. Марля, вата
16. Лупа
17. Бинокулярный микроскоп типа МБС
18. Осветитель для бинокуляра любой марки
19. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
20. Осветитель к микроскопу любой марки
21. Деревянный молоток

3.1. Принципиальные подходы и выбор метода исследования гидробионтов и продуктов их переработки

3.1.1. При исследовании рыбной продукции используют два основных подхода:

1) выявление личинок гельминтов, видимых невооруженным глазом (плероцеркоиды, акантеллы, личинки нематод размером > 2 мм), путем тщательного осмотра всех органов, полостей и тканей промежуточных (или резервуарных) хозяев;

2) выявление личинок гельминтов, плохо или не видимых невооруженным глазом (в основном метацеркарий трематод и мелких нематод), путем исследования органов и тканей - мест наиболее вероятной их локализации, с использованием оптических средств. Уточнение видовой принадлежности личинок гельминтов в обоих случаях ведется с применением световых микроскопов типа МБС, Биолам или др.

3.1.2. Порядок исследования и необходимость проведения всех или только отдельных его этапов зависит от вида (видов) гельминта, встречающегося в исследуемом гидробионте, типичной локализации личинок в нем (таблицы 1–4, пункты 4.4.1, 4.4.2) и вида продукции.

3.1.2.1. При паразитологическом исследовании свежевыловленной и охлажденной рыбы на наличие цестод, нематод и скребней необходимо проводить практически весь предложенный ниже комплекс исследований (п.п. 3.2.1–3.2.7, 3.2.11). При поиске плероцеркоидов Diphyllobothrium dendriticum и акантелл рода Bolbosoma основное внимание обратить на рекомендации в пункте 3.2.4, *Diphyllobothrium luxi (D. klebanovskii)* - в пункте 3.2.11.1, *Gnathostoma hispidum* и *Gnathostoma spinigerum* - в пунктах 3.2.11.3– 3.2.11.4.

На наличие метацеркарий большинства видов трематод - исследуют только верхний слой мышечной ткани и подкожную клетчатку в области спинных мышц (п. 3.2.11.3). Для обнаружения метацеркарий *Metagonimus yokogawai* и *Metagonimus katsuradai* в первую очередь исследуют чешую (п. 3.2.12), *Echinochasmus perfoliatus* – жабры (п. 3.2.9), *Apophallus muhlingi* и *Rossicotrema donicum* - ткани плавников (п. 3.2.8), *Nanophyetus salmincola* - почки (п. 3.2.7).

3.1.2.2. Мороженую, соленую, пряную, маринованную, вяленую, сушеную и копченую рыбную продукцию после предварительной подготовки (п. п. 2.2.2, 2.2.3) исследуют по методике неполного гельминтологического вскрытия, приведенной ниже (п.п. 3.2–3.4). При обнаружении личинок гельминтов следует определить их жизнеспособность (раздел 5).

3.1.2.3. Такие продукты переработки рыбы, как пресервы, фарш, жареная или заливная рыба, предварительно осматривают, а затем исследуют компрессорным методом (п. 3.2.11.3) или методом переваривания в искусственном желудочном соке (п. 3.2.11.4).

3.1.2.4. Рыбу потрошеную обезглавленную, разделанную на тушку, спинку, кусок и филе, лапки земноводных, мышечные ткани и мантию двустворчатых моллюсков, а также мантию головоногих в зависимости от целей паразитологического инспектирования (вида гельминта) исследуют по одной из предложенных методик исследования мускулатуры (п. 3.2.11).

3.1.2.5. Икру (гонады), как свежую, так и продукты ее переработки, исследуют в соответствии с пунктом 3.2.6.

3.1.2.6. Молоки (семенники) тщательно осматривают снаружи на наличие полостных паразитов. Внутри молок опасных для здоровья человека паразитов нет.

3.2. Методика неполного гельминтологического исследования рыбы

3.2.1. Рыбу вскрывают в большой эмалированной кювете или на широкой гладкой доске. Прежде всего, проводят наружный осмотр рыбы для выявления личинок, просвечивающих через кожу, извлекают их препаровальной иглой.

3.2.2. Затем вырезают левую стенку полости тела и открывают доступ к последней. Для этого, повернув рыбу брюхом кверху, делают короткий надрез вперед от анального отверстия, куда затем вводят тупой конец ножниц и разрезают рыбу вдоль срединной линии брюшка до угла нижней челюсти. Делают дугообразный надрез, вырезают левую брюшную стенку, отделяют ее. Рыбу кладут на правый бок. При внимательном осмотре полости тела и внутренних органов могут быть обнаружены свободно лежащие или под серозной, или в капсулах личинки цестод, нематод, скребней, видимые невооруженным глазом.

3.2.3. Накладывают лигатуры на кишечник близ анального отверстия и на пищевод в его началь-

ном отделе, чтобы содержимое пищеварительного тракта не вышло наружу. Затем извлекают *внутренние органы.* Вырезают яичники (икру) или семенники (молоки), помещая их в отдельные чашки Петри, и просматривают. Осматривают плавательный пузырь снаружи и внутри. Вырезают и осматривают сердце, а также сердечную полость. Компрессорным способом исследуют содержимое, оставшееся в полости тела. Последнюю протирают марлевой салфеткой, соскабливают брюшину.

3.2.4. Затем отпрепаровывают комплекс органов пищеварительной системы. В первую очередь выделяют желчный пузырь, лежащий на поверхности печени, так, чтобы его содержимое (в том числе и паразиты) не залило остальные внутренние органы. Затем выделяют пищеварительный тракт, печень, селезенку, поджелудочную железу. Эти органы отделяют друг от друга и от окружающей их жировой ткани и осматривают. Жировую ткань разрезают на тонкие пластинки толщиной около 3 мм или исследуют компрессорное между стеклами на темном фоне или в полупроводящем свете.

Исследуют освобожденный от жировой ткани *пищеварительный тракт*, отыскивая личинок в капсулах на его поверхности или просвечивающих через серозные покровы *(Diphyllobothrium dendriticum, Diphyllobothrium latum, Dioctophyme renale, Eustrongylides exicisus, Corynosoma strumosum, Corynosoma semerse, Bolbosoma caenoforme,* личинки *сем. Anisakidae).* Пилорические придатки (развитые у налима, сиговых, лососевых) расправляют и осматривают снаружи *(Pyramicocephalus phocarum).* Стенки желудка и пищевода после наружного осмотра исследуют под бинокулярной лупой, подбирая степень увеличения в зависимости от объекта.

3.2.5. При наружном осмотре *печени* невооруженным глазом можно заметить плероцеркоиды цестод *(Diphyllobothrium latum, Pyramicocephalus phocarum, Eustrongylides exicisus)* и личинки аниза-кид. *Поджелудочную железу, селезенку, печень* осматривают снаружи и также разрезают на пластинки толщиной около 3 мм.

3.2.6. У *яичника* разрезают оболочку, содержимое соскабливают и компрессуют. Здесь часто встречаются плероцеркоиды *Diphyllobothrium latum.* Компрессорным методом удобно просматривать лишь мелкую икру. При исследовании крупных икринок следует разбирать их препаровальными иглами в чашке Петри с небольшим добавлением воды.

Соленую икру (зернистую, паюсную, ястыковую) после предварительной подготовки (п. 2.2.4) исследуют таким же способом. При исследовании *семенников (молок)* тщательно просматривают их поверхность.

3.2.7. Последними из внутренних органов исследуют *почки,* лежащие вдоль позвоночника. Так как ткань почек очень рыхлая, обычно не удается выделить их целиком. Их соскабливают и по частям исследуют компрессорным способом, добавляя несколько капель воды. Почки - орган наиболее вероятной локализации мета-церкарий *Nanophyetus salmincola.*

3.2.8. Отрезают плавники и просматривают их с использованием микроскопа МБС при увеличении 16–48 (окуляр 8х, 12х, объектив 2х, 4х) раз в небольшом количестве воды. Здесь могут быть заметны в виде маленьких черных точек пигментированные цисты *Apophallus muhlingi* и *Rossicotrema donicum,* а также метацеркарии *Metagonimus yokogawai* и *Metagonimus katsuradai.* Мышцы плавников исследуют компрессорным способом (3.2.11.3).

3.2.9. Снимают жаберную крышку и ножницами вырезают все жаберные дуги. Их по очереди рассматривают в чашке Петри под бинокуляром, перебирая лепестки препаровальными иглами и, следя за тем, чтобы они были покрыты водой. Затем отрезают от дуги лепестки у их основания и, разбирая препаровальными иглами, выявляют паразитов, оставшихся незамеченными. На жабрах можно обнаружить метацеркарии *Echinochasmus perfoliatus, Metagonimus yokogawai, Metagonimus katsuradai, Nanophyetus salmincola, Opisthorchis felineus.*

3.2.10. После просмотра внутренних органов с рыбы снимают кожу в направлении от головы к хвосту, подрезая ее ножницами и оттягивая хирургическим пинцетом или рукой. Осматривают внутреннюю сторону кожи, а часть мышц, отделившихся с кожей, разрезают на пластинки или соскабливают и компрессуют.

3.2.11. Метод исследования мускулатуры выбирается в зависимости от целей паразитологического контроля (вида гельминта).

3.2.11.1. *Метод параллельных разрезов.* Метод применяется для обнаружения в мышечной ткани рыбы личинок гельминтов, видимых без использования увеличительных приборов (цестод, нематод, скребней).

Таблица 1

Дифференциальные признаки плероцеркоидов сем.

Вид гельминта	Географическое распространение	Дополнительные хозяева (рыбы, земноводные, пресмыкающиеся)	Локализация в теле хозяина
1	2	3	4
Diphyllobotrium latum (Лентец широкий)	Пресные водоемы и опресненные участки морей севера Евразии (РФ, Латвия, Литва, Эстония, Финляндия, Дания, Швеция, Польша, Швейцария), Сев. Италии и Америки (США, Канада); бассейны Волги, Дуная, Днепра, сибирских рек	Щука, налим, окунь обыкновенный, ерш, сом, судак обыкновенный, берш, окунь желтый, судаки светлоперый и канадский	Полость тела, икра, внутренние органы, мышцы
D. dendriticum (Лентец ячеистый)	Пресные водоемы севера Европы (РФ, Литва, Латвия, Эстония, Финляндия, Норвегия, Швеция, Польша, Германия, Ирландия, Великобритания) и Америки (Канада, США); пресные водоемы Сибири (РФ), Дальнего Востока (Сахалин), оз. Иссык-Куль	Пелядь, омуль, сиг, голец, семга, лососи (Кларка, стальноголовый), муксун, чир, харнусы (сибирский и европейский), тугун, кумжа, таймень, ленок, ряпушка сибирская и североамериканская, палия обыкновенная и американская, кижуч, корюшка, османы (алтайский, голый), налим, широколобки (большеголовая, жирная, длиннорылая)	На стенках и в толще стенок пищевода и желудка, реже на других органах и в мышечной ткани
D. luxi (D. klebanovskii) (Лентец дальневосточный)	Д. Восток, Чукотка, моря Тихого океана и бассейны рек, впадающих в них, в границах ареала дополнительных хозяев гельминта, за исключением северной части зап. Трихотья. Ареал Э. luxi не пересекается с ареалом D. latum	Кета, горбуша, сима, кунджа, сахалинский таймень	Вся дорсальная мускулатура
D. dhremum	Пресные водоемы севера Европы, Азии и Америки (на юг до 40—50° с. ш.)	Семга, форель, арктический голец, палия американская, ряпушки (сибирская, европейская), омуль, сиг обыкновенный, пелядь, тугун, хариусы (сибирский, европейский), корюшки (европейская, зубастая), налим, колюшки (трехиглая и девятииглая)	Серозные покровы пищеварительного тракта (пищевод, желудок, пилорические придатки), реже на других внутренних органах
Pyramicocephalus phocarum	Субарктическая и арктическая зоны Мирового океана	Тресковые (треска, минтай, сайка, навага, пикша); скорпеновые (окунь-клювач); рогатковые (рогатка, керчак), пинагоровые (пинагор); камбаловые (камбала-ершоватка, камбала-ерш, камбала морская), палтус	Полость тела и серозная внутренних органов (печень, пилорические придатки желудка); у минтая и наваги встречается в скелетной мускулатуре

Diphyllobothriidae, опасных для здоровья человека

Наличие или отсутствие капсул	Строение и размеры плероцеркоида
5	6
Обычно без капсул	Личинки беловато-молочного цвета, длиной от нескольких мм до 7 см. На теле и сколексе нет заметных под световым микроскопом ворсинок. Характерно наличие на теле личинки глубоких складок, которые частично сохраняются и после расслабления в воде. Сколекс с двумя щелевидными ботриями обычно втянут
Обычно в капсулах диаметром 2.2 — 11 мм. При локализации в икре, как правило, без капсул. У некоторых видов (например, сибирская ряпушка) наряду с личинками в капсулах, встречаются и свободно залегающие в полости тела плероцеркоиды	Личинки светлого кремового цвета. Длина 1—10 см, иногда до 20 см. После расслабления в воде складчатость слабо выражена. Сколекс четко отграничен от тела. Он обычно втянут или частично вытянут, при этом участки тела вокруг него образуют подобие «плечиков». Края ботридиальных листков выглядят фестончатыми. У расслабленных личинок сколекс приобретает овально-миндалевидную форму, ботридиальные щели раскрываются широко. Тело покрыто ворсинками длиной 7—11 мкм, которые на сколексе едва заметны
Овальные капсулы с прозрачными стенками (4—6 х 2—5 мм). В мускулатуре горбуши раннего хода и симы личинки залегают без капсул или находятся на разных стадиях инкапсуляции	Плероцеркоиды морфологически сходны с личинками D. latum, но в отличие от них обычно инкапсулированы. Поры фронтальных желез располагаются на сколексе и теле личинки
В капсулах	Плероцеркоиды белого цвета, длиной 6— 12 мм, после расслабления и гибели в воде тело равномерно вытянутое, палочковидное, без складок, сколекс отграничен от тела. Тело и сколекс покрыты ворсинками длиной 0,01—0,03 мм. Выживает в воде не более 10 мин
Без капсул	Морфологически сходны с личинками р. Diphyllobothrium. Длина тела 8—25 мм, до 40 мм, ширина 1—3 мм. Обычно тело в складках. Сколекс относительно массивный, булавовидно-стреловидной формы (размеры сколекса 2 х 1 мм)

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6
Spirometra erinacei-europaei	Европа и Азия. В РФ чаще всего встречается в дельте Волги, Приморье, на Сахалине	Земноводные (лягушка озерная, прудовая); Пресмыкающиеся (уж водяной, уж обыкновенный, полозы)	У лягушек - в мышцах (чаще в бедрах), в полости тела, между петлями кишечника, во внутренних органах. У змей в подкожной клетчатке, полости тела, мускулатуре, межмышечной соединительной ткани	Обычно без капсул, у змей иногда в тонких капсулах на кишечнике или подкожно	Личинки молочно-белого цвета. Длина от 5 мм до 30 см и более, в зависимости от возраста и степени сокращения личинки. Выделенный из хозяина плероцеркоид характеризуется присутствием на теле узлов сокращения, чередующихся с расслабленными участками тела. В сокращенных участках тело широкое и плоское, с глубокими поперечными складками, в расслабленных участках - узкое и лишенное складчатости. Передний конец тела обычно сокращен сильнее других участков. Сколекс небольшой, от тела не обособлен, втянут внутрь и обычно повернут в сторону. Ботрии значительно короче, чем у других дифиллоботриид (0,2—0,4 мм)

• Мышечную ткань острым скальпелем разрезают на пластинки толщиной до 5 мм, которые затем раздвигают и просматривают в падающем свете невооруженным глазом. Разрезы можно делать как поперек, так и вдоль мышечных волокон. Делая разрезы мускулатуры и встречая в ее толще крупных личинок или капсулы с личинками (величиной около 1 см и более), нужно извлечь несколько экземпляров паразитов целиком для определения вида.

