

Н. В. Прозоркина, П. А. Рубашкина

***Основы микробиологии,
вирусологии и иммунологии***

Предисловие

Глава 1 Предмет микробиологии. История ее развития

§ 1. Основы классификации и морфологии микроорганизмов

§ 2. Ультраструктура бактерии

Глава 2 Физиология микроорганизмов

§ 1. Питание бактерий

§ 2. Дыхание бактерий

§ 3. Ферментативная активность бактерий

§ 4. Рост и размножение микроорганизмов

§ 5. Пигментообразование у бактерий

§ 6. Питательные среды и микробиологическое исследование

§ 7. Практическая часть

Глава 3 Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы

§ 1. Физические факторы

§ 2. Химические факторы

§ 4. Уничтожение микроорганизмов в окружающей среде

§ 5. Бактериофаги

§ 6. Генетика бактерий

§ 7. Практическая часть

Глава 4 Учение об инфекции

§ 1. Понятие инфекции

§ 2. Методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний

§ 3. Основы эпидемического процесса

§ 4. Заболевания инфекционной природы.

Глава 5 Учение об иммунитете

§ 1. Понятие об иммунитете

§ 2. Неспецифические факторы защиты

§ 3. Специфические факторы защиты

§ 4. Антители и антигенообразование

§ 5. Реакции иммунитета

§ 6. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней человека

§ 7. Аллергия. Анафилаксия

§ 8. Практическая часть

Глава 6 Кишечная микрофлора здорового человека

§ 1. Краткая характеристика кишечной микрофлоры здоровых людей

§ 2. Дисбактериоз

Глава 7 Патогенные кокки

§ 1. Род Echerichia

§ 2. Род Shigella

§ 3. Род Salmonella

§ 4. Практическая часть

§ 5. Род proteus

§ 6. Род Klebsiella

§ 7. Род Yersinia

Глава 8 Патогенные кокки

§ 1. Род staphylococcus

§ 2. Род streptococcus

§ 3. Род neisseria

§ 4. Практическая часть

Глава 9 Сем. Vibrionaceae

§ 1. Род Vibrio

Глава 10 Воздушно-капельные инфекции

§ 1. Род Mycobacterium

§ 2. Род Corynebacterium

Глава 11 Зоонозные инфекции

§ 1. Возбудитель сибирской язвы

§ 8. Возбудитель бруцеллеза

Глава 12

§ 1. Возбудитель ботулизма

Глава 13

§ 1. Общие понятия о вирусах

§ 2. Вич-инфекция

§ 3. Вирусы гепатита а, в и с

§ 4. Вирус полиомиелита

§ 5. Вирус бешенства

§ 6. Цитомегаловирусная инфекция

§ 7. Клещевой энцефалит

§ 8. Вирус краснухи

Глава 14 Основы медицинской паразитологии

§ 1. Паразитология

§ 2. Основные виды простейших, вызывающих заболевания у человека

§ 3. Основные виды гельминтов, вызывающих заболевания у человека

Глава 15 Санитарно-микробиологические исследования

§ 1. Значение санитарной микробиологии и ее задачи

§ 2. Микрофлора воздуха

§ 3. Санитарно-микробиологическое исследование воды

§ 4. Микрофлора почвы

§ 5. Отбор проб и предварительная обработка почвенных образцов для анализа

§ 6. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов

§ 7. Отбор, направление и подготовка проб для лабораторного исследования

§ 8. Санитарно-микробиологическое

§ 9. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов

§ 10. Исследование консервов

§ 11. Санитарно-бактериологический контроль методом исследования смывов

§ 12. Госпитальные инфекции

§ 13. Основные мероприятия в профилактике внутрибольничных инфекций

§ 14. Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды в лечебно-профилактических учреждениях

Словарь терминов

Список литературы

Предисловие

Миллионы лет назад на Земле появились патогенные микроорганизмы и лишь на рубеже XIX—XX вв. был достигнут решающий перелом в борьбе с болезнями, вызываемыми этими микроорганизмами.

Но на пороге 2002 г. перед медициной встали новые проблемы: ухудшение эпидемиологической обстановки по многим инфекциям, быстрое старение населения, увеличение людей с иммунодефицитами, что способствует широкому распространению заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами. Все это предъявляет возросшие требования к подготовке студентов в плане изучения возбудителей инфекционных заболеваний, с их идентификацией и дифференциальной диагностикой.

При изучении предмета «Основы микробиологии, иммунологии и вирусологии» студенты приобретают основные знания, умения и навыки в соответствии с требованиями Государственного стандарта. Предмет микробиологии состоит из общей части и специальной. Студенты получают основные представления о роли и свойствах микроорганизмов, их распространении, влиянии на здоровье человека. Настоящее учебное пособие по микробиологии поможет учащимся средних медицинских учебных заведений в освоении этого интереснейшего предмета. Авторы постарались как можно доступней

изложить научный материал, который содержит современную информацию по программе преподавания микробиологии.

Данное учебное пособие включает общую микробиологию и частную, а также даны основы вирусологии. Каждая тема содержит теоретический материал и алгоритм манипуляций, которыми должен овладеть студент в процессе изучения этого предмета. После каждой темы даются вопросы для самоконтроля и взаимного контроля. Для достижения большей эффективности самоподготовки авторы в конце книги дали справочник терминов.

Глава 1 Предмет микробиологии. История ее развития

Микробиология — это раздел биологии, изучающий закономерности жизни и развития микроорганизмов в их единстве с окружающей средой. Эта наука изучает свойства микроорганизмов, а также их влияние на макроорганизмы. Бактерии заселили Землю много миллиардов лет назад, задолго до появления первых высших растений и животных, а в настоящее время представляют самую многочисленную и разнообразную группу живых организмов.

Обилие материала, накопленного за период научного развития микробиологии, обусловило необходимость разделения этой науки на ряд специализированных направлений:

1. Общая микробиология — изучает строение и жизнедеятельность микроорганизмов, их распространение в природе, наследственность и изменчивость.
2. Медицинская микробиология — изучает микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, и процессы, происходящие в организме при внедрении болезнетворных микроорганизмов.
3. Сельскохозяйственная микробиология или агромикробиология, изучает микроорганизмы, играющие роль в повышении плодородия почвы, создании удобрений.
4. Ветеринарная микробиология изучает микроорганизмы, вызывающие заболевания животных.
5. Промышленная — изучает микроорганизмы, которые используют в производстве пищевых продуктов, антибиотиков и других лекарственных веществ, создает способы защиты от вредного воздействия.

Основной задачей микробиологии является изучение свойств микроорганизмов, которые окружают нас повсюду—в воде, почве, организме человека и животных, с целью использования полезных для человека свойств микроорганизмов в различных отраслях народного хозяйства, а также микроорганизмов, вызывающих заболевания человека и животных, с целью воздействия на них специфической терапией и профилактики инфекционных заболеваний.

Кроме того, в санитарно-бактериологических лабораториях проводят исследования с целью выявления степени микробного загрязнения внешней среды и различных объектов — роддом, хирургические отделения и т. д.

Медицинская микробиология подразделяется на:

бактериологию — наука о бактериях; вирусологию — наука о вирусах; иммунологию — наука о механизмах защиты организма от патогенных и непатогенных агентов; микологию, изучающую патогенные для человека грибы;

* протозоологию — изучает одноклеточные патогенные организмы;

* паразитологию — изучает гельминтов.

Задачей медицинской микробиологии является разработка методов лабораторной диагностики инфекционных болезней с целью создания медицинских препаратов для их предупреждения и лечения.

Одновременно с развитием медицинской микробиологии формировалась иммунология. И чуть позднее санитарная микробиология, изучающая санитарно-микробиологическое состояние окружающей среды и пищевых продуктов. Медицинская микробиология развилась в результате изучения инфекционных болезней. Однако еще до того, как открыли микроорганизмы, человечеству были знакомы заболевания. И уже в трудах Гиппократов появляются предположения о связи заразных болезней и особых болезнетворных испарений, которые он назвал «миазмами».

В трудах учеными Древней Греции Гиппократом (460— 377 до н. э.), Лукрецием (95—55 н.

э.), Галеном (131—211 до н. э.) была высказана гипотеза о живой природе возбудителей заразных заболеваний.

Народы Азии имели определенные представления о заразности лепры (проказы) и проводили изоляцию больных этой инфекцией. Авиценна считал, что причиной возникновения заразных болезней являются невидимые простым глазом живые существа, передающиеся через воду и воздух.

Но лишь с развитием химии, физики, медицины в эпоху Возрождения и в период промышленной революции XVI—XVII вв. в Западной Европе и России стали накапливаться наблюдения и научные исследования сущности инфекционных болезней.

Впервые увидел и описал микробы голландский ученый А. Левенгук (1632—1723), который изобрел двояковыпуклые линзы с увеличением в 160 раз. Он первый подметил, как кровь движется в капиллярах, а также увидел в семенной жидкости сперматозоиды. В свои самодельные лупы ученый разглядывал все — дождевую воду, мясо, глаз мухи. Каково же было его изумление, когда в зубном налете, в капле воды и многих других жидкостях он увидел множество живых организмов.

Открытия Левенгука вызвали живейший интерес у многих ученых и послужили толчком к изучению микромира. Но только через 150—200 лет были выяснены причины брожения, гниения, установлена роль микроорганизмов в этиологии инфекционных болезней, круговорота азота, углерода и других веществ в биосфере.

Уже на первых этапах развития микробиологии были сделаны попытки связать ее с практическими задачами борьбы с инфекционными заболеваниями.

Русский врач Самойлович (1744—1805), опираясь на богатый опыт борьбы с чумой, пришел к выводу, что чума вызывается «особливым и совсем отменным существом». Чтобы доказать свое предположение, в 1771 г. Самойлович ввел себе заразный материал, взятый от человека, выздоравливающего от бубонной формы чумы. За глубокое изучение чумы Самойлович был избран почетным членом западноевропейских академий.

