

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 614.77-078

Кузнецова К.Ю.^{1,3}, Асланова М.М.^{2,3,4}, Грицюк О.В.³, Жнакина Ж.В.¹, Кузнецова М.А.¹

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ УТВЕРЖДЁННОГО МЕТОДА ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОЧВЫ НА НАЛИЧИЕ ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ И ЕГО МОДИФИКАЦИИ

¹ ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва;² ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора», 117105, Москва;³ ФГОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, Москва

Представлены сравнительные результаты санитарно-паразитологических исследований почвы в параллельных постановках утверждённым методом (по Романенко, 1991 г.) и его модификации. Получены данные, подтверждающие снижение эффективности санитарно-паразитологического метода исследования почвы (по Романенко, 1991 г.) на этапе многократной промывки образца до 59%, применения нестандартизированных процедур и ухудшения техники микроскопирования из-за применения нестандартных лабораторных изделий. Эффективность исследований почвы на яйца гельминтов при выполнении технической модификации утверждённого метода (по Романенко) составила 65%. Модификация отдельных процедур хода исследований почвы сокращает временные затраты на их проведение, перерасход реактивов, стандартизацию количества исследований из одной пробы почвы.

Ключевые слова: стандарты лабораторных исследований; пробоподготовка; почва; яйца гельминтов.

Для цитирования: Кузнецова К.Ю., Асланова М.М., Грицюк О.В., Жнакина Ж.В., Кузнецова М.А. Сравнительные данные результативности утверждённого метода паразитологического анализа почвы на наличие яиц гельминтов и его модификации. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(11): 1119-1120. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-11-1119-1120>

Для корреспонденции: Кузнецова Камалю Юнисовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. санитарной бактериологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва. E-mail: kama.123@yandex.ru

Kuznetsova K. Yu.^{1,3}, *Aslanova M. M.*^{2,3}, *Gritsuk O. V.*³, *Zhnakina Zh. V.*¹, *Kuznetsova M. A.*¹

COMPARATIVE DATA OF THE PERFORMANCE OF THE APPROVED METHOD AND ITS MODIFICATION FOR THE PARASITOLOGICAL ANALYSIS OF THE SOIL FOR THE AVAILABILITY OF HELMINTH EGGS

¹*I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russian Federation;*²*Center for Hygiene and Epidemiology in Moscow, Moscow, 129626, Russian Federation;*³*Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation*

There are comparative results of sanitary-parasitological studies of the soil in parallel test versions with the use of approved method (Romanenko, 1991.) and its modifications. There were obtained data confirming the decline in the efficiency of sanitary and parasitological research method of the soil (Romanenko, 1991) at the stage of repeated washing of the sample to 59%, the use of non-standardized procedures and aggravation of the technique due to the use of non-standard laboratory products. The efficiency of the soil examination for helminth eggs during the technical modification of the approved method (Romanenko, 1991) accounted of 65%. Modification of the individual procedures of a course of studies of the soil reduces the time costs of their performance, the excessive consumption of reagents, provides standardization of the number of studies from the same soil samples.

Key words: standards of laboratory studies; sample preparation; soil; helminth eggs; methods of parasitological research.

For citation: Kuznetsova K. Yu., Aslanova M. M., Gritsuk O. V., Zhnakina Zh. V., Kuznetsova M. A. Comparative data of the performance of the approved method and its modification for the parasitological analysis of the soil for the availability of helminth eggs. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2017; 96(11): 1119-1120. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-11-1119-1120>

For correspondence: Kamalya Yu. Kuznetsova, MD, PhD, leading researcher of the Laboratory of Sanitary Bacteriology and Parasitology of the Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: kama.123@yandex.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment: The study had no sponsorship.

Received: 28 February 2017

Accepted: 05 July 2017

Введение

Информация о состоянии биологической безопасности окружающей среды формируется на 100% по результатам лабораторных исследований, проведённых в соответствии с унифицированными методами и соответствующими регламентами национальных стандартов. Стандарт лабораторных процедур определяет требования к степени достоверности получаемых результатов, сопоставимости методики анализа независимо от времени и места проведения, оперативности их выполнения для принятия управленческих решений [5]. В настоящее время в практическом здравоохранении применяется около 40 методов и их модификаций паразитологических исследований объектов окружающей среды [4]. Однако методическое сопровождение нормативных документов по контролю нормируемых паразитологических показателей объектов окружающей среды значительно отстаёт от международных аналогов [9]. Одним из факторов, определяющим здоровье человека, является фактор среды обитания,