• Выделенных личинок следует поместить в чашку Петри или часовое стекло с физиологическим раствором.

• При исследовании тихоокеанских лососей, кунджи и сахалинского тайменя на наличие плероцеркоидов *Diphyllobothrium luxi (D. klebanovskii)* разрезы проводят поперек мышечных волокон всей дорсальной части тела, большинство личинок локализуется между жировым и спинным плавниками.

3.2.11.2. *Метод исследования мышечной ткани на просвет.* Используется также для выявления личинок нематод, цестод, скребней. Для применения этого метода необходимо изготовить специальное приспособление - столик с прозрачной крышкой (размером не менее 40 х 40 см, лучше из молочного или матового стекла) и подсветкой снизу. Можно пользоваться столиком микроскопа типа МБС с нижней подсветкой.

• Мышечную ткань рыбы (или филе) острым скальпелем или ножом нарезают на пластинки толщиной не более 2–3 см.

• Куски мышц помещают на верхнюю крышку столика и просматривают. Яркость подсветки и толщина ломтиков в зависимости от степени просвечиваемости мяса конкретного вида рыбы устанавливается опытным путем.

• Обнаруженных личинок гельминтов выделяют из мышечных тканей рыбы с помощью препаровальных игл.

• Выделенных личинок помещают в чашку Петри или часовое стекло с физиологическим раствором.

3.2.11.3. *Компрессорный метод*

3.2.11.3.1. Метод применяется в основном для выявления метацеркарии трематод. Это очень мелкие, незаметные или малозаметные невооруженным глазом объекты, поэтому для их обнаружения и дифференциации видовой принадлежности необходимы специальные микроскопические исследования. Используют метод при просмотре мышечной ткани и внутренних органов рыб, а также мышечной ткани ракообразных. Возможно его использование при исследовании внутренних органов рыб на наличие личинок нематод и цестод.

3.2.11.3.2. Целесообразно компрессорному исследованию подвергать органы и участки мышечной ткани наиболее вероятной локализации метацеркарий (табл. 2).

3.2.11.3.3. Участок тела наиболее вероятной локализации метацеркарий освобождают от чешуи, затем скальпелем надрезают кожу по средней линии спины и двумя надрезами от первого надреза до боковой линии выделяют участок средней трети спины. Кожу с вычлененного участка поднимают пинцетом и с помощью скальпеля отделяют ее так, чтобы подкожная клетчатка осталась на поверхности мышц. Острым скальпелем соскабливают или срезают тонкие пластинки поверхностного слоя мышц, толщиной не более 2–3 мм, размещают их на нижнем стекле компрессория, накрывают другим стеклом и сдавливают их. Наиболее удобно использовать компрессорные стекла, нарезанные из обычного оконного стекла с краями, обработанными наждаком. Размеры стекол 6–8 х 12–15 см, нижнее стекло немного больше верхнего, толщина 3–5 мм. Срезы просматривают с помощью микроскопа типа МБС, используя увеличение в 16–48 раз (окуляр 8х, 12х, объектив 2х, 4х). Для уточнения диагноза кусочки тканей с личинками переносят на предметные стекла, накрывают покровными и исследуют при большем увеличении (например, объектив 8х, 10х, окуляр 7х или 10х, бинокулярная насадка 1,5х) с помощью микроскопа типа Биолам, Бимам.

При обнаружении личинок можно ограничиться просмотром мышц с одной стороны тела. При отсутствии личинок необходимо просмотреть срез и с другой стороны. При исследовании молоди рыб длиной до 20–25 мм их компрессуют целиком. Более крупных сеголеток расплющивают на две половинки и просматривают в компрессории со стороны разреза, не снимая кожи и не освобождая от чешуи.

Подсыхающие срезы, препараты увлажняют водой или физиологическим раствором из пипетки.

3.2.11.4. *Метод переваривания в искусственном желудочном соке* Необходимые реактивы и оборудование (дополнительно): 1. Химические реактивы: пепсин; концентрированная HC1; NaCl; дистиллированная вода,.

2. Весы с набором разновесов или весы электронные
3. Шпатели (лопаточки) металлические, стеклянные, деревянные
4. Воронки стеклянные разных размеров
5. Мерные цилиндры (0,5–0,25 л)
6. Банки стеклянные с притертой пробкой для хранения реактивов (0,1, 0,25, 0,5 л)
7. Банки стеклянные (или колбы) для дистиллированной воды емкостью 1–2 л
8. Набор стеклянных мерных пипеток (от 1 до 10 мл)
9. Химические стаканы " 10. Покровные стекла
11. Ситечки с ячеей 1 х 1 мм
12. Термостат
13. Холодильник

3.2.11.4.1. В специальных целях при необходимости выделения личинок из тканей гидробионтов (для дифференциации видовой принадлежности, получения материала для контрольной биологической пробы, при низкой интенсивности инвазии или для ее подсчета) используется метод переваривания. Он также более эффективен при исследовании продуктов переработки гидробионтов (фарша, пресервов). В основном используется для выделения метацеркарий трематод, реже личинок нематод.

3.2.11.4.2. Метод основан на том, что в кислой среде метацеркарий освобождаются от наружной оболочки, а окружающая их мышечная ткань переваривается в искусственном желудочном соке.

3.2.11.4.3. *Приготовление искусственного желудочного сока.* На 1000 мл дистиллированной воды (при ее отсутствии можно использовать кипяченую остывшую до температуры 37–38° С водопроводную воду) добавляют 7 г пепсина, 9,0 г поваренной соли *(NaCl)* и 10 мл концентрированной соляной кислоты *(HC1).*

3.2.11.4.4. Для выделения метацеркарий трематод берут подкожную мышечную ткань (до 0,5 см), а мелких личинок нематод -всю мышечную ткань. Ее отделяют от кожи, измельчают ножом или в мясорубке (при выделении личинок нанофиетуса используют дополнительно и почки). Затем ее заливают в соотношении 1:10 приготовленным искусственным желудочным соком (1 часть фарша и 10 частей искусственного желудочного сока). Пробу помещают в термостат на 3 ч при температуре 36–37 °С, после чего содержимое фильтруют в стеклянные цилиндры через металлический фильтр с размером ячеек 1х 1 мм или однослойный бинт. Через 15–20 мин верхний слой желудочного сока с переваренной мышечной тканью сливают, а осадок переносят в чашку Петри (или глубокое часовое стекло) и микроскопируют. Для лучшего отделения личинок в чашку Петри наливают физиологический раствор, делают несколько круговых движений, в результате которых метацеркарии концентрируются в центре чашки Петри (часового стекла), а излишки физраствора с остатками мышечной ткани удаляют пипеткой. Процедуру повторяют до полного исчезновения остатков не переваренной мышечной ткани.

Эффективность метода переваривания, в сравнении с компрессорным, в 1,5 раза выше. Метацеркарии трематод, выделенные этим способом из свежей рыбы, сохраняют свою структуру и жизнеспособность в физрастворе в течение 10–24 ч при температуре 20– 25 °С и 5–7 дней при температуре 1–4 °С и могут быть использованы для биопробы.

3.2.12. Заранее подготовленную чешую (2.1.6) исследуют с использованием микроскопа МБС (увеличение 16–48 раз, окуляр 8х, 12х, объектив 2х,4х) в небольшом количестве воды на наличие метацеркарии *Metagonimus yokogawai, Metagonimus katsuradai.*

3.3. Методика неполного гельминтологического исследования земноводных и пресмыкающихся

3.3.1. Процедура и порядок исследования земноводных и пресмыкающихся аналогичны таковым при инспектировании рыбы. Исследуют полость тела, органы и ткани, включая мускулатуру.

3.4. Методика неполного гельминтологического исследования беспозвоночных

3.4.1. *Двустворчатые моллюски.*

3.4.1.1. Для раскрытия раковины тонкий нож или скальпель вводят между створками и разрезают мускул-замыкатель. Из открытой раковины, надрезав мантию в передней ее части, сливают мантийную жидкость. Между одной из створок и прилегающей к ней мантийной складкой вводится плоская ручка скальпеля. Двигая ее по краю створки вперед и назад, сначала отделяют край мантии, прикрепленный к створке, затем передний и задний мускулы-замыкатели (аддукторы). На следующем этапе отделяют мантию и аддукторы от другой створки, после чего раковина легко удаляется.

У гребешков и устриц аддуктор один и находится в середине тела, несколько ближе к заднему краю.

3.4.1.2. Вынутое из раковины тело моллюска помещают в кювету (или чашку Петри) с водой. Осматривают мантию и просвечивающие в спинной части тела через полупрозрачную кожу - внутренние органы: печень, лежащую непосредственно позади переднего аддуктора или на спинной стороне над аддуктором (у гребешков и устриц), перикардий и граничащие с задним аддуктором почки. Обнаруженных личинок нематод извлекают препаровальной иглой.

3.4.1.3. Мантийные складки отрезают и просматривают на просвет (п. 3.2.11.2) или компрессорно (п. 3.2.11.3). Затем отрезают и осматривают жабры.

3.4.1.4. Отпрепаровывают гонады, залегающие в спинной части ноги. Они расчленены и слагаются из многочисленных мелких долек, окружающих петлю кишечника. Гонады исследуют компрессорным способом. Здесь наиболее вероятно обнаружение личинок *Echinocephalus sinensis* и *Sulcascaris sulcata*. Затем выделяют пищеварительную систему и исследуют таким же образом.

3.4.1.5. Аддукторы и ногу исследуют так же, как мускулатуру у рыб (п. 3.2.11). Аддуктор гребешков - место наиболее вероятной локализации *Sulcascaris sulcata*.

3.4.1.6. Выявленных личинок помещают в чашку Петри или часовое стекло с физиологическим раствором для дальнейшего определения вида паразита.

3.4.2. *Головоногие моллюски.* У кальмаров и каракатиц разрезается мантия на брюшной стороне. Разрез делают ножницами или скальпелем по срединной линии, начиная от края мантии, до основания плавника. При этом стараются не повредить чернильный мешок. У осьминогов, кроме того, разрезают мускулистую продольную перегородку, открывая доступ в мантийную полость. Отгибают стенки мантии и осматривают внутренности. Последовательно отделяют жабры, гонады, пищеварительную систему. Внутренние органы исследуют компрессорно. Особое внимание обращают на гонаду, где возможно обнаружение личинок нематод рода *Anisakis*. Освобожденную от внутренних органов мантию исследуют аналогично мышечной ткани рыб - на просвет (п. 3.2.11.2) или методом параллельных разрезов (п. 3.2.11.1). На внутренней стороне мантии, в пленках встречаются личинки нематод родов *Anisakis* и *Contracaecum*.

3.4.3. *Ракообразные.*

3.4.3.1. При инспектировании пресноводных крабов и раков на наличие метацеркарий парагонимид в первую очередь исследуют мышцы грудного отдела и сердце, как места наиболее вероятной локализации личинок (до 90 % случаев). Для этого у ракообразных ножницами срезают карапакс, затем с помощью скальпеля вырезают мышцы грудного отдела. Используя компрессорный метод (п. 3.2.11.3), микроскопируют при увеличении в 16–48 раз (окуляр 8х, 12х, объектив 2х, 4х). Из задней части грудного отдела вычленяют сердце и исследуют таким же образом.

3.4.3.2. С боковых сторон головогруди срезают жабры и исследуют компрессорно в небольшом количестве воды.

3.4.3.3. Для выделения мяса из абдомена, последний отрезают от груди и ножницами разрезают панцирь от верхнего края «шейки» до тельсона (хвостового веера). Конечности (у крабов и раков) разрезают на части (поперек) вблизи кожистых суставов, одновременно разрезая хитиновую пластинку, прикрепленную к суставу. Панцирные трубки разрезают вдоль и извлекают мясо. Клешню разбивают резким и сильным ударом деревянного молотка. Всю мышечную ткань просматривают в компрессории.

3.4.3.4. Всю выделенную мышечную ткань можно исследовать методом переваривания в искусственном желудочном соке (п. 3.2.11.4).

4. Методы дифференциальной диагностики личинок гельминтов

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор; жидкость для просветления нематод (1 часть дистиллированной воды + 1 часть концентрированной молочной кислоты + 1 часть глицерина)
2. Предметные стекла
3. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 2– 4 мм)
4. Покровные стекла
5. Чашки Петри
6. Часовые стекла
7. Пинцеты разных размеров (анатомические, хирургически, глазные)
8. Препаровальные иглы разной толщины
9. Пипетки стеклянные (пастеровские)
10. Резиновые груши
11. Бинокулярный микроскоп типа МБС
12. Лупа
13. Осветитель для бинокуляра любой марки
14. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
15. Осветитель к микроскопу любой марки
16. Окуляр-микрометр для светового микроскопа
17. Окуляр-микрометр для бинокулярного микроскопа
18. Объект-микрометр

Для определения видовой принадлежности личинок гельминтов необходимо исследование с применением оптических средств.

Извлеченных из рыб, моллюсков, ракообразных, земноводных и пресмыкающихся плероцеркоидов, личинок нематод, скребней, отделенных от тканей метацеркарий или включения, которые могут быть приняты за паразитов (в том числе инцистированных или инкапсулированных) помещают на предметное стекло в каплю воды или физиологического раствора, накрывают покровным стеклом и исследуют сначала под малым (в 56–150 раза, окуляр 7х, 10х, объектив 8х,10х, бинокулярная насадка 1,5х), а затем под большим (в 140–600 раз, окуляр 7х,10х, объектив 20х, 40х, бинокулярная насадка 1,5х) увеличением микроскопа.