Одна из наиболее интересных глав в истории микробиологии — это создание метода оспопрививания. В XVIII в. в Париже от оспы умерло 20 тыс. человек, в Неаполе — 16 тыс. человек. Английский врач Эдуард Дженнер заметил, что доярки, которые заражались оспой при доении больных коров, не заражались при контакте с больными людьми. В 1796 г. Э. Дженнер привил здоровому мальчику содержимое гнойного пузырька от коровы, больной оспой. Через 1,5 месяца он привил ему материал от человека, больного оспой. Мальчик не заболел. С тех пор прививки принесли человечеству избавление от этой страшной болезни. Однако открытия, сделанные в первой половине XIX в., убедительно доказали роль патогенных микроорганизмов в возникновении инфекционных заболеваний.

Середина XIX в. явилась поворотным этапом в развитии микробиологии. В этот период она обогатилась новыми данными из физики, химии и биологии. Самым гениальным ученым XIX в. по праву был признан француз Луи Пастер (1822—1895). Это был удивительный человек, который добился упорным трудом очень многого. Когда Пастер уже был всемирно известным ученым, он сказал: «В жизни нужно посвятить все усилия, чтобы наилучше делать то, на что способен. Позвольте сообщить вам секрет моей удачи. Моя единственная сила — это мое упорство». В 26 лет у Л. Пастера было готово две докторские диссертации — одна по химии, другая — по физике. А вот открытия, которые совершил ученый в области микробиологии: впервые доказал, что брожение это — не химический процесс, а биологический — и есть результат жизнедеятельности дрожжевых грибков. Также Л. Пастер доказал, что некоторые микроорганизмы могут жить и размножаться без кислорода.

Чтобы рассказать о заслугах Л. Пастера, надо написать целую книгу. Впервые в истории науки Пастером были разработаны методы уничтожения микроорганизмов при воздействии на них высоких температур. Этот метод был положен в основу стерилизации. В 1879 г., работая с возбудителем куриной холеры, Пастер установил, что в определенных условиях культивирования патогенные микробы теряют свою вирулентность. На основе этого открытия он создает вакцины. В 1885 г. Пастер предложил прививки против бешенства. Научные открытия Л. Пастера показали роль микроорганизмов в возникновении инфекции. Он научился выращивать бактерии в искусственных питательных средах, но не знал способа

обнаружения возбудителя в каждом отдельном случае инфекции.

Большое значение для медицинской микробиологии имели открытия немецкого ученого Роберта Коха (1843—1910), который обогатил микробиологию совершенными методами исследования. Им и его учениками в практику лабораторной техники введены плотные питательные среды (картофель, желатин, свернутая сыворотка, МПА), анилиновые красители, иммерсионная система, микрофотографирование. Благодаря усовершенствованию техники и методики микробиологических исследований Р. Кох окончательно установил этиологию сибирской язвы, открыл возбудителя туберкулеза (1882), холеры (1883) и получил из туберкулезных микробактерий туберкулин. Ученый подробно исследовал ранее неизвестные инфекции и разработал способ выделения в чистой культуре патогенных бактерий.

В этом же году проводил исследования по изучению мозаичной болезни табака Д.И. Ивановский (1864—1920). Он пришел к выводу, что эту болезнь вызывает агент, который не растет на питательных средах и проходит через фильтры. Это была первая работа, доказавшая вирусную природу инфекционных болезней.

Успехи медицинской микробиологии в области этиологии инфекционных болезней обусловили необходимость изучения механизмов защитных реакций организма от инфекционных агентов. Первым ученым, показавшим, что многие клетки организма (лейкоциты, селезенки, костного мозга и пр.) способны захватывать и переваривать чужеродные различные элементы, в том числе и бактерии, был И.И. Мечников (1845—1916). Такие клетки он назвал «фагоцитами» (от греч. фаго — пожираю, цитоз — клетка), а открытое явление «фагоцитозом».

В 1908 г. за это открытие ученый получил Нобелевскую премию.

Так же И.И. Мечников много работал над вопросами продления жизни. Он считал, что человек должен жить 100—120 лет и что преждевременная старость «есть болезнь, которую надо лечить». Причину преждевременной старости Мечников видел в систематическом отравлении организма ядами гнилостных бактерий, которые населяют толстый кишечник человека. Поэтому он советовал употреблять пищу, содержащую молочно-кислые бактерии. Именно они создают в кишечнике кислую среду, которая оказывает неблагоприятное воздействие на гнилостные микробы. Дважды И.И. Мечников подвергал себя смертельной опасности, чтобы проверить правильность своих предположений. Один раз он ввел в свой организм кровь больного тифом, чтобы проверить, как происходит заражение этой болезнью. Ученый перенес тяжелую форму возвратного тифа, но убедился, что заражение происходит через кровь. Второй раз он заразил себя ослабленными микробами холеры, чтобы на себе проверить их действие.

В 1886 г. Мечников организовал в Одессе первую в стране бактериологическую станцию и создал школу микробиологов. Но его прогрессивные взгляды в научной и общественной жизни вызвали недовольство царского правительства и с 1887 г. до конца жизни он жил в Париже и работал в институте Пастера.

Большой вклад в развитие медицинской микробиологии внесли русские ученые. Вот их имена.

Ф. А. Леш (1840—1903) наблюдал в испражнениях больного дизентерией амебы.

П. Ф. Боровский (1863—1932) открыл возбудителя кожного лейкоманилеза.

С. Н. Виноградский (1856—1953) — основатель сельскохозяйственной микробиологии. В 1890 г. открыл нитрифицирующие бактерии и изучил их значение в круговороте азота в природе.

Г. Н. Габричевский (1860—1907) — основоположник московской микробиологической школы. Исследовал скарлатину, дифтерию и другие инфекции. Он организовал в Москве производство противодифтерийной сыворотки и лечил детей, больных дифтерией.

Г. Н. Минх (1836—1896) и О. О. Мочутковский (1845—1903) в опытах на себе установили заразность возвратного и сыпного тифа и пришли к заключению, что эти болезни передаются кровососущими насекомыми.

Среди советских ученых, внесших существенный вклад в развитие микробиологии, можно назвать следующие имена.

П. Ф. Здратовский (1890—1976) — автор классических трудов по изучению бруцеллеза и

риккетсиоза создал и внедрил в практику ряд профилактических и лечебных препаратов. Занимался вопросами иммунологии малярии и кишечных заболеваний, вызванных простейшими.

М. И. Чумаков и А. А. Смородинцев — ученые периода небывалого расцвета советской микробиологии (1950—1970 гг.). Ими и другими микробиологами внедряются вакцины из ослабленных возбудителей чумы, туляремии, бруцеллеза, разработана вакцина против полиомиелита.

Л. А. Зильбер — микробиолог, эпидемиолог. Открыл переносчика и возбудителя весенне-летнего энцефалита. Им создана вирусогенетическая теория происхождения злокачественных опухолей.

З.В. Ермольева (1898—1975) изучала холеру и меры борьбы с ней. Она впервые в СССР получила пенициллин, который в годы Великой Отечественной войны спас тысячи жизней.

Дальнейшее развитие микробиологии тесно связано с успехами молекулярной биологии и генетики. Эти разделы поднимают науку на более высокий и современный уровень. Расшифровка основных принципов кодирования генетической информации в ДНК бактерий, а также универсальность генетического кода бактерий и вирусов позволили установить общие молекулярно-генетические закономерности, свойственные высшим организмам.

К настоящему времени генная инженерия внесла новые идеи и методы в производство широкого спектра биологически активных веществ. В начале XXI в. микробиология составляет одно из основных направлений медицины, открывая новые горизонты для различных ее дисциплин.

§ 1. Основы классификации и морфологии микроорганизмов

Морфологический период развития микробиологии (XVII—XVIII вв.) не дал возможности классифицировать микроорганизмы, так как царил описательный период, т. е. морфологический. В течение XIX столетия был накоплен большой материал о различных свойствах микроорганизмов, постепенно увеличивался список видов микробов, и возникла необходимость систематики и их номенклатуры. И лишь в 1923 г. американский ученый Д. Берги выпустил первый международный определитель бактерий, который впоследствии дополнялся и изменялся.

С 1 января 1980 г. для микроорганизмов принята Единая международная классификация, в основе которой лежит система Берги.

Основными ступенями всех классификаций являются: царство — класс — порядок — семейство — род — вид. Главной классификационной категорией является вид — совокупность организмов, имеющих общее происхождение, сходные морфологические, физиологические признаки и обмен веществ.

Мир микроорганизмов делится на 2 группы: эукариоты и прокариоты. Бактерии относятся к царству прокариотов, представители которых, в отличие от эукариотов, не обладают оформленным ядром. Наследственная информация у прокариотов заключена в молекуле ДНК, располагающейся в цитоплазме клетки.

Внутри вида существуют варианты: морфоварианты, или морфовары, отличающиеся по морфологии; биовары — по биологическим свойствам, хемовары — по ферментативной активности, серовары — по антигенной структуре, фагова-ры — по чувствительности к фагам.

Для обозначения микроорганизмов принята общебиологическая бинарная (двойная) номенклатура. Первое название обозначает род и пишется с прописной буквы. Второе название обозначает вид и пишется со строчной буквы. Например, *Staphylococcus aureus* — стафилококк золотистый, *S. aureus*.

Медицинская микробиология, главным образом, изучает патогенные бактерии, вирусы, простейшие, спирохеты, микоплазмы, риккетсии, хламидии. Большинство микробов представляют собой невидимые невооруженным глазом одноклеточные (бактерии, актиномицеты, спирохеты, простейшие), неклеточные (вирусы), а также многоклеточные организмы (сине-зеленые водоросли, некоторые грибы, хлами-добактерии).

Бактерии (от лат. *bacteria* — палочка) — это одноклеточные организмы, лишённые хлорофилла. По биологическим свойствам — прокариоты. Размеры от 0,1 до 0,15

микрометра до 16—28 мкм. Размеры и форма бактерий непостоянны и меняются от влияния среды обитания.