воздействием которого, по данным ВОЗ, обусловлено в среднем до 20% всех заболеваний [по ред. 6]. Исследование биологических и гигиенических факторов среды и их влияние на здоровье населения проводится в рамках социально-гигиенического мониторинга (СГМ) и санитарно-эпидемиологического мониторингов (СЭМ) [7]. Эффективность СГМ во многом определяет риск-ориентированное направление деятельности государственного санитарно-эпидемиологического надзора и полностью основана на информации лабораторных данных состояния окружающей среды [2, 6]. Систематическое проведение сличительных процедур по методам санитарно-паразитологических исследований актуально для здравоохранения. Так, по данным федеральной статистики, заболеваемость населения Российской Федерации геогельминтозами является ведущей патологией. В 2015 г. заболеваемость аскаридозом составила 16,51 случаев на 100 тыс. населения, трихоцефалёзом – 0,14 на 100 тыс. населения. При этом удельный вес паразитологических исследований почвы не превышает 20% от всего объёма санитарно-эпидемиологических

Сравнительные данные потери яиц гельминтов *T. canis* в почве. Экспериментальные исследования

Этап исследования	Количество яиц <i>T. canis</i>	
	исходное в 1 пробе	среднее в осадке промывных вод, абс., %
Осадок первых промывных вод	100	37–37
Осадок надосадочной жидкости:		
после 2-й промывки	63	3–4,7
после 3-й промывки	60	8–13,3
после 4-й промывки	52	1–1,9
после 5-й промывки	51	2–3,9
Всего...	49	51–51

исследований и характеризуется низкой выявляемостью. Так, в 2015 г. доля нестандартных проб составила 11,7% по РФ [8]. Принцип применяемых (утверждённых) методов санитарно-паразитологического анализа основан на целевом определении одного таксономического вида возбудителей: яиц гельминтов или личинок гельминтов, или цист кишечных простейших [4]. Например, для определения паразитарного загрязнения одной пробы почвы применяют 3 разных метода исследования: яиц гельминтов *Nematodae*, личинок гельминтов, цист патогенных кишечных простейших *p. Lamblia*. В результате временные затраты на исследование одной пробы почвы увеличиваются в 4 раза, а при учёте трудозатрат на одно исследование, составляющее более 24 часов, производительность паразитологических лабораторий ограничивается как по номенклатуре, так и по объёму проводимых исследований. В данном контексте эффективность применяемых методов лабораторных исследований сохраняет свою актуальность и предполагает периодическую ревизию и сопоставление их результативности с современными методами контроля.

Все известные модификации унифицированных методов санитарно-паразитологических исследований почв улучшали эффективность метода, но не предлагали алгоритм стандартизации процедуры подготовки проб и количества подготовленных препаратов для исследований, что существенно для подтверждения степени достоверности полученных результатов [1, 3, 9].

Целью исследования является сравнительный анализ результативности утверждённого метода паразитологического анализа почвы на наличие яиц гельминтов и модифицированного метода, а также разработка рекомендаций по оптимизации утверждённого метода санитарно-паразитологических исследований почвы для аккредитованных паразитологических лабораторий учреждений Минздрава России.

Материал и методы

Использованы материалы, реактивы, красители, регламентированные в методических указаниях [3]. Были сформированы 2 группы модельных образцов почвы, заражённые взвесью яиц гельминтов *Toxocara canis*. В 1-й группе исследования проводились с применением утверждённого метода по Романенко, во 2-й – по методу его модификации. Проведены и статистически обработаны результаты 100 исследований в параллельной постановке.

Результаты и обсуждение

Ход исследований проведен поэтапно.

1. Определение количества потерь *T. canis* на этапе пробоподготовки.

Получены данные о значительных потерях патогенов на этапе паразитологического анализа почвы утверждённым методом. Определён удельный вес потерь яиц *T. canis* на этапах промывки образцов, проведение которых регламентированы методикой от 1 до 5 раз. После каждого этапа промывки образцов мы проводили подсчёт яиц гельминтов, удалённые с промывными водами.

В таблице приведены результаты исследований на каждом этапе пробоподготовки почвы утверждённым методом.

Потери паразитарных патогенов после пятикратной промывки составили 51%, соответственно эффективность утверждённого метода исследования почвы на наличие яиц гельминтов составила около 49%, что ниже показателя в рекламации к методу (59,6–83,1%). Наибольшие потери определяемых патогенов получены после первой промывки образцов (37%). С учётом полученных результатов в 1-й группе исследований, во 2-й группе исследований количество промывок пробы почвы было сокращено до 1 раза независимо от типа почвы, что позволило сократить потери патогена на этапе пробоподготовки на 37%.

2. С целью эффективной обработки почвы весом 25 г на подготовительном этапе применяли широкие (нестандартные) пробирки

объёмом 150 мл. В первой группе исследований мы придерживались утверждённой методики, во второй – заменили нестандартные пробирки на мерные стаканчики, что облегчило процесс отмывки пробы до и после осаждения взвеси, а в последующем и перенос диагностической суспензии в гостированные центрифужные пробирки. На данном этапе мы смогли сократить расход рабочего раствора и добились стандартизации объёма рабочего раствора для последующего этапа.