Дифференциальная диагностика нематод требует предварительного выдерживания личинок в просветляющей жидкости. Крупных личинок с плотной кутикулой просветляют до двух-трех дней (личинки *сем. Anisakidae),* мелких с тонкой кутикулой - не менее 3–5 ч.

Для проведения необходимых измерений личинок, отдельных их частей или органов следует пользоваться окуляром-микрометром (окуляром, с установленной в его фокальной плоскости прозрачной пластинкой с линейкой длиной в 1 см с делениями, соответствующими 0,1 мм). Цена деления шкалы при использовании разных объективов меняется и вычисляется с помощью объект-микрометра - препарата, представляющего собой нанесенную на стекло шкалу с ценой деления 0,01 мм. Если m делений изображения объект-микрометра по величине соответствует n делениям окулярной шкалы, точное значение увеличения объектива (b) будет равно b = 10 n/m. При измерении объектов наблюдают, в пределах скольких делений n окулярной шкалы располагается изображение измеряемого элемента, и размер его (a) подсчитывают по формуле: a = 0,1 n/m.

В случае, если исследователь не может установить видовую принадлежность личинок гельминтов, паразитов следует поместить в фиксатор (см. раздел 6) и направить на консультацию в базовые (головные в системах сертификации или СНЛК*) испытательные лаборатории (центры), аккредитованные в установленном порядке или в профильные научно-исследовательские институты.

4.1. Дифференциальная диагностика личинок цестод

4.1.1. Цестоды, заражение человека которыми происходит при употреблении в пищу необезараженной рыбной продукции, относятся к семейству *Diphyllobothriidae.*

В пресноводных, проходных и морских рыбах, а также земноводных и пресмыкающихся паразитирует личиночная стадия лентецов - плероцеркоид, имеющий вид нерасчлененного мягкого червя (складки на теле могут создавать вид ложной сегментации), слегка уплощенного в дорзо-

вентральном направлении, молочно-белого или кремового цвета. Головной конец (сколекс) не имеет крючьев или других подобных образований, но имеет две щелевидные присоски (ботрии) - органы прикрепления. Длина тела личинки колеблется от 1–2 мм до 10 и более сантиметров. Установить наличие у личинки сколекса с ботриями необходимо, так как за плероцеркоида могут быть приняты их фрагменты или фрагменты других цестод.

У живых, только что извлеченных из свежей рыбы плероцеркои-дов, сколекс втянут (инвагинирован) или частично втянут, но при помещении их в теплую воду сколекс вытягивается, то сокращаясь, то расслабляясь. На вытянутом сколексе становятся заметными ботрии.

4.1.2. Половозрелые формы гельминтов *р. Diphyllobothrium* встречаются в кишечнике морских и наземных млекопитающих, рыбоядных птиц. У человека могут паразитировать *Diphyllobothrium latum, Diphyllobothrium dendriticum* и *Diphyllobothrium luxi (D. klebanovskii). Diphyllobothrium ditremum* - паразит рыбоядных птиц - также может приживаться у человека, но половой зрелости не достигает и яиц не выделяет, медицинское значение его невелико. Отмечаются случаи паразитирования у человека лентецов рода *Dyplogonoporus (D. fukuokaensis* зарегистрирован у человека в Японии), заражение которыми происходит от необеззараженных морских и проходных рыб. Плероцеркоиды рода *Dyplogonoporus* морфологически сходны с таковыми рода *Diphyllobothrium.*

Случаи спарганоза человека, вызываемого *Spirometra erinacei-europaei,* встречаются спорадически в России и странах Юго-Восточной Азии, реже на других континентах (в Австралии и Америке распространены другие виды *Spirometra).* Плероцеркоиды (спарганумы) рода *Spirometra* у человека не развиваются до взрослой стадии. Их окончательные хозяева - домашние и дикие плотоядные (сем. Собачьи, Кошачьи).

4.1.3. При определении видов плероцеркоидов используют морфологические признаки, характер локализации личинок (капсул с личинками), состав дополнительных хозяев, географическое распространение (см. табл. 1, рис. 1–5).

Кроме того, при исследовании свежей и охлажденной рыбы имеет значение такой признак, как срок выживания личинок в пресной воде. Так, развитые плероцеркоиды *Diphyllobothrium latum* и *Diphyllobothrium luxi(D. klebanovskii)* выживают в воде около суток и более, *Diphyllobothrium dendriticum* - до 2,5 ч (мелкие - не более 1 ч), а *Diphyllobothrium ditremum* (по локализации инкапсулированных личинок сходного с *Diphyllobothrium dendriticum)* – не более 10 мин.

Спарганумы *Spirometra erinacei-europaei* с неповрежденным те-гументом выживают в водопроводной воде более суток, в физиологическом растворе - до 8–13 дней.

4.2. Дифференциальная диагностика метацеркарий трематод

4.2.1. Трематоды - наиболее распространенные паразиты морских и пресноводных рыб. Подавляющее их большинство не опасно для здоровья человека. Метацеркарий трематод - возбудители заболеваний человека - относятся к 5 семействам: *Opisthorchidae, Heterophyidae, Nanophyetidae, Echinostomatidae* и *Paragonimidae.*

При определении семейства и вида трематод в первую очередь ориентируются на размер и форму цисты, характер ее оболочек; положение личинки в цисте (подвижность**) и ее строение, в т. ч. размер, цвет и форму экскреторного пузыря; круг дополнительных хозяев и локализацию в теле рыбы или ракообразных (см. табл. 2, 3). Все опасные для здоровья человека метацеркарии, встречающиеся в рыбе, заключены в цисты. Размеры цист не превышают 1 мм. Поэтому обнаруженные в рыбе более крупные или свободные, не инцистированные метацеркарии не нуждаются в дальнейшем исследовании.

Метацеркарии *ceM.Paragonimidae* могут быть как в цистах, так и свободными.

Определение трематод до вида по строению цисты возможно только при достаточном навыке исследователя. В противном случае для уточнения видовой принадлежности трематод целесообразно извлечь метацеркарию из цисты.

---

* СНЛК - сеть наблюдения и лабораторного контроля. 20

* В тех случаях, когда для метацеркарии характерна подвижность внутри цисты, ее можно наблюдать не только в свежевыловленной рыбе, но и в течение нескольких дней после. Подвижность может восстанавливаться и после промораживания рыбной продукции, недостаточного по времени для гибели личинки, при повышении температуры до 37 °С.

Таблица 2

Дифференциальные признаки мегацеркарий трематод сем. Opisthorchidae, Heterophyidae, Nanophyetidae и Echinostomatidae, îïàñíûå äëÿ çäîðîâüÿ +âëîâåêà

Вид-гельминта	Географическое распространение	Виды рыб – дополнительных хозяев	Локализация в теле рыбы	Размер (в мм) и характеристика цисты	Характеристика экскреторного пузыря	Положение и подвижность личинки	Строение и размеры освобожденной от цисты личинки (в мм)
1	2	3	4	5	6	7	8
Opisthorchis felineus	Пресные водоемы Европы; бассейны рек Обь, Иртыш, Енисей, реки Казахстана: Уил, Сары-Су, Байконур, Уил-Жиланшик, Иргиз, Тургай, Нура, Шидерты, озера Кургальджи	Язь, елец, линь, красноперка, плотва, верховка, голавль, лещ, чехонь, синец, гольяны обыкновенный и Чекановского, подуст, белоглазка, уклея, густера, пескарь, щиповка, жерех	Верхний слой мышечной ткани(2-4 мм) и подкожная клетчатка в области спины, реже в плавниках, на жабрах, в чешуе	0,17—0,25х0,21—0,33 овальная, реже округлая. Оболочка двуслойная, тонкая, прозрачная. Внутренняя по всему периметру равномерно прилегает к наружной	Крупный, до 1/3 части тела. В лучах проходящего света в виде большого темного пятна	Метацеркария лежит в цисте в изогнутом положении, которое меняется из-за почти постоянного энергичного движения личинки	0,44—1,36 х 0,15—О.ЗО.РП*-0.07—0,1; БП**-0,09—0,14. Тело личинки не пигментировано, покрыто шипиками до уровня БП. Пищевод длинный (в 2 раза длиннее фаринкса). Развилка кишечника лежит на равном расстоянии от переднего конца тела и БП. Зачатки семенников лежат наискось один к другому по краям экскреторного пузыря
Metorchis bilis	Пресные водоемы Калининградской и Московской областей, Украины, Зап. Сибири, Казахстана, Сев. Кавказа, бассейн Волги	— II —	Верхний слой мышечной ткани (2-4 мм) и подкожная клетчатка в области спины	0,12—0,16х0,19—0.22 овальная. Оболочка тонкостенная двуслойная. Между оболочками цисты заметны промежутки	До 1/4 объема задней части тела черный, округлый	Движения замедленные	0,27—0,33 х 0,05—0,1. РП = БП -0,05, расположена несколько кзади от середины тела. Тело не пигментировано. Покрыто шипиками треугольной формы до уровня заднего края БП. Пищевод очень короткий

* РП - ротовая присоска
- БП - брюшная присоска

Продолжение таблицы

Pseudamphistomum truncatum	Пресные водоемы средней полосы России, Поволжья, Казахстана, Зап. Сибири, бассейны рек, впадающих в Черное море	Язь, плотва, густера, лещ, линь, красноперка, вобла, синец	— II —	0,39—0,45 х 0,40— 0,54. Округлая или слегка овальная. Оболочка тонкая прозрачная двуслойная. Слои равномерно прилегают друг к другу	Крупный черный округлый почковидный, занимает не более 1/3 тела	Метацеркария сложена в средней части тела в вентральном положении, лежит в цисте свободно. Движения редкие	1,28—1,54 х 0,34—0,40. БП, как правило, крупнее РП. Тело покрыто шипиками, немного не доходящими до заднего конца тела. Пищевод короткий, такой же длины, как фаринкс. Развилка кишечника лежит много выше, чем у O. felineus, приближена к РП. Зачатки семенников лежат почти на одном уровне
Clonorchis sinensis	Пресные водоемы юго-восточных и центральных районов стран Дальнего Востока (Япония, Китай, Корея, Вьетнам). В России бассейны Амура и Уссури	Карповые китайского ихтиоком-плекса (более 70 видов); корейские косатки, японская оризия, риногобиус, элеотрис, тиляпия, малоротая корюшка, сельдьилиша, змееголов	— II —	0,13—0,15х0,15—0,18 шаровидной формы. Оболочка двуслойная, внутренняя равномерно прилегает к наружной	Черный грушевидный, до 1/4 части тела. Заполнен плотно расположенными гранулами (до 10 мк)	Слабые движения	0,3—0,4 х 0,12—0,14. РП - 0,05, БП - 0,06. Тело желто-коричневой пигментации. Ши-пики по всему телу, за исключением самой задней части. Пищевод длинный, разветвляется на уровне середины расстояния между глоткой и передним краем БП. Имеется 14 сенсорных папилл по краям тела, 12 вокруг РП, 9 вокруг БП
Apophallus muehlingi	Бассейны Балтийского, Черного и Каспийского морей; реки Карпат и Закарпатья	Карповые, окуневые; щука, судак	Ткани плавников, жабры	0,20—0,29 х 0,14 — 0,20, эллипсовидной или шаровидной формы. Пигментированы в виде маленьких черных точек	Y-образной формы, задний конец S-образно изогнут		0,50—0,58 х 0,10—0,12. Пищевод доходит до половины длины тела. Кутикула покрыта мелкими шипиками-чешуйками. Зачатки семенников лежат один за другим, наискось по сторонам выделительного пузыря

Продолжение таблицы

Rossicotrema donicum	Реки, впадающие в Черное море, лиманы Азовского моря, низовье Волги, р. Тиса	Окуневые, атериновые, реже карповые	Ткани плавников и хвоста, реже в подкожной клетчатке и мышцах	0,26—0,34 х 0,20—0,23, эллипсовидной формы. Оболочка двуслойная, окружена кольцом черного пигмента	Y-образной формы		0,49—0,53 х 0,13—0,15. РП -0,035—0,045. БП меньше РП. Пищевод 0,05—0,10 (не более 1/4 длины тела). Зачатки семенников округлые, диаметром 0,04, почти на одном уровне, чуть наискось по бокам выделительного пузыря
Metagonimus yokogawai M.katsuradai	Пресные водоемы стран Дальнего Востока (Япония, Китай, Корея, РФ); реки Карпат, Прикарпатья и впадающие в Черное и Каспийское моря	Свыше 60 видов рыб 7 семейств (карповые, сомовые, окуневые, лососевые, сиговые, харпусовые, щуковые)	В чешуе, реже на плавниках, жабрах, в подкожной соединительной ткани, мышцах	0,15—0,22 шаровидной или овальной формы. Оболочка двуслойная	V-образной или мешковидной формы, черный, гранулы темно-бурые мелкие	Движения активные	0,32—0,40 х 0,09—0,1. РП - 0,05, БП - 0,04. Личинка листовидной или языковидной формы. На поверхности передней части тела ясно видны чешуеобразные образования - шипы. Пищевод длинный, 0,18мм. Половой синус сдвинут в сторону от срединной линии тела
Cryptocotyle lingua	Балтийское и Баренцовое море, Северная Атлантика	Тресковые, сельдевые и камбаловые	Подкожная соединительная ткань, мышцы, роговица глаз	0,8 х 0,6, овальной формы. Оболочка двуслойная. Окружена кольцом черного пигмента	V-образной формы		0,45—0,48. РП - 0,03 х 0,04, субтерминальна. БП слабо выражена, в задней трети тела. Личинка языковидной формы. Кутикула покрыта мелкими шипиками. Половая присоска крупнее РП и БП позади последней в виде 1 сосочка