По внешнему виду бактерии делятся на 4 формы: шаровидные (кокки), палочковидные (бактерии, бациллы и клостридии), извитые (вибрионы, спириллы, спирохеты) и нитевидные (хламидобактерии).

1. Кокки (от лат. *coccus* — зерно) — шарообразный микроорганизм, бывает сферической, эллипсоидной, бобовидной и ланцетовидной формы. По расположению, характеру деления и биологическим свойствам кокки подразделяются на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сар-цины, стафилококки.

Микрококки характеризуются одиночным, парным или беспорядочным расположением клеток. Они являются сапр-рофитами, обитателями воды, воздуха.

Диплококки (от лат. *diplococcus* — двойной) делятся в одной плоскости и образуют кокки, соединенные по две особи. К диплококкам относятся менингококки — возбудители эпидемического менингита и гонококки — возбудители гонореи и бленнореи.

Стрептококки (от лат. *streptococcus* — витой), делящиеся в одной плоскости, располагаются цепочками различной длины. Имеются патогенные для человека стрептококки, вызывающие различные заболевания.

Тетракокки (от лат. *tetra* — четыре), располагающиеся по 4, делятся в двух взаимноперпендикулярных плоскостях.

Редко встречаются в качестве возбудителей болезней у человека.

Сардины (от лат. *saris* — связываю) — кокковые формы, которые делятся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и выглядят в виде туюков по 8—16 и более клеток. Часто встречаются в воздухе. Болезнетворных форм нет.

Стафилококки (от лат. *staphylococcus*) — гроздевидно расположенные кокки, делящиеся в различных плоскостях; располагаются неправильными скоплениями.

Некоторые виды вызывают у человека и животных заболевания.

2. Палочковидные формы подразделяются на бактерии, бациллы и клостридии.

Средние размеры от 1 до 6 мкм в длину и 0,5—2 мкм в ширину.

К бактериям относятся палочковидные микроорганизмы, как правило, не образующие спор (кишечная палочка, брюшнотифозная, паратифозные, дизентерийные, дифтерийные, туберкулезные и др.).

К бациллам (от лат. *bacillus* — палочка) и клостридиям (от лат. *closter* — веретено) принадлежат микробы, в большинстве своем образующие споры (сенная, сибиреязвенная, столбнячная, возбудители анаэробной инфекции).

По форме палочковидные бактерии бывают короткими (туляремийная), длинными (сибиреязвенная) с закругленными и заостренными концами.

По взаимному расположению палочковидные формы распределяются на три подгруппы:

— диплобактерии и диплобациллы, располагающиеся попарно по длине (бактерии пневмонии);

— стрептобактерии (возбудитель мягкого шанкра) и стреп-тобациллы (бациллы сибирской язвы);

— бактерии и бациллы, которые располагаются без определенной системы (большинство палочковидных форм).

Встречаются бактерии с булавовидными утолщениями на концах — возбудитель дифтерии, некоторые имеют ветвления — микробактерии туберкулеза и лепры. Общее число палочковидных форм бактерий больше, чем корковидных.

3. К извитым формам бактерий относятся вибрионы, спириллы и спирохеты.

Вибрионы (от лат. *vibrio* — изгибаюсь — клетки, изгиб которых равен 14 завитка спирали, имеющие вид запятой). Типичный представитель — холерный вибрион и водные вибрионы.

Спириллы (от лат. *spira* — изгиб) — имеют изгибы с одним или несколькими оборотами спирали. Из патогенных известен один вид *spirillum minor* — возбудитель содоку, способный вызывать у человека болезнь, передающуюся через укус крыс и других грызунов.

Спирохеты (от лат. *spirochaeta* — бактерия в виде изогнутого длинного винта — штопорообразная форма. Размеры от 0,3—1,5 мкм в ширину и 7—500 мкм в длину). В

семейство входят сапрофиты и патогенные виды. Они обитают в загрязненных водоемах, на мертвых субстратах. К патогенным относятся три рода: *Treponema*, *Leptospira*, *Borrelia*.

Все микробы обладают полиморфизмом, т. е. индивидуальной изменчивостью форм под влиянием различных факторов — температуры, питательной среды, концентрации солей, кислотности, продуктов метаболизма, дезинфицирующих агентов, лекарственных препаратов.

Способность микробов изменяться учитывается в лабораторной диагностике инфекционных болезней, при изготовлении биологических препаратов, применяемых для профилактических и лечебных целей.

§ 2. Ультраструктура бактерии

Бактерии (прокариоты) существенно отличаются от клеток растений и животных (эукариоты).[^]

Прокариоты — обычно содержат один ген, который не отделен специальной мембраной от цитоплазмы, не имеют митохондрий и аппарата Гольджи, не обладают амебоидным движением. Они состоят из нуклеоида, цитоплазмы (содержащей различные включения), оболочки и других структур-органов (жгутики), и несмотря на внешнюю простоту строения бактериальной клетки, представляют собой сложное живое существо.

Ультраструктура бактерий изучается с помощью электрон-микроскопических и микрохимических исследований.

* Нуклеоид, ядерное вещество клетки, ее наследственный аппарат, состоит из двойной нити ДНК, сомкнутой в кольцо и свободно погруженное в цитоплазму, в отличие от эукариотов. В молекуле ДНК закодирована генетическая информация клетки.

* Цитоплазма бактерий — дисперсная смесь коллоидов, состоящая из воды, белков, углеводов, липидов, минеральных соединений и других веществ. Бактериальная цитоплазма неподвижна, имеет высокую плотность, содержит мелкие зерна, состоящие из 60% РНК и 40% протеина, представляющие собой рибонуклеопротеиды, получившие название «рибосом». Они выполняют функцию синтеза белка.

В цитоплазме находятся включения: гранулы, содержащие запасные питательные вещества; гранулы волютина, липопротеидные тельца, гликоген, пигментные скопления, сера, кальций и др. Гранулы волютина окрашиваются более интенсивно, чем цитоплазма клетки, и содержат метафосфаты. Они обнаруживаются в некоторых видах бактерий, как, например: *Corynebacterium diphtheriae*, что учитывается при лабораторной диагностике дифтерии. Липопротеидные тельца в виде капель жира довольно часто встречаются у ряда бацилл и спирилл. Они исчезают при голодании клеток и появляются при росте бактерий на питательных средах, содержащих много углеводов.

Биологическое значение гранул волютина и липопротеиновых включений состоит в том, что они служат запасным питательным материалом и используются бактериями при недостатке питательных веществ.

Роль вакуолей изучена недостаточно. Одни ученые их рассматривают как участки, где откладываются вредные продукты метаболизма (экзотоксины), другие приписывают им роль добавочных ферментов дыхания.

Оболочка бактерий состоит из цитоплазматической мембраны, клеточной стенки и капсульного слоя, превращающегося у некоторых видов в истинную капсулу.

Цитоплазматическая мембрана прилегает к внутренней поверхности стенки и состоит из трех слоев: липидного, протеинового и полисахаридного. Она выполняет функцию разделительной перегородки, через нее с помощью ферментов осуществляется активный транспорт различных веществ и ионов, необходимых для жизнедеятельности клетки. В клеточных мембранах локализованы высокочувствительные рецепторы, с помощью которых клетки распознают и обрабатывают сигналы, поступающие из окружающей среды, дифференцируют питательные вещества и различные антибактериальные соединения. На поверхности цитоплазматической мембраны содержатся активные ферментные системы (пермеазы), принимающие участие в синтезе белка, ферментов, нуклеиновых кислот. Цитоплазматическая мембрана образует лизосомы, участвующие в делении клетки.

Клеточная стенка защищает бактерии от вредных факторов внешней среды, принимает

участие в росте и делении клетки. Прочность стенки обеспечивает му-реин, вещество полисахаридной природы. Некоторые вещества, например, лизоцим, могут разрушать клеточную стенку. Бактерии, полностью лишённые клеточной стенки, называются «протопластами», они имеют шаровидную форму, обладают способностью к дыханию, синтезу белков, нуклеиновых кислот, ферментов, спорообразованию. Сохранить протопласты можно только в гипертонических растворах.

Рис. 1. Строение бактериальной клетки

1 — капсула; 2 — клеточная стенка; 3 — цитоплазматическая мембрана; 4 — спора; 5 — цитоплазма; 6 — ядерное вещество; 7 — ли-зосомы; 8 — рибосомы; 9 — жгутик; 10 — пили

* Капсула. Под влиянием различных факторов среды некоторые микробы обладают способностью откладывать на поверхности своего тела более мощный слизистый слой вокруг клеточной стенки, получивший название «капсулы».

Капсульное вещество бактерии состоит из полисахаридов, мукополисахаридов или полисахаридов. Капсулообразование считается приспособительной функцией микроба. Патогенные капсульные микробы (клебсиеллы, возбудители сибирской язвы, возбудители пневмонии) более устойчивы к фагоцитозу, действию защитных факторов организма и внешней среды.

« Жгутики являются основным локомоторным органоидом бактерий. В результате их энергичного движения, напоминающего вращение штопора, жидкость движется вдоль жгутиков и бактерий и развивает скорость « 50 мкмс. Жгутики состоят из белковых веществ типа флагеллина, принадлежащего к классу сократимых белков.

Жгутики связаны с телом бактериальной клетки при помощи двух дисков: наружный находится в клеточной стенке, внутренний — в цитоплазматической мембране. По расположению жгутиков подвижные микробы подразделяются на 4 группы:

1. Монотрихи — бактерии с одним жгутиком на конце (холерный вибрион, синегнойная палочка).

2. Амфитрихи — бактерии с двумя полярно расположенными жгутиками или имеющие по пучку жгутиков на обоих концах (*Spimliun volutans*).

3. Лофотрихи — бактерии, которые имеют по пучку жгутиков на одном конце (палочки сине-зеленого молока).

4. Перитрихи — бактерии, обладающие жгутиками по всей поверхности тела (*E. coli*, сальмонеллы брюшного тифа, паратифов А и В).

У некоторых видов микробов имеются пили (реснички, фимбрии, филаменты), представляющие собой образования, которые значительно короче и тоньше жгутиков. Они покрывают тело клетки. Полагают, что они не являются органами передвижения, а способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности некоторых субстратов.