3. Методика санитарно-паразитологического анализа почвы основана на применении разности удельного веса флотационного раствора и взвеси яиц гельминтов. Использовался насыщенный раствор азотнокислого натрия (NaNO_3). Во 2-й группе исследований мы применили его в соотношении 1:1 к объёму почвы, т. е. 25 мл. Далее по процедуре разлили в 2 центрифужные пробирки для получения поверхностной плёнки. Таким способом была достигнута оптимальная концентрация осадка и получено стандартное количество исследований из 1 навески почвы.

4. Для снятия поверхностной (диагностической) плёнки применили стандартные предметные стекла в отличие от нестандартных «широких» стёкол по методике, которые позволяют произвести микроскопирование препарата без дополнительных приспособлений и с высокой результативностью. Модификация позволила использовать гостированные предметные стёкла размером 25 × 75 мм (ГОСТ 1770–64) взамен нестандартных «широких» стёкол и улучшить эффективность исследований на этапе микроскопии препаратов во 2-й группе модельных образцов на 28 против 6% показателей в 1-й группе.

Выводы

Получены данные, подтверждающие снижение эффективности санитарно-паразитологического метода исследования почвы [3] на этапе многократной промывки образца до 59% из-за применения нестандартизированных процедур и нестандартных лабораторных изделий. Эффективность исследований почвы на яйца гельминтов при выполнении технической модификации метода Романенко составила 65%. Модификация отдельных процедур хода исследований почвы сокращает временные затраты на их проведение до 20 мин., перерасход реактивов, стандартизацию количества исследований из одной пробы почвы, что улучшает эффективность применяемого метода.

Результаты проведённых экспериментальных исследований апробированы на кафедре «Тропическая медицина и паразитарные болезни» МПФ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература (п.п. 9 см. References)

1. Асланова М.М., Кузнецова К.Ю., Морозов Е.Н. Эффективная лабораторная диагностика — основа мониторинга паразитарных болезней. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; (1): 34–7.
2. Долбин Д.А., Хамзина Е.В., Идрисов А.М., Лутфуллин М.Х., Лутфуллина Н.А. Способ выявления яиц гельминтов, клещей и ооцист простейших в пробах почвы-грунтов. Патент РФ; № 2466388; 2012.
3. Методические указания МУК 4.2.2661–10. «Методы санитарно-паразитологических исследований». М.; 2010.
4. ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025–2006. «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий». М.; 2006.
5. Онищенко Г.Г. Критерии опасности загрязнения окружающей среды. *Гигиена и санитария*. 2003; 82(6): 3–4.
6. Постановление Правительства Российской Федерации № 426 «Об утверждении Положения о социально-гигиеническом мониторинге». М.; 2000.
7. Сайт Роспотребнадзора. Available at: <http://www.rospotrebnadzor.ru/>
8. Черникова Е.А., Миглиорини Л., Литвинов С.К., Дарченкова Н.Н., Новожилов К.А. Геогельминтозы в Российской Федерации. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2015; (2): 51–4.

References

1. Aslanova M.M., Kuznetsova K.Yu., Morozov E.N. Effective laboratory diagnosis is the basis for monitoring parasitic diseases. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2016; (1): 34–7. (in Russian)
2. Dolbin D.A., Khamzina E.V., Idrisov A.M., Lutfullin M.Kh., Lutfullina N.A. Method for identifying eggs of helminths, mites and protozoan oocysts in soil-sample samples. Patent RF; № 2466388; 2012. (in Russian)
3. Methodological instructions MUK 4.2.2661–10. «Methods of sanitary-parasitological research». Moscow; 2010. (in Russian)
4. GOST R ISO / IEC 17025–2006. «General requirements for the competence of testing and calibration laboratories». Moscow; 2006. (in Russian)
5. Onishchenko G.G. Criteria for the risk of environmental pollution. *Gigiena i sanitariya*. 2003; 82(6): 3–4. (in Russian)
6. Decree of the Government of the Russian Federation No. 426 «On approval of the Regulations on social and hygienic monitoring». Moscow; 2000. (in Russian)
7. Site of Rosпотrebnadzor. Available at: <http://www.rospotrebnadzor.ru/> (in Russian)
8. Chernikova E.A., Migliorini L., Litvinov S.K., Darchenkova N.N., Novozhilov K.A. Geohelminthiases in the Russian Federation. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2015; (2): 51–4. (in Russian)
9. WHO Expert committee on biological standardization. World health organization technical report series 658/33. Geneva; 1981.

Поступила 28.02.17

Принята к печати 05.07.17