Crypto-cotyle sp.	Дальневосточные моря Тихого океана, о. Сахалин, оз. Долгое	Лососевые (горбуша, кета, нерка, кижуч, чавыча)	Подкожная соединительная ткань	0,3—0,4, овальная. Окружена кольцом черного пигмента	V-образной формы		БП немного крупнее РП, расположена позади нее. Личинка языковидной формы
Heterophyes heterophyes	Моря, омывающие Палестину, Египет, Тунис, Израиль, Японию, Индию; речные эстуарии и пресные водоемы (в т. ч. прудовые х-ва) тех же стран	Кефалевые, ставридовые, цихлидовые, лавраковые	Мускулатура тела, сердце	0,13—0,26, беловатой окраски, округлые или слегка овальные. Толстая наружная оболочка (0,004—0,012) и тонкая внутренняя мембрана	Сердцевидный, занимает 1/8 часть длины тела	Метацеркария в цисте согнута так, что ее передняя часть налегает на заднюю с брюшной стороны	0,21 х 0,40. РП - 0,03—0,05, БП -0,03—0,04. 3/4 тела густо покрыто чешуеобразными шипиками, передний конец сплющен дорсовентрально, задний округлый. Ветви кишечника тянутся до заднего конца тела, сразу за бифуркацией они шире, чем в задней части
Nanophyetus salmincola	Реки, впадающие в сев. часть Тихого океана (США, Канада, в РФ - бассейн среднего и нижнего Амура, побережье Татарского пролива, водоемы севера Сахалина, Командорских о-в)	Лососевые (таймень, ленок, горбуша, кета, кижуч, чавыча, кумжа, американская палия, лососи стальноголовый, атлантический); хариус, подкаменщик, гольян, амурские язь и щука	Почки, мышцы плавников и тела, жабры, печень, стенки кишечника	0,21—0,35, округлые (в виде белых точек, видимых невооруженным глазом). Прозрачная оболочка и толстостенная волокнистая соединительнотканная капсула	Крупный 0,07—0,10х0,23—0,24, темный, наполнен непрозрачными гранулами		0,35—0,65 х 0,18—0,34. РП -0,07—0,12, БП - 0,07—0,11, расположена посередине длины метацеркария. Вся кутикула покрыта тонкими, отогнутыми назад шипиками. Зачатки 2 семенников в задней половине тела. Ветви кишечника достигают зачатков семенников

Продолжение таблицы

Echinochasmus perfoliatus	Пресные водоемы Нижнего Поволжья, Зап. Казахстана (Актюбинская обл); бассейны Зап. Двины, Днепра, Березины, Сожа, Припяти	Щука, карповые (белоглазка, тарань, линь, сазан, язь, синец, плотва, вобла, карась, лещ, уклея, жерех и др.), ерш, судак, окунь, вьюн, сом	Жабры (на основании жаберных лепестков)	0,05—0,11х0,04—0,098, круглой формы. Оболочка прозрачная, эластичная. 0,002—0,003	Узкий извилистый из двух экскреторных полостей	Движения слабые	0,0116—0,043. РП = БП = 0,0258—0,03. Тело личинки широкоокруглое. РП окружена адоральным диском, ширина его менее ширины тела. Крупные светопреломляющие шипы на нем расположены дорсально, прерванным рядом из 24 шипов

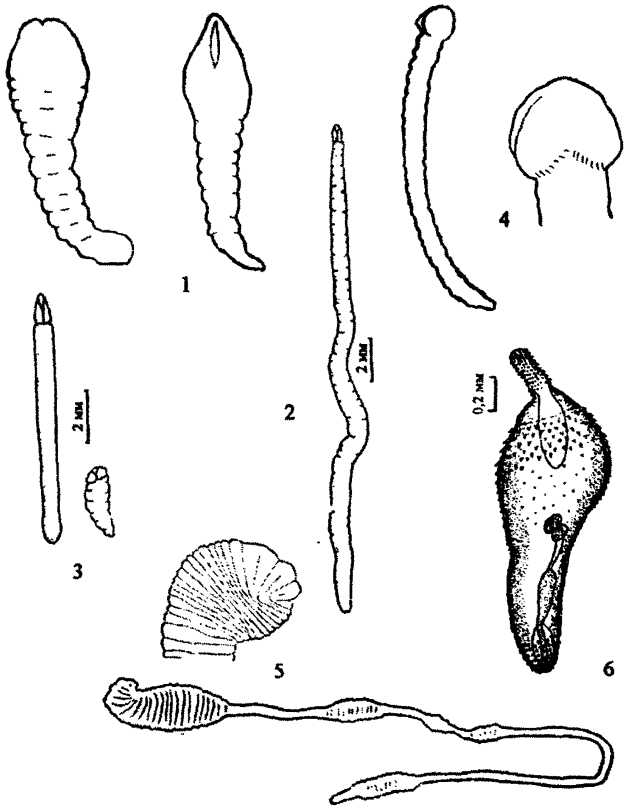


Рис. 1—6. 1 – Diphylobothrium latum (с инвагинированным и эвагинированными сколексами); 2 – D. dendriticum; 3 – D. ditremum (в расслабленном и сокращенном состоянии); 4 – Pyramicocephalus phocarum (общий вид и головной конец); 5 – Spirometra erinacei-europaei (головной конец и общий вид); 6 – Corynosoma strumosum.

Тщательно отделенную от окружающих тканей цисту помещают на стекло в каплю воды или физиологического раствора. Оболочку ее разрывают тонкими иглами (лучше энтомологическими булавками № 00) или легким надавливанием покровного стекла. Если при этом личинка сама не выходит из цисты, то ее вымывают водой из пипетки. Выход метацеркарии из цист можно стимулировать, воздействуя дуоденальным содержимым человека или животных, или трипсином (см. п. 5.3.1).

По морфологии выделенных из цист личинок во многом можно судить о строении взрослых трематод. Ротовое отверстие у метацеркарии трематод всех пяти семейств расположено на переднем конце, окружено ротовой присоской. Передний конец тела не несет каких-либо выростов или боковых присосок. Брюшная присоска более или менее выражена. Орган Брандеса позади брюшной присоски отсутствует. Кишечник с бифуркацией. Ветви кишечника без ответвлений.

Дальнейшее определение метацеркарий, имеющих вышеперечисленные признаки, проводят следующим образом:

1(2) Метацеркарий локализуются в различных тканях ракообразных
.....*сем. Paragonimidae* (п. 4.2.6)

2(1) Метацеркарий локализуются в различных тканях рыб

3 (4) Передний конец тела вооружен шипами
.....*ceM.Echinostomatidae* (п. 4.2.5)

4 (3) Передний конец тела не несет шипов

5 (8) Ветви кишечника длинные, до конца тела

6 (7) Ветви кишечника прямые. Шипиков вокруг ротового отверстия нет. Брюшная присоска, как правило, крупнее ротовой.

Предглотки нет. Выделительный пузырь большой, темный
.....*ceM.Opisthorchidae* (п. 4.2.2)

7(6) Концы ветвей кишечника более или менее загибаются внутрь, к срединной линии тела. Предглотка имеется
.....*ceM.Heterophyidae* (п.4.2.3)

8(5) Ветви кишечника короткие не переходят за уровень заднего края зачатков семенников
.....*ceM.Nanophyetidae* (п.4.2.4)

4.2.2. К сем. *Opisthorchidae* относятся трематоды с удлиненным, сплющенным и всегда заметно суженным кпереди телом. Присоски сравнительно слабо развиты и сближены. Ветви кишечника длинные, пищевод разной длины. Во взрослом состоянии - паразиты желчных протоков печени, желчного пузыря и поджелудочной железы млекопитающих, птиц, рептилий.

1(2) Циста с толстой оболочкой, сферическая
.....*Metorchis xanthosomus* (рис. 8)*

2(1) Циста тонкостенная, сферическая или овальная

3(6) Пищевод длинный, развилок кишечника удален от ротовой присоски

4(5) Шипики по всему телу. Желто-коричневая пигментация тела. Ротовая присоска меньше брюшной .....*Clonorchis sinensis* (рис. 11)

5(4) Шипики до заднего края брюшной присоски**. Тело не пигментировано. Ротовая и брюшная присоски примерно равны по величине.....*Opisthorchis felineus* (рис. 7)

6(3) Пищевод короткий, развилок кишечника приближен к ротовой присоске

7(8) Тело покрыто шипиками, немного не доходящими до заднего конца тела. Брюшная присоска крупнее ротовой.....*Pseudamphistomum truncatum* (рис. 9)

8(7) Шипики до уровня заднего края брюшной присоски. Присоски одинакового размера
.....*Metorchis bilis* (рис. 10).

---

* Медицинского значения не имеет.

** Шипики легко отрываются при извлечении личинки из цисты и видны не всегда. Рассмотреть их без извлечения личинки из цисты не удается.

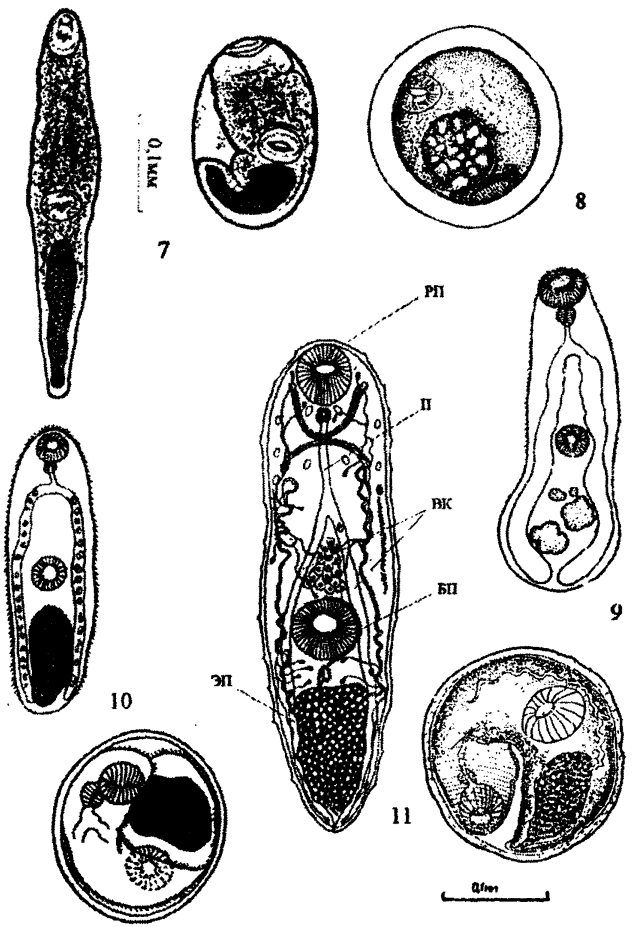


Рис. 7—11. 7 – Opisthorchis filineus (личинка вне цисты и в цисте); 8 – Metorchis xanthosomus; 9 – M. bilis (M. albidus); 10 – Pseudamphistomum truncatum (личинка вне цисты и в цисте); 11 – Clonorchis sunensis (личинка вне цисты и в цисте). РП – ротовая присоска; П – пищевод; ВК – ветви кишечника; БП – брюшная присоска; ЭП – экскреторный пузырь.

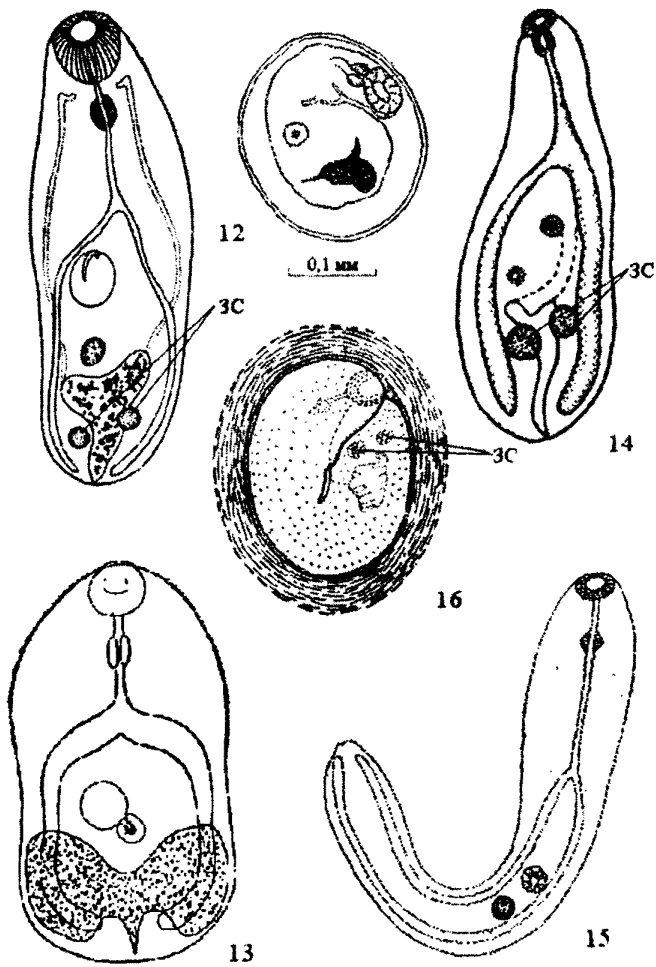


Рис. 12—16. 12 – Metagonimus yokogawai (личинка вне цисты и в цисте); **13** – Heterophyes heterophyes; **14** – Rossicotrema donicum; **15** – Apophallus muchlingi; **16** – Cryptocotyle lingua. ЗС – зачатки семенников.

4.2.3. К сем. *Heterophyidae* относятся мелкие трематоды с телом, покрытым чешуеобразными шипиками, число которых уменьшается к заднему концу. Присоски слабо развиты. У видов, имеющих медицинское значение ротовая присоска без шипов. Зачатки семенников в заднем конце тела, обычно на одном горизонтальном уровне или слегка наискось. На брюшной стороне имеется более или менее сильно развитая впадина - генитальный синус, в котором бывает скрыта редуцированная брюшная присоска. Имеется половая присоска, которая часто объединяется с брюшной в общий комплекс.

Обычно паразиты кишечника рыбоядных птиц и млекопитающих. Случаи заражения человека *Heterophyes heterophyes* описаны в Японии, Индии, Палестине, Египте, Тунисе. Заболевания человека, вызванные паразитированием *Metagonimus yokogawai*, регистрируются только в странах Юго-Восточной Азии и южной части Дальнего Востока РФ, в то время как в Европейско-Кавказской части ареала трематода обнаружена лишь у млекопитающих и птиц.

1(2) Экскреторный пузырь сердцевидный

.....*Heterophyes heterophyes* (рис. 13)

2(1) Экскреторный пузырь иной формы (V-образной, Y-образной или мешковидной формы)

3(4) Половой синус сдвинут в сторону

.....*Metagonimus yokogawai, Metagonimus katsuradai* (рис. 12)

4(3) Половой синус расположен медианно

5(8) Половая присоска представлена двумя более или менее выраженными сосочками впереди брюшной присоски

6(7) Предглотка длинная, пищевод достигает половины длины тела. Преимущественно у карповых рыб *Apophalus muehlingi* (рис. 15)

7(6) Предглотка короткая, пищевод не более 1/4 тела. Преимущественно у окуневых рыб

.....*Rossicotrema donicum* (рис. 14)

8(5) Половая присоска представлена одним сосочком, расположенным позади брюшной присоски.....р. *Cryptocotyle* (рис. 16)

4.2.4. К сем. *Nanophyetidae* относятся маленькие грушевидные или удлиненные трематоды. Ротовая присоска субтерминальна, хорошо развита. Глотка имеется. Пищевод очень короткий, кишечник различной длины (ветви не переходят за уровень заднего края зачатков семенников). Брюшная присоска в средней трети тела. Зачатки семенников симметрично лежат в задней части тела. Выделительный пузырь мешковидный. Паразиты кишечника человека, рыбоядных млекопитающих и птиц *(Nanophyetus salmincola)* (рис. 17).