Споры и спорообразование. Спорообразование присуще некоторым, преимущественно палочковидным микроорганизмам (бациллы и клостридии). При попадании бацилл в неблагоприятные условия в клетке возникают структурные изменения. В одном из участков клетки цитоплазма с частью нуклеоида уплотняется, образуется предспоровая мембрана; затем она покрывается плотной многослойной мембраной, содержащей минимальное количество свободной воды и большое количество кальция, липидов и миколовой кислоты.

Споры обладают повышенной устойчивостью к действию факторов внешней среды и могут длительно (десятки лет) сохраняться в неблагоприятных условиях. Споры некоторых бацилл выдерживают кипячение и действие высоких концентраций дезинфицирующих средств.

Спорообразование происходит у бактерий в течение 18— 20 часов. В бактериальной клетке образуется только одна спора, из нее прорастает только одна вегетативная клетка, следовательно, спора не является органом размножения, а служит только для перенесения неблагоприятных условий.

По характеру локализации в теле бацилл и клостридий споры располагаются:

- 1) центрально — возбудитель сибирской язвы;
- 2) субтерминально — ближе к концу (возбудитель ботулизма, анаэробной инфекции и др.);
- 3) терминально — на конце палочки (возбудитель столбняка).

Кроме бактерий заболевания могут вызывать и другие организмы: риккетсии, вирусы,

актиномицеты, простейшие.

Вирусы представляют собой особую группу неклеточных форм жизни, обладающих собственным геном, способным к воспроизведению в клетках всех видов организмов. Они являются облигатными (обязательными) внутриклеточными паразитами человека, животных, насекомых, грибов, растений и бактерий. Вирусы подразделяются на 2 группы:

1. ДНК-содержащие (вирус натуральной оспы и вирус простого герпеса человека, аденовирусы);

2. РНК-содержащие (вирус гриппа, парагриппа, бешенства, вирус везикулярного полиомиелита, стоматита Нью-Джерси и др.).

Вирусная частица носит название «вирион». Он состоит из центрально расположенной нуклеиновой кислоты РНК или ДНК, окруженной одной или двумя оболочками.

Первая оболочка, в которой заключена нуклеиновая кислота, называется капсид (от греч. *κοψα* — ящик).

Размножение вирусов осуществляется путем раздельного синтеза оболочки и нуклеиновой кислоты в клетке хозяина с последующей сборкой вирионов. Этот процесс получил название «репродукции».

Форма вирионов разнообразна: сферическая палочковидная, кубоидальная и сперматозоидная, пулевидная.

Среди вирусов выделяют особую группу фагов (от лат. *phages* — пожирающий), вызывающих лизис (разрушение) клеток микроорганизмов (бактерий). Они не вызывают заболеваний человека и животных. В лабораториях вирусы культивируются в курином эмбрионе, организме животных или культуре ткани.

Микоплазмы — это микроорганизмы, лишенные клеточной стенки, но окруженные трехслойной липопротеидной цитоплазматической мембраной. Микоплазмы обнаружены в почве, сточных водах, на различных субстратах, в организме животных и человека. Имеются патогенные и непатогенные виды.

К патогенным для человека относится *Mycoplasma pneumoniae*, к полупатогенным — *M. hominis* и T- группа.

Клетки микоплазм весьма полиморфны (шаровидные, кольцевидные, коккобациллярные, нитевидные, ветвистые, в виде элементарных телец). Патогенные микоплазмы поражают органы дыхания, мочеполовую и ЦНС. В настоящее время этим возбудителям уделяется особое внимание как возбудителям заболевания воспалительного характера.

Спирохеты (от лат. *spira* — изгиб, *chaite* — волосы) — бактерии, имеющие штопорообразную извитую форму. Размеры их колеблются в больших пределах (ширина — 0,3— 1,5 мкм, длина — 7—500 мкм). Тело спирохет состоит из осевой нити (пучок фибрилл) и цитоплазмы, спирально завитой вокруг нити. Спирохеты передвигаются путем сокращения внутренней, осевой нити; спор, капсул и жгутиков не образуют.

В семейство *Spirochetaceae* входят как непатогенные (обитатели водоемов), так и патогенные бактерии. К патогенным относятся 3 рода: *Treponema*, *Zeptopara*, *Borrelia*.

Treponema pallidum — возбудитель сифилиса. Под влиянием факторов внешней среды и лечебных препаратов *тре-понемы* в ряде случаев свертываются в клубки, образуя цисты, покрытые непроницаемой муциноподобной оболочкой. Они длительное время могут находиться в организме больного в латентном состоянии; при благоприятных условиях цисты превращаются в зерна, а затем в типичные спиралевидные *трепонемы*.

Риккетсии — это полиморфные микроорганизмы, которые живут и размножаются только в клетках тканей животных, человека и переносчиков. Они не образуют спор и капсул, неподвижны. Большая часть риккетсий относится к безвредным микроорганизмам. Около 50 различных видов риккетсий найдено в кишечнике и слюнных железах тлей, клопов, клещей. Патогенные риккетсии поражают различных животных и человека. Заболевания, вызываемые риккетсиями, носят название «риккетсиозов» (эпидемический сыпной тиф, различные лихорадки: пятнистая, марсельская и др.).

Хламидии — облигатные внутриклеточные бактерии кокковидной формы; размножаются только в цитоплазме клеток позвоночных. К роду *Chlamydia* принадлежат возбудители трахомы, конъюнктивитов, пахового лимфогранулематоза, орнитоза.

Возбудитель *Chlamydia trachealis* паразитирует в цитоплазме эпителиальных клеток конъюнктивы и роговой оболочки глаза.

Конъюнктивит новорожденных, или бленнорея, протекает с явлениями инфильтрации конъюнктивы, особенно нижнего века. Источником заражения являются матери, у которых возбудитель сохраняется в мочеполовой системе и передается во время родов новорожденным детям. Взрослые заражаются при купании в небольших прудах и нехлорированных бассейнах. Заболевание у них проявляется в виде острого фолликулярного конъюнктивита и продолжается около года.

Простейшие — одноклеточные эукариотные животные организмы, более высоко организованные по сравнению с бактериями. Они имеют цитоплазму, дифференцированное ядро, оболочку, примитивные органоиды.

Простейшие размножаются простым и множественным делением, половым путем.

Тип Protozoa насчитывает свыше 30 тыс. видов и подразделяется на:

- 1) жгутиковые;
- 2) саркозовые; 3) споровики;
- 4) ресничные.

К патогенным простейшим относятся возбудители лейшманиоза, трипаноза, трихомониаза, лямблиоза, амебиоза, малярии, токсоплазмоза, балантидиоза.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ Устройство микроскопа

1. Оптическая часть: окуляр, объектив, конденсор Аббе, осветительный прибор (зеркальце).
2. Механическая часть: штатив, подставка, предметный столик, тубус, тубу-содержатель, макровинт, микровинт. Увеличение микроскопа равно произведению увеличения объектива на увеличение окуляра.

Все микробиологические исследования по выявлению и идентификации микроорганизмов осуществляются в научно-исследовательских институтах и бактериологических лабораториях центров Госсанэпиднадзора.

Для обеспечения требований безопасности при работе с микроорганизмами III—IV групп патогенности (см. приложения 7.1) и поточности продвижения потенциально инфицированного материала в бактериологической лаборатории выделяют «чистую» и «заразную» зоны.

В состав бактериологической лаборатории входят:

регистратура (приемная) — производится прием и регистрация поступившего для исследования материала, дается номер отобранной пробе;

* средоварная — приготовление питательных сред из сухих;

* препаратная — подготовка лабораторной посуды, ватно-марлевых пробок, тампонов и т. д.;

* стерилизационные — стерилизация питательных сред, растворов, посуды;

* «заразные» стерилизационные — служат для обеззараживания патологического материала;

посевная — производится первичный посев материала на питательные среды;

* лабораторные комнаты — служат для исследований на капельную, кишечную группы бактерий, для санитарно-бактериологических исследований. Лабораторное помещение оборудуется столами лабораторного типа, шкафами и полками для хранения необходимой при работе аппаратуры, посуды, красок и реактивов.

Приложение 7.1 (обязательное)

Санитарные правила СП 1.2.731-99

Классификация патогенных для человека микроорганизмов

III и IV групп патогенности (извлечение из приложения 5.1 к СП 1.2.011-94)

Бактерии III группа

1. *Bordetella pertussis*
2. *Borrelia recurrentis*
3. *Campylobacter fetus*
4. *Campylobacter jejuni*
5. *Clostridium botulinum*

6. *Clostridium tetani*
 7. *Corynebacterium diphtheriae*
 8. *Erysipelothrix rhusiopathiae*
 9. *Helicobacter pylori*
 10. *Leptospira interrogans*
 11. *Listeria monocytogenes*
 12. *Mycobacterium leprae*
 13. *Mycobacterium tuberculosis* *Mycobacterium bovis* *Mycobacterium avium* коклюша возвратного тифа абсцессов, септицемий энтерита, холецистита ботулизма столбняка дифтерии эризепелоида гастрита, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки лептоспироза листериоза проказы туберкулеза
 14. *Neisseria gonorrhoeae*
 15. *Neisseria meningitidis*
 16. *Nocardia asteroides*
 17. *Proactinomyces israelii*
 18. *Salmonella paratyphi A*
 19. *Salmonella paratyphi B*
 20. *Salmonella typhi*
 21. *Shigella* spp.
 22. *Treponema pallidum*
 23. *Yersinia pseudotuberculosis*
 24. *Vibrio cholerae* 01
- IV группа
1. *Aerobacter aerogenes*
 2. *Bacillus cereus*
 3. *Bacteroides* spp.
 4. *Borrelia* spp.
 5. *Bordetella bronchiseptica*
Bordetella parapertussis
 6. *Campylobacter* spp.
 7. *Citrobacter*
 8. *Clostridium perfringens* *Clostridium novyi* *Clostridium septicum* *Clostridium histolyticum* *Clostridium bifermentans*
 9. *E. coli*
 10. *Eubacterium endocarditidis*
 11. *Eubacterium lentum* *Eubacterium ventriosum* гонореи менингита нокардиоза актиномикоза паратифа А паратифа В брюшного тифа дизентерии сифилиса псевдотуберкулеза нетоксигенной диареи энтерита пищевой токсикоин-фекции абсцессов легких, бактериемии клещевого спирохетоза бронхосептикоза паракоклюша гастроэнтерита, гингивита, периодонтита местных воспалительных процессов, пищевой токсикоинфекции газовой гангрены энтерита септического эндокардита вторичных септице-мий, абсцессов
 12. *Flavobacterium meningoseptium*
 13. *Haemophilus influenza*
 14. *Hafnia alvei*
 15. *Klebsiella ozaenae*
 16. *Klebsiella pneumoniae*
 17. *Klebsiella rhinoscleromatis*
 18. *Mycobacterium* spp. Photochromogens Scotochromogens Nonphotochromogens Rapid growers
 19. *Mycoplasma hominis* 1
Mycoplasma hominis 2 *Mycoplasma pneumoniae*
 20. *Propionibacterium avidum*
 21. *Proteus* spp.
 22. *Pseudomonas aeruginosa*
 23. *Salmonella* spp.