4.2.5. У трематод сем. *Echinostomatidae* передний конец тела образует особый воротничок (адоральный диск), окружающий ротовую присоску и несущий по краю одинарный или двойной ряд крупных шипов, число и расположение которых определенно для отдельных родов и видов. Определение связано с трудностями, так как на первых этапах развития (10–12 дней) личинки не имеют адо-рального диска. Половозрелые черви р. *Echinochasmus* - паразиты кишечника рыбоядных птиц. Описаны случаи заражения человека *Echinochasmus perfoliatus* (рис. 18).

4.2.6. Тело эксцистированной метацеркарии *сем. Paragonimidae* удлиненно-овальной формы. В живом виде метацеркария способна сильно вытягиваться и сокращаться. Тегумент вооружен густыми рядами шипиков, величина которых уменьшается к заднему концу. Присоски развиты слабо, одинакового размера, в ротовой почти всегда имеется стилет. Пищевод короткий, ветви кишечника достигают конца тела, все пространство между ними заполняет большой мешковидный черный (в проходящем свете) экскреторный пузырь. Впереди брюшной присоски располагаются разделенные на две группы 14 крупных железистых клеток (рис. 19–22).

В табл. 3 приведены диагностические признаки метацеркарии парагонимид, достоверно зарегистрированных в качестве возбудителей разных форм парагонимоза у человека. Тем не менее, нужно считать, что потенциальное медицинское значение имеют все виды парагонимид: одни вызывают типичный легочный парагонимоз, другие дают больший процент атипичных локализаций, а третьи не развиваются в человеке до стадии мариты, а используют его как ре-зервуарного хозяина.

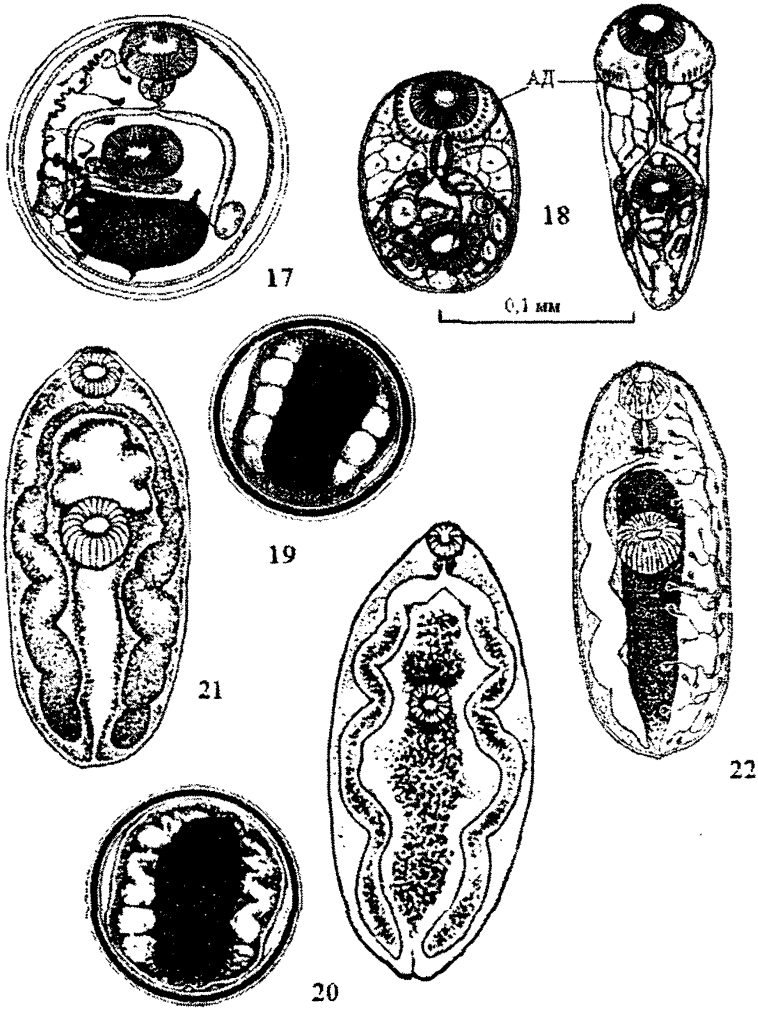


Рис. 17—22. 17 – Nanophyctus salmincola; **18** – Echinochasmus perfoliatus (личинка в цисте и вне цисты); **19** – Paragonimus westermani westermani; **20** – P. w. ichunensis (личинка вне цисты и в цисте); **21** – P. w. mexicanus; **22** – P. mexicanus. АД адоральный диск.

Таблица 3

Дифференциальные признаки метацеркарий трематод сем. Paragonitnidae, опасных для здоровья человека

Вид гельминта	Географическое распространение	Виды пресноводных ракообразных - вторых дополнительных хозяев	Размер и форма цисты (мм)	Строение и размеры освобожденной от цисты личинки (в мм)
1	2	3	4	5
Paragonimus westermani westermani	Индия, Шри Ланка, Таиланд, Малайзия, Индонезия, КНР, Япония, Россия (южные и центральные районы Хабаровского края, Южное Приморье)	Крабы р. Parathelphysa, Candidopotamon, Potamon и др., раки р. Cambaroicles	0.259 0.300 сферическая, оболочка трехслойная	0,8—1,1 х 0,27—0,38. РП - 0,065—0,08х0,09—0,1, БП-0,115— 0,14 х 0,0117—0,147 лзасположена преэкваториально. Поверхность тела густо покрыта шипиками. Кишечные стволы делают три изгиба и тянутся до конца тела
P. w. ichunen-sis	КНР, Россия (южные и центральные районы Хабаровского края, Южное Приморье)	Раки Cambaroides schrencki, C. dauricus	0,259—0,347 сферическая, оболочка трехслойная	0,4—0,86 х 0,22—0,15. РП - 0,08— 0,09, стилет-до 0,017, БП-0,10— 0,11. Эксцистированная метацеркария очень подвижна. Вся поверхность густо покрыта одиночными шипами
P. w.fuipinus	Филиппины	Крабы Sundathel-pnysa picta, S. phitippina	0,295х0,278, оболочка двуслойная	0,432—0,624 х 0,192—0,269. РП -0,074 х 0,079, стилет 0,012—0,019. БП - 0,079—0,096 х 0,084—0,101
P. hetero-tremus	Таиланд, КНР, Лаос	Крабы р. Potamin, Potamon	0,274—0,319х0,217 — 0,251, оболочка трехслойная*	0,34 х 0,08. РП - 0,04—0,07, стилет кинжалообразный, БП - 0,05— 0,08 х 0,06. Ветви кишечника утолщаются кзади, образуя 2—3 изгиба
P. kellicotti	Северная Америка	Раки р. Cambaroides, Orconectes	0,381—0,457х0,381 - - 0,447, оболочка двуслойная	0.524—0.866 х 0,209—0,295. РП -0,06 х 0,08, стилет 009 -0,022, БП -0,067 х 0,111. Ветви кишечника узкие у бифуркации, расширяются кзади
P. pulmonalis	Япония, Тайвань, КНР, Корея, возможно Россия (Южное Приморье)	Крабы Eriocher japonicus, раки Cambaroides similis	0,389—0,450 сферическая, оболочка трехслойная	РП несколько крупнее БП, Тело покрыто редкими шипиками. Кишечные стволы извиваются слабо

* Наружный слой тонкий (0,004 мм), сильно преломляющий свет, средний слой имеет характерные утолщения у противоположных полюсов.

Продолжение таблицы

P. skrjabini	КНР	Крабы Potamon denticulatus, P. yaanensis	0,427—0,436 сферическая, оболочка трехслойная 0,010—0,014	0,453—1,138 х 0,188—0,533. Кишечные стволы извилистые
P. mexicanus	Перу, Панама, Коста-Рика, Гватемала, Эквадор, Гондурас, Сальвадор, Мексика	Крабы р. Potamocarcinis, Psendothelphysa, Ptychophalivs	Не инцистируется	
P. uterobilate-ralis	Камерун, Либерия, Нигерия, Гвинея, Габон	Крабы р. Libero-nautes, Sudanonautes	Оболочка однослойная	

4.3. Дифференциальная диагностика личинок нематод

4.3.1. Нематоды, заражение которыми происходит через рыбную продукцию, относятся к разным систематическим группам и разнообразны по морфологическому строению. Общие систематические признаки: удлиненная и веретенообразная форма; наличие кутикулы; хорошо развитая пищеварительная система; раздельная половая система - непарная у самцов, парная у самок (на стадии личинки они различаются в основном по форме хвостового конца); развитие с 4 линьками и 5 стадиями. Жизненный цикл идет с участием одного или двух промежуточных хозяев, часто и резервуарного хозяина, в которых обычно встречаются личинки II, III, иногда IY стадии. Инвазионными для человека являются личинки III и IV стадии.

Размеры личинок, характер вооружения головного конца, строение пищеварительной системы используются в систематике нематод для дифференциальной диагностики (табл. 4).

4.3.2. К *сем. Dioctophymidae* относятся нематоды с простым головным концом (без мышечной присоски). Кутикула поперечно исчерчена. *Dioctophyme renale* - во взрослом состоянии паразиты почек диких и домашних животных, редко человека. Промежуточные хозяева - олигохеты, роль резервуарных хозяев выполняют земноводные и рыбы, в которых развитие не идет - личинки остаются на III стадии (рис. 24). Отмечены случаи заражения человека диоктофи-мидами *Eustrongylides excisus*. Обычно это паразиты желудка водоплавающих птиц. В рыбах, играющих роль второго промежуточного или резервуарного хозяина, встречаются на III и IV стадии развития. У рыб семейства осетровых при определенных условиях *Eustrongylides excisus* могут развиваться до половозрелой стадии. В этом случае, опасности для человека они не представляют.

4.3.3. К *сем. Gnathostomatidae* относятся нематоды с 4–6 одноядерными пищеводными железами. Пищевод состоит из мышечного и железистого отделов. Губы (псевдолабии) большие трехлопастные или куполообразные.

Личинки *Echinocephalus sinensis* (рис. 25) и *Echinocephalus sp.* представляют потенциальную угрозу для здоровья человека. В эксперименте заражаются котята и макаки-резусы: личинки III стадии проникают через стенки желудка, толстого и тонкого кишечника. Заражение человека возможно при употреблении в пищу сырых (или не проваренных) съедобных морских моллюсков. Нельзя исключать как фактор заражения и морских черепах, в кишечнике и желудке которых встречаются личинки IV стадии. Облигатные окончательные хозяева - морские скаты.

Представители сем. *Gnathostomatidae* паразитируют у человека, но до половозрелой стадии не развиваются. Окончательные хозяева - кошка, собака, свинья, реже корова. Резервуарные хозяева - земноводные, пресмыкающиеся, рыбы. Живые личинки *Gnathostoma hispidum* (рис. 26) и *Gnathostoma spinigerum* содержат кроваво-красную полостную жидкость.

4.3.4. Наиболее распространенными паразитами почти всех видов морских, проходных, полупроходных рыб, а также некоторых пресноводных рыб, экологически связанных с опресненными зонами морей, являются личинки сем. *Anisakidae* III стадии (рис. 27–31). Тонкие личинки с более или менее выраженными губами вокруг ротового отверстия и сверлильным зубом. Кутикула гладкая, с нежными кольцевыми штрихами. Ротовая полость (стома) и глотка выражены слабо, а пищевод - хорошо. Для диагностики анизакисных личинок в качестве основных дифференциальных признаков следует использовать структуру переднего отдела пищеварительного тракта, величины отношений длины тела к длине пищевода, длины тела к длине желудочка, а также положение экскреторной поры.

Хозяинная (гостальная) специфичность ко II промежуточным хозяевам отсутствует или выражена слабо. Ими обычно являются мелкие рыбы, а резервуарными - крупные рыбы и головоногие моллюски (кальмары, осьминоги и каракатицы), в которых накапливаются личинки 3-ей стадии. Последняя линька происходит в позвоночных - окончательных хозяевах (ластоногих и китообразных).

У съедобных двустворчатых морских моллюсков и морских черепах встречаются личинки *Sulcascaris sulcata* (рис. 31). В настоящее время эта нематода не рассматривается как представляющая угрозу для здоровья человека. Однако наличие у нее гиперпаразитов (*Urosporidium spisuli*) практически в 100 % случаев, и то, что устриц и гребешков едят как вареными, так и сырыми, требует выбраковывания моллюсков с нематодами из эстетических соображений (портится товарный вид). Проблема анизакидозов человека особенно существенна для Японии, Кореи, США, Великобритании, Франции, Нидерландов, стран Скандинавии, прибрежных районов России (Ти-

Таблица 4

Дифференциальные признаки личинок нематод сем. Dioctophymidae, Gnathostomatidae, Anisakidae, опасных для здоровья человека

Вид Гельминта	Географическое распространение	Виды животных, наиболее часто играющие роль промежуточных или резервуарных хозяев	Локализация в теле промежуточного или резервуарного хозяина	Строение и размер личинок	Характеристика головного вооружения и нервной системы личинок	Особенности строения пищеварительной и выделительной систем
1	2	3	4	5	6	7
Dioctophyme renale	Бассейны рек Аму-Дарьи, Вахш, Аральское море	Рыбы: амурский лопатонос, щука, жерех, язь, чехонь, плотва, пескарь туркестанский, аральские усач и шемая, быстрянка, сом, сомик карликовый, гамбузия, окунь Земноводные: лягушка озерная	У рыб: стенка кишечника и желудка, различные органы и ткани у лягушек: в стенке желудка, в мышцах живота, спины и конечностей	Тело нитевидное, с суживающимся головным концом и оканчивающимся тупо задним, желтоватое или бледно-розовое. Длина 6,9—8,0, ширина 0,11—0,20 мм. У личинок обоих полов хвост симметричный. В соединительно-тканных капсулах	На головном конце 12 чувствительных сосочков, расположенных в 2 круга по 6 в каждом (наружные крупнее таковых внутреннего круга). Нервное кольцо сдвинуто к головному концу и удалено от него на 0,05 мм	Ротовое отверстие ведет в узкую ротовую капсулу, переходящую в толстостенный пищевод, длина которого 2,02—2,41, ширина 0,18—0,19 мм. При переходе пищевода в кишку расположен трехстворчатый клапан. Средняя кишка состоит из одного ряда клеток
Eustrongylides excisus	Бассейны Каспийского моря, Дуная, Днестра, Оби	Осетровые (осетр, белуга); сельдь-черноспинка, щука, карповые (жерех, лещ, вобла, красноперка); сом, окунь	Полость тела, мускулатура стенки брюшной полости, реже стенки кишечника, печень, семенники	Тело суживается к обоим концам. Длина тела 8—50, ширина 0,11—0,19 мм. Головной конец в виде пирамиды, хвостовой асимметричный (у личинок самцов) и симметричный, закругленный (у личинок самок). В капсулах или свободно	На головном конце также 2 круга папилл по 6 в каждом. Сосочки наружного круга короткие, с широким основанием, в виде холмиков с тупыми вершинами. Нервное кольцо в 0,09—0,11 мм от головного конца	Длина ротовой полости 0,09, пищевода 2,46—4,53, задней кишки 0,13—0,56 мм. Пищеводный клапан развит слабо

Echinochephalus sinensis	Морские тропические и субтропические воды (Гонконг, юж. Китай, Дейлон, зап. Австралия)	Двустворчатые моллюски: обыкновенная и гигантская устрицы, пинктада, амусиум Пресмыкающиеся: Логгерхед головастая морская черепаха-каретта)	У моллюсков: в просвете гонадукта с поражением эсничного эпителия v черепах: в желудке и кишечнике	Личинки II стадии: самцы -6,4 + 0,8 мм; самки -7,1 ± 1,2 мм; III стадии: самцы - 11,6± 1,1 мм; самки-11,2± 0,8 мм. В соединительнотканных капсулах	У личинок II стадии конический головной конец с 6 рядами головных шипов, III стадии - бульбусовидный с 7 рядами шипов (первый из 6 маленьких). Нервное кольцо приближено к головному концу	Пищевод из мышечного и железистого отделов. В месте перехода одной части в другую вентрально открывается экскреторная пора
Gnathostoma hispidum	Аральское море; реки Амударья и Вахш; низовья и дельта Волги: р. Красная (Сев. Вьетнам)	Рыбы: карповые; сом, гамбузия, окунь, судак Земноводные: лягушки Пресмыкающиеся: пресноводные черепахи Рыбы: змееголовые	Мускулатура, реже полость тела и внутренние органы	Личинка III ст., свернута в спираль диаметром 1 мм, в капсуле. Длина тела 1,3 — 2,3, ширина 0,40 мм. Кутикула прозрачная, четко исчерчена, вооружена многочисленными рядами мелких шипиков на всем теле или его передней половине	Округлое головное вздутие вооружено 4 рядами шипов по 30—40 в каждом. На его переднем конце трехлопастные губы, каждая с тремя сосочками. Нервное кольцо на границе перехода пищевода в кишечник	Деление пищевода на мышечную и железистую часть выражено слабо. Вдоль пищевода примерно до его середины располагаются 4 пищеводные железы. Экскреторная пора удалена на 0,15—0,20 мм от переднего конца тела
G.spinigerum	Пресные водоемы Дальнего Востока (Япония, Таиланд, Китай, в РФ-бассейн Амура)	Лососевые; угорь, желтощек, сазан, вьюн, амурский сом, китайский окунь; змееголовые	— II —	Личинка III стадии свернута в спираль в капсуле диаметром 1 мм. Тело личинки покрыто поперечными рядами (более 200) простых заостренных шипиков длиной 0,01 мм	Головное вздутие вооружено 4 рядами шипов, число которых в ряду увеличивается по направлению назад (обычно > 40). Нервное кольцо на границе перехода пищевода в кишечник	Пищевод подразделен на два отдела. 4 одноядерные пищеводные железы выражены отчетливо. Экскреторная пора приближена к головному концу

Продолжение таблицы

Anisakis simplex	Арктические воды; Тихий и Атлантический океаны, пресные водоемы Камчатки, Сахалина, Японии	Рыбы: катран, сельдь, салака, горбуша, кета, кижуч, нерка, чавыча, семга, кумжа, кунджа, мальма, сиг, корюшка, мойва, аргентина, треска, путассу, сайка, навага, пикша, мерладг, сайда, минтай, налим, мерлуза (хек), макрурус, пилобрюх, морской судак, ставрида, зу-бан, зубатка, стэк, снэк, морской окунь, терпуг, камбала и другие Головоногие моллюски: осьминоги, кальмары, каракатицы	У рыб - в полости тела, на серозе внутренних органов, под перитонеальной оболочкой, в мышцах (преимущественно брюшной стенки, а у тихоокеанских лососей - скелетных) в капсулах или свободно; у головоногих - в мантии и на внутренних органах	Личинки III стадии светло-кремового или беловатого цвета свернуты в плоскую спираль внутри прозрачной капсулы, реже лежат свободно без капсулы. Длина 7—33 мм. Ширина тела у крупных форм составляет 0,5—0,7 мм. Сквозь покровы тела хорошо виден желудочек	На головном конце три выраженных губы и хорошо развитый сверлильный зуб, расположенный вентрально от ротового отверстия между латеровентральными губами. Нервное кольцо сдвинуто к переднему концу	Желудочек удлиненной формы. Задняя его часть, примыкающая к кишечнику, скошена так, что вентральная сторона оказывается длиннее, чем дорсальная. Желудочный и кишечный отростки отсутствуют. Экскреторная пора открывается на голове между латеровентральными губами снизу, т. е. снаружи от границы сверлильного зуба вентрально
A. schupakovi	Каспийское море, дельта Волги	Осетр, шип, стерлядь, белуга, севрюга, пузанок, долгинская сельдь, сельдь-черноспинка, каспийский лосось, щука, вобла, кутум, линь, красноперка, шемая, рыбец, чехонь, сазан, жерех, усач, лещ, белоглазка, густера, сопа, уклея, сом, окунь, судак, морской судак, берш, бычок	Серозные покровы органов брюшной полости, у долгинской сельди встречается и в мышцах	Личинки III стадии желтого цвета, длиной 6,69— 15,8, шириной 0,12— 0,40 мм. Кутикула с поперечной и продольной исчерченностью	На переднем конце хорошо заметны личиночный зуб и 4 сосочка, 2 из которых расположены дорсолатерально и 2 субвентрально. Нервное кольцо удалено от переднего конца тела на 0,16—0,29 мм	Пищевод мышечный длиной 0,74—1,42 мм, максимальная ширина 0,05—0,09 мм. Желудочек вытянутый, 0,20— 0,46х0,06—0,18 мм. Отношение длины тела к длине пищевода 8,2—11,8:1, длины тела к длине желудочка 23,7— 27,6 : 1. Экскреторная пора открывается на головном конце

Pseudoterranova decipiens	Сев. Атлантика и Арктические воды, Северо-Западная Пацифика, Антарктика: пресные водоемы Камчатки, Сахалина	Рыбы: акула, скат, сельдь, голец, тихоокеанские лососи, хариус, корюшка, треска, путассу, мольва, навага, пикша, менек, паут, нототения, синяя и пестрая зубатка, пескарка, снэк (барракут), малоротый и клюворылый окуни, терпуг, керчак, мегрим, атлантическая длинная, палтусовидная и малоротая камбалы, камбала-ерш, лиманда, черный и синеротый палтус, удильщик Моллюски: кальмары	У рыб: в мускулатуре свободно, без капсул; в полости тела свободно или покрытые капсулами, прикрепленными к серозным покровам внутренних органов; у кальмаров: в мантии и во внутренних органах	Личинки III стадии 14,0— 33,0 мм длиной, окрашены в коричневые или красноватые цвета	Головной конец несет 3 достаточно хорошо выраженные губы и небольшой сверлильный зуб, расположенный между латеровентральными губами. Нервное кольцо удалено от переднего конца тела на 0,25—0,31 мм	Удлиненный пищевод переходит в округлый, овальный или четырехугольный желудочек. Желудочный отросток отсутствует. Дистальный конец кишечного отростка прикрепляется к стенке тела пучком мышц. Экскреторное отверстие на головном конце между латеровентральными губами внизу
Contracaecum osculatum	Арктические воды, Атлантика (Балтийское море): озеро Байкал с предустьевыми участками рек; водоемы Камчатки Сахалина	Рыбы: сельдь, ленок, тихоокеанские лососи, семга, омуль, обыкновенный и байкальский хариусы, корюшка, треска, налим, мерланг, мольва, длиннокрылый и желтокрылый бычки, морской окунь, керчак, рогатка; песчаная, ушканская, жирная и плоская широколоб-ки; голомянка, палтусовидная и морская камбалы, лиманда, черный палтус Моллюски: кальмары	На серозе внутренних органов (печень, пилорические придатки, мезентерий).	Личинки с плотной кутикулой, 13—28 мм длиной и 0,41—0,52 мм шириной. Могут быть в капсулах и без них	Зачатки губ на головном конце отчетливые. Личиночный зуб расположен между зачатками латеровентральных губ, еще не разделенных перетяжкой. Нервное кольцо в 0,37—0,42 мм от переднего конца тела	Пищевод цилиндрический, с маленьким желудочком. Имеются кишечный и желудочный отростки, направленные в противоположные стороны. Кишечный вырост обычно длиннее половины пищевода. Экскреторная пора открывается на вентральной стороне головного конца у основания субвентральных губ

Продолжение таблицы

Sulcascaris sulcata	Космополит: теплые и умеренные воды Мирового океана, включая Красное. Средиземное и Карибское море; Южную, Среднюю и Западную Атлантику; Зап. Пацифику (Австралия, Цейлон)	Съедобные двустворчатые моллюски: устрицы, спондилюс, пинктада, пинна, спизулла, мактра; морские гребешки (пектен, аргопектен, хламис, амусиум) Морские черепахи: хелония [зеленая или суповая черепаха), логгерхед (головастая морская черепаха - каретта)	В спизулах - во всех тканях: во внутренних органах - в 60 %, в ноге - в 27 %, в аддукторе - в 12 %, в мантии - в 1 %; в гребешках — в мышце - аддукторе и гонадах; у черепах - в желудке и кишечнике, прикрепленные к стенке	В моллюсках - личинки IY стадии (8,3—45 мм длиной), редко III стадии (4,2 —4,3 мм); в черепахах - IY стадии (19—33 мм) и взрослые. Личинки могут быть в соединительно-тканных капсулах. Мелкие личинки - белые и малозаметные, более крупные от желтого до светло-оранжевого или коричневого цвета. В случае поражения их гаплос-поридиями (гиперпаразитизм) они становятся темно-коричневыми, почти черными	Головной конец личинки IY стадии несет три оформленных губы, края которых характеризуются редкой зазубренностью. Между главными губами помещаются интерлабии. Нервное кольцо отстоит от переднего конца тела личинки на расстоянии 0,25— 0,67 мм	Пищевод 1,3—4,0 мм длиной при ширине 0,08-0.23 мм. Желудочек удлиненной формы. Имеется короткий кишечный вырост. Экскреторная пора открывается на головном конце при основании вентральной интерлабии

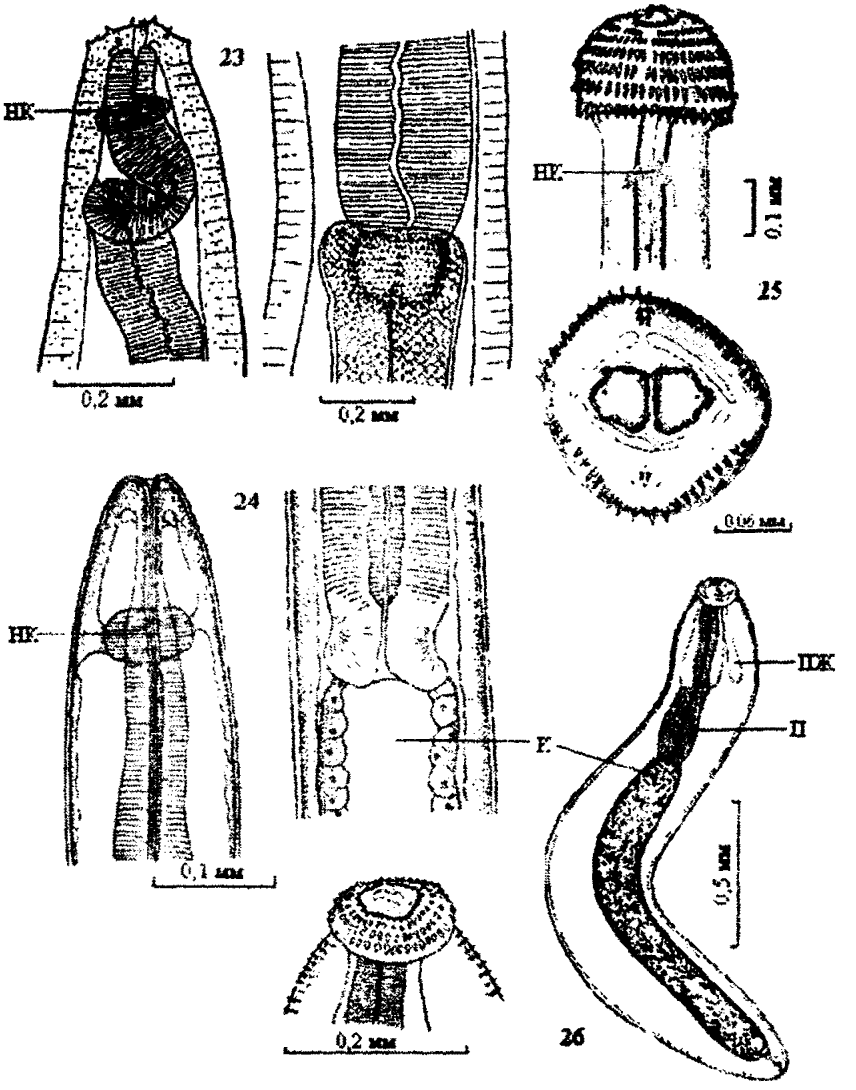


Рис. 23—26. 23 – Eustrongylides excisus, larva (головной конец и область перехода пищевода и кишечника); **24** – Dioctophyme renale, larva III (передний конец и область границы пищевода и кишечника); **25** – Echinocephalus sinensis, larva III (передний конец – вид сбоку и сверху); **26** – Glathostoma hispidum, larva III (головной конец и общий вид). НК – нервное кольцо; П – пищевод; ПЖ – пищеводная железа; К – кишечник.