24. *Serratia marcescens*

25. *Staphylococcus* spp.

26. *Streptococcus* spp.

менингита, септецемий менингита, пневмонии, ларингита холецистита, цистита озены пневмонии риносклеромы микробактериозов местных воспалительных процессов, пневмонии сепсиса, абсцессов пищевой токсикоинфекции, местных воспалительных процессов местных воспалительных процессов, сепсиса сальмонеллезом местных воспалительных процессов, сепсиса пищевой токсикоинфекции, септецемий, пневмонии пневмонии, тонзиллита, полиартрита, септецемий энтерита, колита актиномикоза

27. *Yersinia enterocolitica*

28. *Actinomyces albus*

Для того чтобы увидеть микроорганизмы, их необходимо окрасить. Существуют простые и сложные способы окрашивания микроорганизмов. При простом способе окрашивания на мазок наносится один краситель, при сложном способе окрашивания — 2 или более красителей. К таким способам окрашивания относится окраска по Граму. Соответственно выделяют формы бактерий грамположительные (окрашиваются в фиолетовый цвет) и грамотрицательные (окрашиваются в красный цвет). Грамположительные бактерии имеют несложно организованную, но мощную клеточную стенку, состоящую из множественных слоев пептидогликана, включающих уникальные полимеры тейхоевых кислот. Грамотрицательные бактерии имеют более тонкую клеточную стенку, включающую бимолекулярный слой пептидо-гликана и не содержащую тейхоевой кислоты.

Грам +

Грам -

Мембрана

Мукопептиды (муреины)

Мембрана

Лишшолисахариды и белки

Рис. 2. Схема строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов

Приготовление мазка из зубного налета

1. Небольшое количество зубного налета снять острым концом спички.
2. Растереть на предметном стекле размером с пятикопеечную монету.
3. Мазок зафиксировать путем трехкратного проведения над пламенем горелки.
4. Мазок окрасить по Граму.
5. Промыть водой.
6. Высушить фильтровальной бумагой и на воздухе.
7. Микроскопировать.

Окраска препарата по Граму

1. Небольшое количество генцианвиолета налить на препарат; время окраски — 2 мин.
2. Избыток краски слить в лоток, на препарат нанести пипеткой несколько капель раствора Люголя на 1 минуту.
3. На препарат налить несколько капель спирта, обесцвечивание проводить до отхождения фиолетовых капель — струи краски, но не более 30 с.
4. Мазок тщательно промыть водой.
5. Мазок докрасить разведенным фуксином — 2 мин.

Микроскопирование препарата

1. Установить освещение: конденсор должен быть поднят до упора, настройку производить с объективом малого увеличения 8-х — необходимо белое освещенное поле.
2. Препарат поместить на предметный столик.
3. Макровинтом опустить объектив на расстояние 0,5 см от препарата.
4. Глядя в окуляр, получить изображение препарата, вращая макровинт против часовой стрелки (на себя).
5. Произвести точную фокусировку с помощью микровинта.
6. Переместить револьвер на большое увеличение (объектив 40-х) и провести дефокусировку

только микровинтом.

7. После просмотра препарата перевести револьвер на увеличение 8-х (малое) и только после этого снять препарат с предметного столика.

Кроме окраски по Граму к сложным дифференциальным методам окраски относятся:

1. Окраска кислотоустойчивых бактерий по Цилю—Нильсену фиксированный на пламени горелки мазок окрашивают 3—5 мин раствором карболового фуксина Циля или окрашенной фуксином бумажкой с подогреванием до появления паров, но не доводя краску до кипения;

* дают препарату остыть, бумажку снимают, сливают избыток краски, препарат промывают водой;

* окрашенный препарат обесцвечивают 5% H₂SO₄ (серной кислотой) в течение 3—5 с или 96° этиловым спиртом, содержащим 3% по объему соляной кислоты, несколько раз погружая в стаканчик с раствором;

* после обесцвечивания остаток кислоты сливают, препарат промывают водой;

* докрасивают дополнительно метиленовой синью Леф-флера 3—5 мин, промывают водой, подсушивают и микроскопируют.

Результаты окраски: при окраске препаратов по методу Циля—Нильсена кислотоустойчивые бактерии окрашиваются фуксином в красный цвет.

2. Окраска по Романовскому—Гимзе

Краска Романовского—Гимзы состоит из смеси азура, эозина и метиленовой сини. Перед употреблением к 10 мл дистиллированной воды прибавляют 10 капель краски Романовского—Гимзы. Приготовленный раствор краски наносят на фиксированный мазок и оставляют на 1 ч. Затем краску сливают, препарат промывают водой и высушивают на воздухе. Краска Романовского—Гимзе окрашивает микробы в фиолетово-красный цвет.

Глава 2 Физиология микроорганизмов

Для понимания процессов обмена веществ в клетке необходимо знать ее химический состав.

Бактериальная клетка состоит из органоенов — азота (8—15% сухого остатка), углерода (45—55%), кислорода (30%), водорода (6—8%). Из них и других элементов и соединений микроорганизмы синтезируют белки, нуклеопротеиды, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, ферменты, витамины и пр.

75—85% приходится на долю воды. В спорах бацилл и кластридий концентрация воды 40—50 %, она главная составная часть клетки, находится в связанном состоянии, т. е. структурный элемент цитоплазмы — свободная вода, которая является растворителем для кристаллических веществ, источником водородных ионов и участником химических реакций.

Минеральные вещества бактерий — это неорганические компоненты (фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, сера, натрий участвует в поддержании осмотического давления в клетке, магний, калий, кальций, железо ферментов АТФ — аккумулятор энергии в клетке, хлор и др.), микроэлементы в дыхательных ферментах (молибден, кобальт, бор), которые участвуют в синтезе, активизируют их, марганец, цинк, медь и др.

50—80% сухого вещества бактериальной клетки приходится на долю белка. Он распределен в цитоплазме, нуклеоиде, цитоплазматической мембране и других клеточных структурах. К белкам принадлежат ферменты, многие токсины.

Большое значение в жизнедеятельности клетки имеют нуклеопротеиды — соединение белка с нуклеиновыми кислотами ДНК и РНК. Кроме нуклеопротеидов в клетке находятся липопротеиды, гликопротеины, хромопротеины.

ДНК — аденин, гуанин, цитозин, тимин, фосфорная кислота и дезоксирибоза.

РНК — аденин, гуанин, цитозин, урацил, фосфорная кислота, рибоза.

Количественное и качественное разнообразие белковых веществ, их комплексов и аминокислот наделяет мембраны видовой специфичностью.

Нуклеиновые кислоты ДНК содержатся в нуклеоиде и обуславливают генетические свойства, РНК — биосинтез белка.

Углеводы — 12—18% сухого вещества. Это основной источник энергии и углерода.

Многие структурные компоненты клетки состоят из углеводов (оболочка, капсула, слизистый слой). У ряда бактерий в цитоплазме имеются включения, по своему составу

напоминающие гликоген, крахмал; играют роль запасных веществ в клетке.

Липиды — составляют ~ 10% сухого остатка. У бактерий, откладывающих жир в виде особых включений, количество липидов доходит до 40% (микобактерии туберкулеза).

Липиды — это запасные вещества, повышающие устойчивость бактерий во внешней среде. Связываясь с белками и углеводами, липиды составляют сложный комплекс, определяющий токсические свойства микроорганизмов.

Жизненные функции микроорганизмов: питание, дыхание, рост и размножение — изучает физиология. В основе физиологических функций лежит непрерывный обмен веществ (метаболизм). Сущность обмена веществ составляют два противоположных, но взаимосвязанных процесса: ассимиляция (анаболизм) и диссимиляция (катаболизм).

Ассимиляция — это усвоение питательных веществ и использование их для синтеза клеточных структур.

При процессах диссимиляции питательные вещества разлагаются и окисляются, при этом выделяется энергия, необходимая для жизни микробной клетки. Все процессы синтеза и распада питательных веществ совершаются с участием ферментов. В микроорганизмах происходит интенсивный обмен веществ, за сутки 1 микробная клетка может переработать питательных веществ, которые в 30—40 раз больше ее массы.

Микробная клетка использует питательные субстраты для синтеза составных частей своего тела, ферментов, пигментов роста.

§ 1. Питание бактерий

Типы питания бактерий определяются по характеру усвоения углерода и азота.

По усвоению углерода бактерии делят на 2 типа:

аутоотрофы, или литотрофы, — бактерии, использующие в качестве источника углерода CO₂ воздуха.

гетеротрофы, или органотрофы, — бактерии, которые нуждаются для своего питания в органическом углероде (углеводы, жирные кислоты).

По способности усваивать азот микроорганизмы делятся на 2 группы: аминокислототрофы и моногетеротрофы.