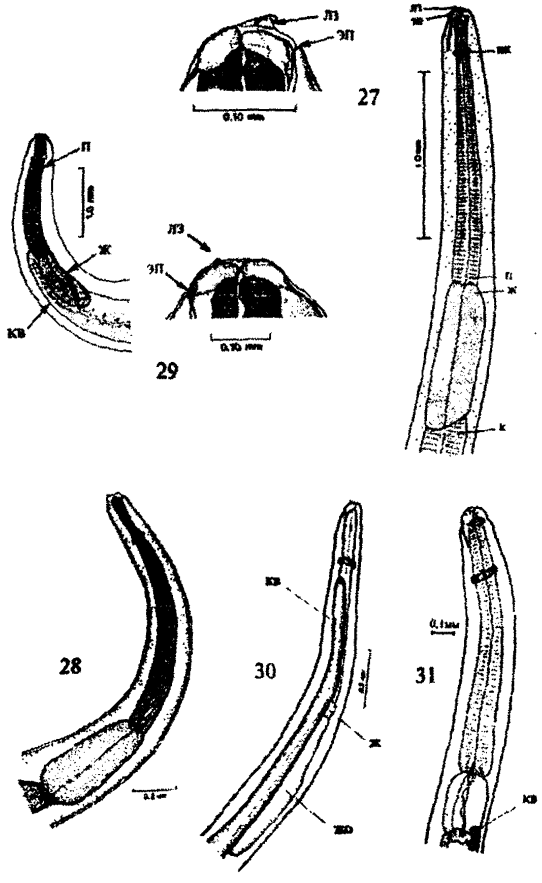


Рис. 27—31. 27 – Anisakis simplex, larva III (головной конец и общий вид); **28** – F. schupakovi, larva III; **29** – Pseudoterranova decipiens, larva III (общий вид и головной конец); **30** – Contraecum osculatum, larva III; **31** – Sulcascaris sulcata, larva III. ЛЗ – личиночный зуб; ЭП – экскреторная пора; НК – нервное кольцо; П – пищевод; Ж – желудочек; ЖО – желудочный отросток; К – кишечник; КВ – кишечный вырост.

хоокеанское побережье, побережье северных морей, Балтийское и Каспийское моря), где в пищу употребляют сырую или слабо обработанную кулинарно, т. е. необеззараженную морскую рыбу. Диагностика заболевания у человека затруднена, так как паразит не развивается до половой зрелости. В связи с этим, необходима тщательная паразитологическая экспертиза морской рыбы.

4.4. Дифференциальная диагностика личинок скребней

Возможно заражение человека скребнями, относящимися к сем. *Polymorphidae (р. Corynosoma* и *р. Bolbosoma).* Во взрослом состоянии они паразитируют в кишечнике у морских млекопитающих и рыбоядных птиц. Рыба может быть как резервуарным, так и окончательным хозяином у разных видов скребней. В резервуарном хозяине личинка мигрирует из кишечника в полость тела, потом в другие органы и мышцы, где инцистируется, и остается на стадии личинки - акантеллы. Для личинки (как и для зрелых) скребней характерно наличие на переднем конце тела хоботка, вооруженного загнутыми назад крючками. У личинки, находящейся в рыбе, хоботок обычно ввернут внутрь, и выворачивается наружу при помещении ее в воду или при попадании в окончательного хозяина. Акантеллы локализуются у рыб в полости тела, внутренних органах и тканях (брыжейка, гонады, печень, почки, серозные покровы желудка и кишечника, мышцы). Личинки в прозрачных капсулах.

4.4.1. *P. Corynosoma.* Виды этого рода распространены в разных районах Мирового океана, во всех морях, омывающих Россию, а также в Каспийском море и Ладожском озере, реках, впадающих в них.

Второй промежуточный хозяин - различные морские, проходные, а также пресноводные рыбы, обитающие в нижнем течении рек и в некоторых континентальных водоемах (лососевые, корюшковые, сельдевые, тресковые, мерлузовые, нототениевые, белокровные, терпуговые, камбаловые), и миноги. Обычны акантеллы *р. Corynosoma* и для осетровых Каспийского моря.

Наиболее часто заражены придонные рыбы.

Размер капсул с личинками 2–4 мм. Тело личинки грушевидной формы, расширенное к передней части, длиной до 10 мм. Поверхность передней части личинки покрыта шипами: более крупными, расположенными в шахматном порядке, - в первой трети тела и более мелкими, расположенными хаотично, - в остальной части. Хоботок почти цилиндрический, слегка расширяющийся в середине. У С. *strumosum* (рис. 6) на хоботке 18 продольных рядов крючьев по 10–12 в каждом ряду. Тело 3,5–9 мм длиной, шириной до 1,5 мм. У *C. semerse* на хоботке 22–24 продольных рядов крючьев, длина личинки до 5 мм.

Половозрелые формы - паразиты кишечника морских млекопитающих и рыбоядных птиц.

4.4.2. *P. Bolbosoma.* Акантеллы болбозом встречаются в полости тела и на внутренних органах у скумбриевых рыб в Сев. Атлантике; мерлузовых, волосохвостых в Южной Атлантике; у лососевых, скар-пеновых, бериксовых, гемпиловых и скумбриевых в Тихом океане.

У B. caenoforme тело личинки обычно цилиндрическое, но в передней части образует бульбусовидное расширение, передняя часть которого вооружена шипами. Акантеллы размером 7–12х0,9– 1,2 мм. Живые личинки розовато-красноватого цвета. На цилиндрическом хоботке 18 продольных рядов крючьев по 6 в каждом ряду.

Половозрелые формы локализуются в кишечнике морских млекопитающих.

5. Методы установления жизнеспособности личинок гельминтов

При обнаружении личинок в рыбной продукции, в том числе при оценке эффективности ее обеззараживания, необходимо определить их жизнеспособность.

5.1. По морфологическим признакам и двигательной активности

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор
2. Предметные стекла
3. Покровные стекла
4. Чашки Петри
5. Часовые стекла
6. Колба (0,1–0,2 л)
7. Пробирки

8. Пинцеты глазные
9. Спиртовка
10. Спиртовой термометр для воды
11. Препаровальные иглы разной толщины
12. Бинокулярный микроскоп типа МБС
13. Лупа
14. Осветитель для бинокуляра любой марки
15. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
16. Осветитель к микроскопу любой марки

5.1.1. Личинок цестод, нематод и скребней помещают в чашку Петри или часовое стекло с подогретым физиологическим раствором (37–40 °С) и рассматривают под бинокулярной лупой (микроскопом типа МБС) при увеличении, соответствующем размеру личинки или ее рассматриваемой части. Инцистированных личинок извлекают из оболочек. Живые личинки могут не проявлять признаков активности. Их движения можно стимулировать с помощью физического раздражения, уколов личинку острой препаровальной иглой. У живой личинки уколы вызывают сокращение тела. Личинок анизакид (в физиологическом растворе) помещают на 2 ч в термостат с t = 37 °С. Изменение цвета, отслоение покровов, другие деструктивные изменения тела указывают на нежизнеспособность личинок. Если видимых изменений нет, но и признаков жизни обнаружить не удается, то применяют метод химического воздействия (п. 5.3.2).

5.1.2. Метацеркарий трематод, выделенных из тканей рыбы (или ракообразных) с помощью препаровальной иглы, помещают в каплю теплой воды или физраствора (37–40 °С) на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и исследуют под малым и большим увеличением микроскопа. Явное нарушение целости оболочек цист, грубые изменения внутреннего строения личинки, распад ее содержимого, разрушение экскреторного пузыря являются признаками гибели метацеркарий.

Метацеркарий обладают способностью совершать движения, находясь в цисте. Наличие даже самых слабых самостоятельных движений личинки свидетельствует о ее жизнеспособности. Отсутствие движения еще не свидетельствует о гибели. Движение можно стимулировать слабым придавливанием метацеркарий покровным стеклом.

5.2. Метод электрического стимулирования (с использованием постоянного электрического тока)

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор или вода
2. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 2– 4 мм)
3. Чашки Петри
4. Пинцеты глазные
5. Препаровальные иглы разной толщины
6. Источник постоянного тока (батарейка с напряжением 1,5 В)
7. Тонкая проволока
8. Фильтровальная бумага
9. Бинокулярный микроскоп типа МБС
10. Лупа
11. Осветитель для бинокуляра любой марки

5.2.1. Применим только к личинкам нематод, цестод и скребней. Личинок помещают на мокрую фильтровальную бумагу и воздействуют на них слабым постоянным электрическим током (0,5– 1,5 В), пропускаемым через личинку. Для этого два тонких изолированных провода от положительного и отрицательного полюсов элемента (источника постоянного тока) проводятся к двум препаровальным иглам. Проявление сократительных движений контролируют под микроскопом типа МБС.

5.3. Метод химического воздействия (с использованием химических раздражителей) Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физнологический раствор; дуоденальное содержимое, полученное при зондировании человека или желчь животных (аптечная); трипсин (0,5 %-ный раствор, приготовленный на физрастворе: 0,5 г трипсина растворяют в 100 мл физраствора)

2. Предметные стекла
3. Покровные стекла
4. Чашки Петри
5. Часовые стекла
6. Препаровальные иглы разной толщины
7. Спиртовка
8. Колба (0,1–0,2 л)
9. Пробирки
10. Пинцеты глазные
11. Спиртовой термометр для воды
12. Бинокулярный микроскоп типа МБС
13. Лупа
14. Осветитель для бинокуляра любой марки
15. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
16. Осветитель к микроскопу любой марки
17. Термостат

5.3.1. Вызвать движение личинок можно, воздействуя дуоденальным содержимым, полученным при зондировании человека, либо желчью животных, либо трипсином. В основном метод применяют для определения жизнеспособности метацеркарий трематод.

На выделенных метацеркарий наносят несколько капель химического реагента так, чтобы полностью покрыть личинок. Для ускорения эксцистирования предметное (часовое) стекло с личинками можно слегка подогреть над пламенем спиртовки, или внести предварительно подогретый до 37–40 °С трипсин (или желчь), либо поставить в термостат с t = 37 °С на 10 мин. Через несколько секунд под воздействием химического раздражителя начинается выход личинок из цист и их активное движение, что служит показателем жизнеспособности. Процесс эксцистирования личинок контролируют под микроскопом типа МБС.

Отсутствие в течение 30 мин всякой двигательной реакции свидетельствует о гибели личинок.

5.3.2. Для определения жизнеспособности личинок нематод из рыбы (моллюсков), подвергнутых ранее замораживанию или холодному копчению, гельминтов инкубируют в термостате при t = 37 °С в физиологическом растворе или 0,5 %-ном растворе трипсина. Личинок инкубируют в течение трех дней, ежедневно проверяя их жизнеспособность.

5.3.3. Для определения жизнеспособности личинок гельминтов можно использовать метод переваривания рыбной продукции в искусственном желудочном соке (п. 3.2.11.4).

5.4. Метод флюоресценции (с использованием ультрафиолетового света)

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Люминесцентная лампа
2. Столик с прозрачной верхней крышкой (размером не менее 40 х 40 см)
3. Защитные (синие) очки
4. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 2– 4 мм)
5. Скальпель
6. Пинцеты (хирургические и глазные)
7. Препаровальные иглы разной толщины

5.4.1. Метод основан на способности живых и мертвых тканей многих животных флюоресцировать под воздействием ультрафиолетового света. Метод применим в основном к личинкам нематод.

5.4.2. Куски мышц рыбы (или кальмаров) или филе толщиной не более 2 см облучают ультрафиолетовым светом сначала с одной, а потом с другой стороны. При просмотре исследователь должен пользоваться защитными (синими) очками. Особенно интенсивно флюоресцируют мертвые гельминты в рыбопродукции, подвергнутой замораживанию. Характер свечения у разных видов неодинаков: личинки *Anisakis* имеют голубовато-белую флюоресценцию (бледную у живых и яркую у мертвых); личинки р. *Contracaecum* - от бледной (у живых) до ярко желтой (у мертвых).

5.5. Метод окрашивания (с использованием красителей)

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор; р-р мети-ленового синего (метиленовый синий - 0,05 г, натрий едкий - 0,5 г, молочная кислота - 15 мл); нейтральный красный (нейт-

раль-рот) в разведении 1 : 1000 (0,1 г нейтрального красного разводят в 100 мл дистиллированной воды); 0,3 %-ный р-р розоловой кислоты (аури-на) (0,3 г розоловой кислоты растворяют в 100 мл 70 °-ного спирта); КОН (0,1 N раствор)

2. Предметные стекла
3. Покровные стекла
4. Чашки Петри
5. Часовые стекла
6. Пинцеты глазные
7. Препаровальные иглы разной толщины
8. Фильтровальная бумага
9. Бинокулярный микроскоп типа МБС
10. Лупа
11. Осветитель для бинокуляра любой марки
12. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
13. Осветитель к микроскопу любой марки

5.5.1. В зависимости от используемого красителя окрашиваются либо живые, либо мертвые гельминты.

5.5.2. Личинок нематод, цестод и скребней помещают в чашку Петри (или часовое стекло) с раствором метиленового синего. Мертвые личинки окрашиваются в синий цвет. Хорошо прокрашиваются нервные волокна и ядра клеток.

5.5.3. Живые плероцеркоиды окрашиваются водным раствором нейтральрота в течение 5–20 мин, приобретая стойкую розовую окраску. Для контроля личинок извлекают из краски, помещают в чистый физиологический раствор и в нем просматривают степень окрашивания. Мертвые личинки не получают стойкой окраски.

5.5.4. Для определения жизнеспособности метацеркарий трематод используют окрашивание раствором розоловой кислоты (аурина).

• Кусочки мышц с личинками освобождают от жира. На ткань наносят 2 капли розоловой кислоты, а через 2 мин - 0,1 *N* раствор *КОН*, равномерно распределяя его по ткани. Избыток жидкости с препарата снимают фильтровальной бумагой. Накрывают покровным стеклом и микроскопируют.

• Ткань рыбы окрашивается в розовый цвет, живые личинки совершенно не окрашиваются, а мертвые становятся розовыми.

5.*6. Метод биологической пробы*

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: физиологический раствор
2. Лабораторные животные (золотистые хомяки, белые мыши и крысы)
3. Предметные стекла
4. Покровные стекла
5. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 2– 4 мм)
6. Шприцы на 2 мл с канюлями
7. Скальпели
8. Чашки Петри
9. Часовые стекла
10. Пинцеты разных размеров (хирургические, анатомические)
11. Скальпели разных размеров
12. Корнцанги
13. Ножницы разных размеров
14. Препаровальные иглы разной толщины
15. Бинокулярный микроскоп типа МБС
16. Лупа
17. Осветитель для бинокуляра любой марки
18. Световой микроскоп типа Биолам, Бимам
19. Осветитель к микроскопу любой марки

5.6.1. В некоторых случаях для окончательного заключения о виде гельминта, жизнеспособности и инвазионности личинок необходима биологическая проба - заражение лабораторных животных. Метод основан на способности большинства видов гельминтов, паразитирующих у человека, приживаться и у других млекопитающих. Наиболее удобным лабораторным животным для этой цели является золотистый хомяк. В некоторых случаях необходимо использовать других животных (котят, белых мышей и крыс).