Аминокислототрофы — для синтеза белка клетки используют молекулярный азот воздуха или усваивают его из аммонийных солей.

Аминогетеротрофы — получают азот из органических соединений — аминокислот, сложных белков. Сюда относятся все патогенные микроорганизмы и большинство сапро-фитов.

По характеру источника использования энергии микроорганизмы делятся на фототрофы, использующие для биосинтетических реакций энергию солнечного света, и хемотрофы.

Хемотрофы получают энергию за счет окисления неорганических веществ (нитрифицирующие бактерии и др.) и органических соединений (большинство бактерий, в том числе и патогенного для человека вида).

Графологическая структура «Питание бактерий» по характеру усвоения углерода по характеру усвоения азота по характеру использования источника энергии аутоотрофы гетеротрофы аминокислототрофы фото- хемотрофы

(литотрофы) (органотрофы) автотрофы гетеротрофы трофы трофы

(от греч. *litos* — трофы камень)

Факторы роста: наряду с пептонами, углеводами, жирными кислотами и неорганическими элементами, бактерии нуждаются в специальных веществах — ростовых факторах, играющих роль катализаторов в биохимических процессах клетки и являющихся структурными единицами при образовании некоторых ферментов. К факторам роста относятся различные витамины, некоторые аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания и др.

Знание потребностей микроорганизмов в питательных веществах и факторах роста очень важно, в частности, для создания питательных сред, применяемых для их выращивания.

Питательные среды подразделяются на 4 основные группы:

- * универсальные; специальные;
- * избирательные (элективные);
- * дифференциально-диагностические .

1. Универсальные (МПА, МПБ) содержат питательные вещества, в присутствии которых растут многие виды патогенных и непатогенных бактерий.
2. Питательные специальные среды применяют для выращивания бактерий, не размножающихся на универсальных средах (кровяной, сывороточный агар, сывороточный бульон).
3. Избирательные (элективные) среды служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они способствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Соли желчных кислот, подавляя рост кишечной палочки, делают среду элективной для брюшного тифа.
4. Дифференциально-диагностические среды позволяют отличить (отдифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности, например, среды Гиса с углеводами и индикатором. При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды. Кроме того, в лабораториях для первичного посева и транспортировки исследуемого материала применяют консервирующие среды (глицериновую, магниевую и т. д.).

§ 2. Дыхание бактерий

Атмосферный воздух содержит 78% азота, 20% кислорода и 0,03—0,09% углекислого газа. Углекислота и азот воздуха могут быть использованы только аутотрофами. Кислород же играет важную роль в метаболизме (обмене веществ), дыхании и получении энергии большинства видов бактерий.

Дыхание (или биологическое окисление) — это сложный процесс, который сопровождается выделением энергии, необходимой микроорганизмам для синтеза различных органических соединений. Бактерии, как и высшие животные, для дыхания используют кислород. Однако Л. Пастером было доказано существование таких бактерий, для которых наличие свободного кислорода является губительным, энергия, необходимая для жизнедеятельности, получается ими в процессе брожения.

Все бактерии по типу дыхания подразделяются на облигатные аэробы, микроаэрофилы, факультативные анаэробы, облигатные анаэробы.

Облигатные (строгие) аэробы развиваются при наличии в атмосфере 20% кислорода (микобактерии туберкулеза), содержат ферменты, с помощью которых осуществляется перенос водорода от окисляемого субстрата к кислороду воздуха.

Микроаэрофилы нуждаются в значительно меньшем количестве кислорода, и его высокая концентрация хотя и не убивает бактерии, но задерживает их рост (актиноисцеты, бруцеллы, лептоспиры).

Факультативные анаэробы могут размножаться как в присутствии, так и в отсутствие кислорода (большинство патогенных и сапрофитных микробов — возбудители брюшного тифа, паратифов, кишечная палочка).

Облигатные анаэробы — бактерии, для которых наличие молекулярного кислорода является губительным (клостридии столбняка, ботулизма).

Аэробные бактерии в процессе дыхания окисляют различные органические вещества (углеводы, белки, жиры, спирты, органические кислоты и пр.).

Дыхание у анаэробов происходит путем ферментации субстрата с образованием небольшого количества энергии. Процессы разложения органических веществ в бескислородных условиях, сопровождающиеся выделением энергии, называют брожением. В зависимости от участия определенных механизмов различают следующие виды брожения: спиртовое, осуществляемое дрожжами, молочно-кислое, вызываемое молочно-кислыми бактериями, масляно-кислое и пр.

С выделением большого количества тепла при дыхании некоторых микроорганизмов связаны процессы самовозгорания торфа, навоза, влажного сена и хлопка.

§ 3. Ферментативная активность бактерий

Ферменты — биологические катализаторы, высокомолекулярные вещества белковой природы, вырабатываемые живой клеткой. Они строго специфичны и играют важнейшую роль в обмене веществ микроорганизмов. Специфичность их связана с активными центрами, образуемыми группой аминокислот, т. е. каждый фермент реагирует с определенным

химическим соединением или катализирует одну или несколько близких химических реакций. Например: фермент лактаза расщепляет лактозу, мальтаза — мальтозу и т. д.

Экзоферменты — выделяясь во внешнюю среду- Эндоферменты — участвуя, расщепляют макромолекулы питательных веществ в реакциях обмена веществ до более простых соединений, которые могут быть усвоены микробной клеткой (экзоферменты гидролиза вызывают гидролиз жиров, белков, углеводов).

Ферментный состав микроорганизмов является постоянным, а различные виды микробов четко различаются по набору ферментов. Поэтому изучение ферментативного состава имеет важное значение для идентификации различных микроорганизмов.

Практическое использование ферментативных свойств микробов: процессы брожения, грибы в пивоварении и виноделии, обработка шкур, для смягчения; консервирование. Приготовление биодобавок к стиральным порошкам, для удаления белковых загрязнений, так как они расщепляют белки до водорастворимых.

С помощью ферментов получают витамины, гормоны, алкалоиды, вещества, происходящих внутри клетки.

§ 4. Рост и размножение микроорганизмов

Одним из проявлений жизнедеятельности микроорганизмов является их рост и размножение. Рост — это увеличение размеров отдельной особи.

Размножение — способность организма к воспроизведению.

Основным способом размножения у бактерий является поперечное деление, которое происходит в различных плоскостях с формированием многообразных сочетаний, клеток (гроздь, цепочки, тьюки и т. д.). У бактериальных клеток делению предшествует удвоение материнской ДНК. Каждая дочерняя клетка получает копию материнской ДНК. Процесс деления считается законченным, когда цитоплазма дочерних клеток разделена перегородкой. Клетки с перегородкой деления расходятся в результате действия ферментов, которые разрушают сердцевину перегородки.

Скорость размножения бактерий различна и зависит от вида микроба, возраста культуры, питательной среды, температуры.

При выращивании бактерий в жидкой питательной среде наблюдается несколько фаз роста культур:

1. Фаза исходная (латентная) — микробы адаптируются к питательной среде, увеличивается размер клеток. К концу этой фазы начинается размножение бактерий.
2. Фаза логарифмического инкубационного роста — идет интенсивное деление клеток. Длится эта фаза около 5 часов. При оптимальных условиях бактериальная клетка может делиться каждые 15—30 мин.
3. Стационарная фаза — число вновь появившихся бактерий равно числу отмерших. Продолжительность этой фазы выражается в часах и колеблется в зависимости от вида микроорганизмов.
4. Фаза отмирания — характеризуется гибелью клеток в условиях истощения питательной среды и накопления в ней продуктов метаболизма микроорганизмов.

5ч 10 15 20 25 30 35 40 45 Время нед нед

Если питательная среда, в которой культивируются микроорганизмы, будет обновляться, то можно поддерживать фазу логарифмического роста.

При размножении на плотных питательных средах бактерии образуют на поверхности среды и внутри нее типичные для каждого микробного вида колонии. Колонии могут быть выпуклыми или плоскими, с ровными или неровными краями, с шероховатой или гладкой поверхностью и иметь различную окраску: от белой до черной. Все эти особенности (культуральные свойства) учитывают при идентификации бактерий, а также при отборе колоний для получения чистых культур. Чтобы знать, как получить чистую культуру того или иного микроорганизма, надо внимательно ознакомиться с практической частью данной главы.

§ 5. Пигментообразование у бактерий

Образование пигментов происходит при хорошем доступе кислорода и определенном составе питательной среды. По химическому составу и свойствам пигменты неоднородны и

подразделяются на:

- растворимые в воде (пиоцианины синегнойной палочки);
- растворимые в спирте;
- нерастворимые в воде;
- нерастворимые в воде и спирте.

Бактерии могут образовывать пигменты разного цвета:

красный — *Serratia marcescens*; кремовый — *Staphilococcus aureus*; желтый — *Scifreus*; синий — синегнойная палочка и т. д.

Пигменты бактерий защищают их от природной ультрафиолетовой радиации, участвуют в процессах дыхания, реакциях синтеза, обладают антибиотическим действием.

Фотогенные бактерии, т. е. бактерии, способные светиться, — это своеобразная форма освобождения энергии при окислительных процессах. Чем сильнее приток кислорода, тем сильнее свечение бактерий.

Свелящиеся бактерии называют «фотобактериями». К ним относится большая группа физиологически сходных, но морфологически различных бактерий (кокки, палочки, вибрионы). Они являются не образующими спор вибрионами. Большая часть видов светящихся бактерий выделена из морской воды; они не вызывают гниения, культивируются в обычных средах. Из некоторых бактерий были получены экстракты, испускающие свет в темном помещении, из некоторых экстрактов был выделен люциферин и фермент люцифераза.

Типичный представитель фотогенных микробов *Photobacterium phosphoreum* — неподвижная кокковидная бактерия, развивающаяся при температуре 28 °С.

Патогенных для человека видов в группе фотогенных бактерий не установлено.

Аромат-образующие микробы — микроорганизмы, которые обладают способностью выделять летучие вещества, вырабатываемые ими в процессе жизнедеятельности. Они образуют уксусно-этиловый и уксусно-амиловый эфиры.

Ароматические свойства вин, молочных продуктов, почвы, сена и других веществ зависят от деятельности некоторых видов микроорганизмов. Ароматичность молочным продуктам, особенно маслу, придает такая бактерия, как *Teiso-nostos cremoris*.

С помощью микробов путем сбраживания навоза, растительных остатков и бытовых отходов получают метан, который используется во многих странах для отопления помещений.

Промышленные предприятия уже начали выпуск микробного белка, используемого для корма животных и птиц. С помощью микробов можно получить витамины, ферменты (амилазу, лактозу, пенициллиназу, протеазы.)

Патогенные представители вырабатывают ядовитые для человека и животных вещества — токсины, которые делятся на 2 группы:

1. Экзотоксин — белки, которые клетка выделяет во внешнюю среду, обладает выраженными иммуногенными и антигенными свойствами. Часто они состоят из двух фрагментов — А и В. В-фрагмент способствует адгезии, инвазии. А — обладает выраженной активностью по отношению к внутренним системам клетки.

2. Эндотоксин — тесно связан с телом микробной клетки, так как локализуется в липополисахаридном слое клеточной стенки. Действие эндотоксинов на организм не отличается специфичностью. Эндоксины освобождаются при разрушении микробной клетки. Подробнее о свойствах токсинов можно узнать из главы «Учение об инфекции».

§ 6. Питательные среды и микробиологическое исследование

Микробиологическое исследование — это выделение чистых культур микроорганизмов, культивирование и изучение их свойств. Чистыми называются культуры, состоящие из микроорганизмов одного вида. Они нужны при диагностике инфекционных болезней, для определения видовой и типовой принадлежности микробов, в исследовательской работе, для получения продуктов жизнедеятельности микробов (токсинов, антибиотиков, вакцин и т. п.). Для культивирования микроорганизмов (выращивание в искусственных условиях *in vitro*) необходимы особые субстраты — питательные среды. На средах микроорганизмы осуществляют все жизненные процессы (питаются, дышат, размножаются и т. д.), поэтому их еще называют «средами для культивирования».

Питательные среды

Питательные среды являются основой микробиологической работы, и их качество нередко определяет результаты всего исследования. Среда должна создавать оптимальные (наилучшие) условия для жизнедеятельности микробов.

Требования, предъявляемые к средам

Среды должны соответствовать следующим условиям:

1) быть питательными, т. е. содержать в легко усвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей. Ими являются источники органических и минеральных (неорганических) веществ, включая микроэлементы. Минеральные вещества не только входят в структуру клетки и активизируют ферменты, но и определяют физико-химические свойства сред (осмотическое давление, pH и др.). При культивировании ряда микроорганизмов в среду вносят факторы роста — витамины, некоторые аминокислоты, которые клетка не может синтезировать;

Внимание! Микроорганизмы, как все живые существа, нуждаются в большом количестве воды.

2) иметь оптимальную концентрацию водородных ионов — pH, так как только при оптимальной реакции среды, влияющей на проницаемость оболочки, микроорганизмы могут усваивать питательные вещества.

Для большинства патогенных бактерий оптимальна слабощелочная среда (pH 7,2—7,4). Исключения составляют холерный вибрион — его оптимум находится в щелочной зоне (pH 8,5—9,0) и возбудитель туберкулеза, нуждающийся в слабокислой реакции (pH 6,2—6,8).

Чтобы во время роста микроорганизмов кислые или щелочные продукты их жизнедеятельности не изменили pH, среды должны обладать буферностью, т. е. содержать вещества, нейтрализующие продукты обмена;

3) быть изотоничными для микробной клетки, т. е. осмотическое давление в среде должно быть таким же, как внутри клетки. Для большинства микроорганизмов оптимальна среда, соответствующая 0,5% раствору натрия хлорида;

4) быть стерильными, так как посторонние микробы препятствуют росту изучаемого микроба, определению его свойств и изменяют свойства среды (состав, pH и др.);

5) плотные среды должны быть влажными и иметь оптимальную для микроорганизмов консистенцию;

6) обладать определенным окислительно-восстановительным потенциалом, т. е. соотношением веществ, отдающих и принимающих электроны, выражаемым индексом RH_2 . Этот потенциал показывает насыщение среды кислородом. Для одних микроорганизмов нужен высокий потенциал, для других — низкий. Например, анаэробы размножаются при RH_2 не выше 5, а аэробы — при RH_2 не ниже 10. Окислительно-восстановительный потенциал большинства сред удовлетворяет требованиям к нему аэробов и факультативных анаэробов;

7) быть по возможности унифицированными, т. е. содержать постоянные количества отдельных ингредиентов. Так, среды для культивирования большинства патогенных бактерий должны содержать 0,8—1,2 гл аминного азота NH_2 , т. е. суммарного азота аминокислот и низших полипептидов; 2,5—3,0 гл общего азота N; 0,5% хлоридов в пересчете на натрия хлорид; 1% пептона.

Желательно, чтобы среды были прозрачными — удобнее следить за ростом культур, легче заметить загрязнение среды посторонними микроорганизмами.

Классификация сред

Потребность в питательных веществах и свойствах среды у разных видов микроорганизмов неодинакова. Это исключает возможность создания универсальной среды. Кроме того, на выбор той или иной среды влияют цели исследования.

В настоящее время предложено огромное количество сред, в основу классификации которых положены следующие признаки.

1. Исходные компоненты. По исходным компонентам различают натуральные и синтетические среды. Натуральные среды готовят из продуктов животного и растительного

происхождения. В настоящее время разработаны среды, в которых ценные пищевые продукты (мясо и др.) заменены непищевыми: костной и рыбной мукой, кормовыми дрожжами, сгустками крови и др. Несмотря на то, что состав питательных сред из натуральных продуктов очень сложен и меняется в зависимости от исходного сырья, эти среды нашли широкое применение.

Синтетические среды готовят из определенных химически чистых органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных концентрациях и растворенных в дважды дистиллированной воде. Важное преимущество этих сред в том, что состав их постоянен (известно, сколько и какие вещества в них входят), поэтому эти среды легко воспроизводимы.

2. Консистенция (степень плотности). Среда бывает жидкие, плотные и полужидкие. Плотные и полужидкие среды готовят из жидких веществ, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин.

Агар-агар — полисахарид, получаемый из определенных сортов морских водорослей. Он не является для микроорганизмов питательным веществом и служит только для уплотнения среды. В воде агар плавится при 80—100°C, застывает при 40—45°C.

Желатин — белок животного происхождения. При 25—30°C желатиновые среды плавятся, поэтому культуры на них обычно выращивают при комнатной температуре. Плотность этих сред при рН ниже 6,0 и выше 7,0 уменьшается, и они плохо застывают. Некоторые микроорганизмы используют желатин как питательное вещество — при их росте среда разжижается.

Кроме того, в качестве плотных сред применяют свернутую сыворотку крови, свернутые яйца, картофель, среды с селикагелем.

3. Состав. Среда делят на простые и сложные. К первым относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду. Сложные среды готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма.

4. Назначение: а) основные (общеупотребительные) среды служат для культивирования большинства патогенных микробов. Это вышеупомянутые МП А, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода; б) специальные среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах. Например, для культивирования стрептококка к средам прибавляют сахар, для пневмо- и менингококков — сыворотку крови, для возбудителя коклюша — кровь; в) селективные (избирательные) среды служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Так, соли желчных кислот, подавляя рост кишечной палочки, делают среду селективной для возбудителя брюшного тифа. Среда становится селективной при добавлении к ней определенных антибиотиков, солей, изменении рН.

Жидкие селективные среды называют средами накопления. Примером такой среды служит пептонная вода с рН 8,0. При таком рН на ней активно размножается холерный вибрион, а другие микроорганизмы не растут; г) дифференциально-диагностические среды позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности, например среды Гисса с углеводами и индикатором. При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды; д) консервирующие среды предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание патогенных микроорганизмов и подавляется развитие сапрофитов. Пример такой среды — глицериновая смесь, используемая для сбора испражнений при исследованиях, проводимых с целью обнаружения ряда кишечных бактерий.

§ 7. Практическая часть

Приготовление сред

Посуда для приготовления сред не должна содержать посторонних веществ, например щелочей, выделяемых некоторыми сортами стекла, или окислов железа, которые могут

попасть в среду при варке ее в ржавых кастрюлях. Лучше всего пользоваться стеклянной, эмалированной или алюминиевой посудой. Большие количества среды (десятки и сотни литров) готовят в специальных варочных котлах или реакторах. Перед употреблением посуду необходимо тщательно вымыть, прополоскать и высушить. Новую стеклянную посуду предварительно кипятят 30 мин в 1—2% растворе хлороводородной кислоты или погружают в этот раствор на ночь, после чего в течение часа прополаскивают в проточной воде. (Посудой, предназначенной для приготовления сред, нельзя пользоваться в других целях, например для хранения химических реактивов или дезинфицирующих растворов — даже следы этих веществ могут помешать росту микроорганизмов.)

Исходным сырьем для приготовления большинства сред служат продукты животного или растительного происхождения: мясо и его заменители, молоко, яйца, картофель, соя, кукуруза, дрожжи и др.

Основные питательные бульоны готовят на мясной воде или на различных переварах, полученных при кислотном или ферментативном гидролизе исходного сырья. Бульоны из переваров в 5—10 раз экономичнее, чем из мясной воды. Среды на переварах богаче аминокислотами, следовательно, питательнее; обладают большей буферностью, т. е. имеют более стабильную величину pH. Кроме того, препараты можно готовить из заменителей мяса (сгустков крови, плаценты, казеина и т. д.).

В настоящее время снабжение лабораторий мясной водой и переварами централизовано. Чаще пользуются панкреатическим переваром Хоттингера, гидролизатами казеина или кормовых дрожжей. Из этих полуфабрикатов, по определенным рецептам, готовят необходимые среды.

Этапы приготовления сред: 1) варка; 2) установление оптимальной величины pH; 3) осветление; 4) фильтрация; 5) разлив; 6) стерилизация; 7) контроль.