5.6.2. Кусочки внутренних органов или мышц дополнительных (или резервуарных) хозяев с личинками скармливают лабораторным животным. Через определенное для каждого вида гельминта время (см. ниже) в фекалиях животного обнаруживают яйца паразита. Затем животное усыпляют (умерщвляют) и вскрывают методом неполного гельминтологического вскрытия. Обнаруженных гельминтов определяют до вида.

5.6.3. *Цестоды.*

5.6.3.1. Для дифиллоботриид в качестве лабораторных животных можно использовать золотистых хомяков, которым скармливают по 5–10 плероцеркоидов.

5.6.3.2. Яйца цестод могут быть обнаружены в фекалиях лабораторного животного через 2–3 недели для *Diphyllobothrium latum* и *Diphyllobothrium luxi (D. klebanovskii)*, через 1–2 недели для *Diphyllobothrium dendriticum*. При заражении золотистых хомяков спарганумами *Spirometra erinacei-europaei* они остаются на личиночной стадии и яйца не выделяются.

5.6.3.3. При вскрытии животных половозрелые лентецы *p. Diphyllobothrium* могут быть обнаружены в тонком кишечнике, спар-ганумы спирометры - в полости тела, внутренних органах, подкожной клетчатке, мышцах. Для получения половозрелой спирометры можно заразить собаку или кошку. В этом случае яйца гельминта можно обнаружить через 12–15 дней у собак и через 10–14 - у кошек.

5.6.4. *Трематоды.*

5.6.4.1. Opisthorchis felineus, Metorchis bilis, Clonorchis sinensis, Nanophyetus salmincola приживаются у золотистых хомяков. В сомнительных случаях дифференциальной диагностики между Opisthorchis felineus и Pseudamphistomum truncatum заражают молочных котят, так как Pseudamphistomum truncatum не приживаются у хомяков. Metagonimus yokogawai, Metagonimus katsuradai, Rossicotrema donicum, Apophallus muehlingi также развиваются только у котят и щенят домашней собаки. Для заражения возбудителями парагонимоза наиболее часто используют лабораторных мышей и крыс.

5.6.4.2. Существуют два основных способа заражения животных метацеркариямй.

• Первый - заражение личинками, содержащимися в мышечной ткани рыбы (или ракообразных). Для этого, исследуют рыбу компрессорным способом (п. 4.2.11.3), замечают местоположение цист и, глядя в микроскоп МБС (увеличение: окуляр 8х, объектив 2х), верхнее стекло осторожно сдвигают в сторону и препаровальными иглами выбирают кусочки ткани вместе с метацеркариямй (стараясь их не повредить). Таким образом, набирают по 30 личинок и скармливают опытным животным (золотистым хомякам массой 40–70 г, молочным котятам и щенятам, белым крысам массой 70–90 г, белым мышам массой 18–25 г).

• Второй способ заключается во введении через рот личинок, полученных в результате переваривания рыбы (или ракообразных) в искусственном желудочном соке (см. п. 3.2.11.4).

Метацеркарий отмывают в физиологическом растворе, подсчитывают, и вводят в желудок животным с помощью шприца со специальной канюлей. Описторхид вводят в количестве 50 личинок на одну особь, а парагонимид - в количестве 20 экземпляров на особь.

5.6.4.3. Выделение яиц *Opisthorchis felineus, Pseudamphistomum truncatum, Metorchis bilis, Clonorchis sinensis* начинается через 20–25 суток после заражения. При вскрытии животных через 3–5 недель после заражения половозрелых трематод обнаруживают в желчных протоках печени, желчном пузыре и селезенке.

5.6.4.4. Выделение яиц *Metagonimus yokogawai, Metagonimus katsuradai, Nanophyetus salmincola, Rossicotrema donicum, Apophallus muehlingi* начинается на 11–16 сутки после заражения. При вскрытии животных гельминтов обнаруживают в тонком кишечнике.

5.6.4.5. Вскрытие животных после заражения метацеркариямй парагонимид производят через 40–60 дней. В первую очередь исследуют легкие. Затем последовательно изучают все органы

и ткани, в которых могут быть обнаружены личинки, в случае развития ларвального парагонимоза или парагонимоза с атипичной локализацией.

5.6.5. *Нематоды.* Лабораторным животным (лучше котятам и щенятам) скармливают (или вводят с помощью пинцета) кусочки рыбы с личинками в количестве 20–25 экземпляров. Через 3–6 дней животных убивают с последующим гельминтологическим обследованием желудка и кишечника.

6. Методы фиксации и хранения паразитов

Необходимые реактивы и оборудование:

1. Химические реактивы: этанол 96 ° (для получения 70 °-ного спирта к 100 мл 96 °-ного спирта добавить 37 мл воды, а для 80 °-ного - 20 мл воды); формалин (40 %-ный раствор формальдегида); физиологический раствор или раствор Рингера (хлористый натрий -0,65 г, хлористый калий - 0,025 г, карбонат натрия - 0,02 г, двухло-ристый кальций - 0,03 г, бидистиллированная вода - 100 мл. Соли растворяют в указанном порядке. Кипятить нельзя); дистиллированная вода
2. Предметные стекла
3. Большие предметные стекла (6–8 х 12–15 см, толщиной 2– 4 мм)
4. Чашки Петри
5. Пробирки
6. Весы с набором разновесов или весы электронные
7. Шпатели (лопаточки) металлические, стеклянные, деревянные
8. Воронки стеклянные разных размеров
9. Мерные цилиндры (0,5–0,25 л)
10. Банки стеклянные с притертой пробкой для хранения реактивов (0,1, 0,25, 0,5 л)
11. Банки стеклянные (или колбы) для дистиллированной воды (1-2 л)
12. Набор стеклянных мерных пипеток (от 1 до 10 мл)
13. Пипетки стеклянные (пастеровские)
14. Резиновые груши
15. Бюксы разных размеров
16. Пенициллиновые пузырьки
17. Пинцеты
18. Препаровальные иглы разной толщины
19. Фильтровальная бумага
20. Спиртовка
21. Спиртовой термометр для воды
22. Вата, марля
23. Бинокулярный микроскоп типа МБС
24 Лупа
25. Осветители для бинокуляра любой марки

6.1. Для фиксации желательно брать живых личинок гельминтов. Перед фиксацией паразитов следует осторожно отделить от окружающих тканей (метацеркарий трематод и мелких личинок нематод предпочтительнее с помощью метода переваривания в искусственном желудочном соке - п. 3.2.11.4). Перед погружением в фиксирующую жидкость для отделения личинок от крови, слизи и других загрязнений, а также при необходимости их расправления личинок цестод и скребней следует поместить в воду, а личинок трематод и нематод в физиологический раствор или раствор Рингера на 15–30 мин.

6.2. Объем фиксатора должен превышать объем фиксируемого материала в 20–40 раз.

6.3. Личинок цестод, трематод, скребней и паразитов не установленной систематической принадлежности фиксируют в 70°-ном спирте. Для того чтобы хоботок у скребней и сколекс у цестод оставался в вывернутом состоянии, применяют способ осторожного, но достаточно сильного сдавливания червей между стеклами, подпуская пипеткой спирт 80 °-ной крепости. Избыток фиксирующей жидкости оттягивают фильтровальной бумагой со стороны, противоположной пипетке. Выдерживают 15–20 мин. Затем стекло осторожно приподнимают, и личинку переносят в 70 °-ный спирт.

Фиксированные в спирте, формалине и других фиксаторах метацеркарий трематод плохо сохраняют первоначальную структуру и не могут быть определены до вида. В связи с этим, допускается хранение пластинок из мышечной ткани с метацеркариями трематод в течение 7–10 дней при температуре 1–4 °С.

6.4. Личинок круглых червей рекомендуется фиксировать и хранить в жидкости Барбагалло (4 %-ный раствор формалина в физиологическом растворе). Чтобы тело личинки при фиксации не скручивалось, рекомендуется фиксация горячей (до 70 °С) жидкостью Барбагалло.

6.5. Хранят паразитов в пробирках с фиксатором, заткнутых плотным ватным тампоном. Пробирки вкладываются в банку с притертой пробкой, заполненную таким же фиксатором. Внутрь пробирки вкладывается этикетка, написанная карандашом Т, 2Т (или любым другим средством, нерастворимым в реактивах), обращенная надписью к стеклу. На этикетке указывается вид паразита, № исследований по журналу, дата, вид рыбы (рыбопродукта), из которых выделены паразиты, место отлова (или предприятие-производитель).

Небольшие гельминты достаточно долго хранятся в фиксаторе в пенициллиновых пузырьках с полиэтиленовой пробкой.

7. Регистрация результатов исследований рыбной продукции

7.1. Результаты исследований вносятся в лабораторный журнал. В протоколе каждого вскрытия отмечаются следующие сведения:

- номер вскрытия (или образца);
- дата (доставки и исследования);
- место отлова рыбы, моллюсков, ракообразных и т. д.: административная территория (конкретный биотоп), водоем (океан, море, река и т. п. и конкретное место вылова) или место изготовления продукции (предприятие-изготовитель);
- место (фирма, предприятие) отбора проб;
- какой организацией доставлена продукция, № направления;
- видовое (родовое) название исследуемого экземпляра;
- вид рыбной продукции (свежая, мороженая, филе, фарш, консервы и т. д.);
- размер и масса (возраст) и количество пробы;
- порядковый номер исследуемого экземпляра;
- методы паразитологического исследования;
- вид обнаруженных личинок и их число;
- место локализации личинок (органы и ткани);
- жизнеспособность личинок.

7.2. После проведения исследования необходимого числа (массы) экземпляров (см. СанПиН 3.2.569–96, п. 6.2, п. 15.12, 15.13) регистрируются следующие показатели:

- *зараженность или экстенсивность инвазии* - число зараженных экземпляров рыб (продукции) в пробе, выраженная в процентах;
- *интенсивность инвазии* - амплитуда интенсивности - минимальное и максимальное число паразитов в одной зараженной особи или рыбопродукте, средняя интенсивность инвазии - число личинок, приходящееся в среднем на одну зараженную рыбу (рыбопродукт);
- *индекс обилия* - число паразитов, в среднем приходящееся на одну исследованную рыбу или рыбопродукт (не только зараженные) данного вида; вычисляется путем деления общего числа выявленных личинок данного вида на количество обследованных рыб;
- *среднее число паразитов на 1 кг массы* (находится делением общего числа паразитов в выборке на общую массу выборки).

Чтобы облегчить подсчет выявленных при инспектировании паразитов, цифры зараженности каждой особи (интенсивность) записываются в виде рабочей таблицы, как показано в следующем примере:

Цифры правой вертикальной колонки получаются перемножением цифр соответствующего горизонтального ряда двух предшествующих колонок. Записывается также общая масса выборки: для нашего примера примем 30 кг.

Из сделанных записей определяются следующие показатели. Экстенсивность инвазии: (15 : 32 х 100) = 46,9 %. Амплитуда интенсивности: от 0 до 23. Индекс обилия: (67 : 32) = 2,1 паразитов. Среднее

Число паразитов в рыбе (куске)	Число рыб (кусков), содержащих соответствующие количества паразитов	Общие количества паразитов в рыбах, зараженных одинаково
0	17 - число незараженных рыб	0
1	6	6
2	4	8
3	1	3
5	2	10
17	1	17
23	1	23
	Всего обследовано рыб (кусков) - 32	Общее число паразитов в выборке - 67

число паразитов на 1 кг массы: (67 : 30) = 2,2. Последний показатель определяют и при обнаружении паразитов, не представляющих опасности для здоровья человека и сравнивают его с «допустимым средним числом паразитов на 1 кг массы» (К) (табл. 3 СанПиН 3.2.569–96, прилож. 3)

7.3. Результаты исследования оформляются в виде протокола.

8. Аппаратура, материалы, лабораторная посуда и реактивы

8.1. *Аппаратура и инструментарий*

Весы лабораторные с набором разновесов (или весы электронные)
Иглы препаровальные разной толщины
Источник постоянного тока (батарейка с напряжением 1,5 В)
Корнцанги
Кюветы эмалированные
Ножницы медицинские
Лампа люминесцентная
Лупа
Микроскоп бинокулярный типа МБС
Микроскоп биологический типа Биолам, Бимам
Молоток деревянный
Окуляр-микрометр для светового микроскопа
Окуляр-микрометр для бинокулярного микроскопа
Объект-микрометр
Осветители к микроскопу типа ОИ-7, ОИ-9, ОИ-18, ОИ-19 или других марок
Очки защитные (синие)
Пинцеты медицинские
Сантиметр или линейка
Ситечки с ячеей 1 х 1 мм
Скальпель хирургический
Столик с прозрачной верхней крышкой (размером не менее 40 х 40 см)
Термостат
Холодильник бытовой электрический (или получаемый по импорту)
Шпатели (лопаточки) металлические, пластмассовые, деревянные
Электроплитка

8.2. *Лабораторная посуда и материалы*

Банки стеклянные с притертой пробкой для хранения реактивов (0,1, 0,25, 0,5 л)
Бумага фильтровальная
Бюксы разных размеров
Вата медицинская гигроскопическая
Воронки стеклянные разных размеров

Груши резиновые
Животные лабораторные (золотистые хомяки, белые мыши и крысы)
Кастрюли эмалированные
Карандаш по стеклу
Колбы номинальной вместимостью 200, 400,1000, 1600 $см^3$
Марля медицинская
Пипетки стеклянные (пастеровские)
Пипетки вместимостью 1–10 $см^3$
Пробирки
Проволока
Пузырьки пенициллиновые
Спиртовка лабораторная стеклянная
Стекла предметные для микропрепаратов
Стекла предметные (6–8 х 12–15 см, толщиной 3–5 мм)
Стекла покровные для микропрепаратов
Стекла часовые
Термометр жидкостный (не ртутный)
Цилиндры мерные (0,5–0,25 л)
Чашки биологические (Петри)
Шприцы на 2 мл с канюлями
Химические стаканы

8.3. *Реактивы*
Глицерин
Вода дистиллированная
Желчь сухая или желчь нативная сельскохозяйственных животных
Калия гидроокись
Калий хлористый
Кальций двухлористый
Кислота соляная
Натрия гидроокись
Натрий хлористый
Натрий углекислый
Нейтральный красный (нейтраль-рот)
Метиленовый синий
Молочная кислота
Пепсин
Раствор физиологический
Розоловая кислотаи (аурин)
Спирт этиловый ректификованный
Трипсин
Формалин
Хлороформ
Эфир

gost.e-ecolog.ru