Варят среды на открытом огне, водяной бане, в автоклаве или варочных котлах, подогреваемых паром.

Установление pH сред ориентировочно производят с помощью индикаторных бумажек. Для точного определения pH используют потенциометр.

Разливают среды в пробирки (по 3—5 мл или по 10 мл), флаконы, колбы, матрицы и бутылки не более чем на 2/3 емкости, так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность.

Среды, которые стерилизуют при температуре выше 100°C, разливают в чистую сухую посуду. Среды, стерилизуемые при более низкой температуре, обязательно разливают в стерильную посуду.

Разливают среды с помощью воронки, на конец которой* надета резиновая трубка с зажимом Мора. Для мерного разлива применяют мензурки, бюретки, дозаторы, шприцы-пипетки и т. п.

Посуду со средой обычно закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх которых надевают бумажные колпачки. Важно, чтобы при разливе среда не смачивала края посуды, иначе к ним могут прилипнуть пробки. К каждому сосуду обязательно прикрепляют этикетку с названием среды и той ее приготовления.

Стерилизация. Режим стерилизации зависит от состава среды и указан в ее рецепте. Примерная схема режима стерилизации сред приведена в таблице.

Режим стерилизации сред

Режим стерилизации |Ц

Аппарат

Температура, давление

Простые

Автоклав

120°C (1 атм)

20 мин

Сложные: 1) с углеводами, молоком, желатином

Автоклавируемые с закрытой крышкой или аппарат Коха

100°C (текущий пар)

30— 60 мин 3 дня подряд (дробная стерилизация)

2) белковые (сывороточные или яичные) с уплотнением

Свертыватель Коха (возможны два режима)

80-85°C

1 ч 3 дня подряд

1 ч однократно |

3) белковые, жидкие

Водяная баня или инактиватор

1 ч 3 — 4 дня подряд Ш

Контроль готовых сред: а) для контроля стерильности среды ставят в термостат на 2 сут., после чего их просматривают. Если на средах не появятся признаки роста, их считают стерильными и передают для химического контроля по несколько образцов каждой серии; б) химический контроль: окончательно устанавливают рН, содержание общего и аминного азота, пептона, хлоридов (или количество должно соответствовать указанному в рецепте).

Химический контроль сред производят в химической лаборатории; в) для биологического контроля несколько образцов среды засевают специально подобранными культурами микроорганизмов, и по их росту судят о питательных (ростовых) свойствах среды. К готовой среде прилагают этикетку и паспорт, в котором указывают название и состав среды, результаты контроля и др.

Хранят среды при комнатной температуре в шкафах, желательнее специально для них предназначенных. Некоторые среды, например, среды с кровью и витаминами, хранят в холодильнике.

Рецепты приготовления простых (основных) сред и изотонического раствора натрия хлорида
Изотонический раствор натрия хлорида. К 1 л дистиллированной воды добавляют 9 г натрия хлорида. Раствор фильтруют, устанавливают заданный рН и, если нужно, стерилизуют при 120°C в течение 30 мин.

Мясопептонный бульон (МПБ). К мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% х. ч. натрия хлорида, кипятят на слабом огне 10—15 мин для растворения веществ, устанавливают нужный рН и снова кипятят 30—40 мин до выпадения осадка. Фильтруют, доливают до первоначального объема водой и стерилизуют 20 мин при 120°C.

Бульон Хоттингера. Перевар Хоттингера разводят водой 5—6 раз в зависимости от того, какое количество аминного азота он содержит и какое его количество должно быть в бульоне (указано в паспорте переvara и рецепте среды). Например, для приготовления среды с 1,2 гл аминного азота переvar, содержащий 9,0 гл, надо развести в 7,5 раз (9,0: 1,2). К разведенному переvarу прибавляют 0,5% натрия хлорида и кипятят на слабом огне до растворения соли. В остывшей среде устанавливают рН, фильтруют, разливают и стерилизуют 20 мин при 120°C.

Мясопептонный агар (МПА). К готовому бульону (до стерилизации или после нее) добавляют 2—3% измельченного агар-агара и кипятят, помешивая, на слабом огне до полного расплавления агара. МПА можно варить в автоклаве или аппарате Коха. Готовую среду, если нужно, осветляют, фильтруют и стерилизуют 20 мин при 120°C. Полужидкий агар содержит 0,4—0,5% агар-агара.

Питательный желатин. К готовому бульону прибавляют 10—15% желатина, подогревают до его расплавления (не кипятят!), разливают в стерильную посуду и стерилизуют текучим паром.

Рецепты приготовления сложных сред
Среды с углеводами. К основному бульону или расплавленному агару прибавляют нужное количество (0,1—2%) определенного углевода (например, глюкозы). После его растворения разливают в стерильную посуду и стерилизуют текучим паром. Поскольку углеводы частично разрушаются даже при таком режиме стерилизации, предпочтительнее 25—30% раствор углеводов, простерилизованный через бактериальный фильтр, добавлять в нужном объеме с соблюдением асептики к стерильным основным средам. После контроля стерильности среда готова к употреблению.

Среды с кровью готовят из стерильных простых сред, добавляя в асептических условиях (лучше в боксе) от 3 до 30% (обычно 5%) стерильной дефибринированной крови. Агаровые

среды перед этим растапливают и остужают до 45 °С. При нужной температуре должно быть терпимое ощущение горячего, но не ожога. После добавления крови, пока среда не застыла, содержимое сосуда тщательно перемешивают* и разливают в чашки или пробирки.

Внимание! Среды с кровью растапливать нельзя — кровь изменит свои свойства. Среды с сывороткой крови готовят так же, как среды кровью. К основным средам добавляют 10—20% сыворотки, не содержащей консерванта и предварительно инактивированной при 56°С в течение 30 мин на водяной бане или: инактиваторе. При инаktivации разрушается вещество (комплемент), губительно действующее на микробы.

Среды с желчью. К простым средам добавляют желчь в количестве 10—40% объема среды, устанавливают нужный pH и стерилизуют 20 мин при 120°С. Можно стерильную желчь добавить к стерильной среде в асептических условиях.

Разлив агаровых сред в чашки Петри. Среды перед разливом расплавляют на водяной бане и остужают до 45—50°С. Обычно для чашки диаметром 9 см достаточно 15—20 мл среды (высота слоя 0,25—0,3 см). Если слой выше, на нем менее контрастно выглядят колонии. При очень тонком слое резко ограничено количество питательных веществ и влаги (среда быстро высыхает) — ухудшаются условия культивирования.

Разливают среды в стерильные чашки в асептических условиях. Чашки ставят крышкой вверх. Сосуд со средой берут в правую руку, держа его у огня.левой рукой вынимают пробку, зажав ее мизинцем и ладонью. Обжигают горлышко сосуда и двумя пальцами левой руки слегка приоткрывают крышку. Вводят под нее горлышко флакона, не прикасаясь им к краю чашки. Наливая среду, следят, чтобы она равномерно распределилась по дну чашки. Если при разливе на поверхности среды образуются пузырьки воздуха, к ним до того, как среда застынет, подносят пламя спички или горелки — пузырьки лопнут. Затем чашку закрывают и дают среде застыть. Если посев производят в день разлива, среду необходимо подсушить. Для этого чашки в термостате осторожно открывают и устанавливают крышки и чашки открытой стороной вниз на 20—30 мин. Если посев производят на следующий день после разлива, чашки, не подсушивая, завертывают в ту же бумагу, в которой их стерилизовали, и помещают в холодильник.

Приготовление скошенного агара. Пробирки с 4—5 мл стерильной расплавленной агаровой среды укладывают в наклонном положении (примерно под углом 20°) с таким расчетом, чтобы среда не заходила за 23 пробирки, иначе она может смочить пробку. После того как среда застынет, пробирки ставят вертикально — дают стечь конденсату. Лучше употреблять свежескошенный агар.

Внимание! Пользоваться средой, в которой нет конденсата, нельзя. Ее следует снова растопить на водяной бане и скосить.

Сухие среды

Отечественная промышленность выпускает сухие среды разного назначения: простые, элективные, дифференциально-диагностические, специальные. Это порошки во флаконах с завинчивающимися крышками. Хранят сухие среды в темном месте плотно закрытыми — они гигроскопичны. В лаборатории из порошков готовят среды по прописи на этикетке.

Преимущество сухих сред по сравнению со средами, изготовленными в лаборатории, — стандартность (их выпускают большими партиями), простота приготовления, делающая их доступными в любых (даже походных) условиях, стабильность, экономичность. Важно, что их можно готовить из заменителей мяса: гидролизата казеина, фибрина кильки и даже белковых фракций микробных клеток (сакцин).

Методы посева

Важным этапом бактериологического исследования является посев. В зависимости от цели исследования, характера посевного материала и среды используют разные методы посева. Все они включают обязательную цель: оградить посев от посторонних микробов. Поэтому работать следует быстро, но без резких движений, усиливающих колебания* воздуха. Во время посева нельзя разговаривать. Посев лучше делать в боксе (при работе с заразным материалом необходимо выполнять правила личной безопасности).

Этапы выделения чистой культуры:

1-й день — получение изолированных колоний. Кашп исследуемого материала петлей,

пипеткой или стеклянной палочкой наносят на поверхность агара в чашке Петри. Шпателем втирают материал в поверхность среды; не прожиг и не перевертывая шпателя, производят посев на 2-й, а тем на 3-й чашке. При таком посеве на 1-ю чашку приходится много материала и соответственно много микробов, на 2-ю меньше и на 3-ю еще меньше.

Можно получить изолированные колонии при посеве петлей. Для этого исследуемый материал эмульгируют в бульоне или изотоническом растворе натрия хлорида.

2-й день — изучают рост микробов на чашках. В 1-й чашке обычно бывает сплошной рост — выделить изолированную колонию не удастся. На поверхности агара во 2-й и 3-й чашке вырастают изолированные колонии. Их изучают невооруженным глазом, с помощью лупы, при малом увеличении микроскопа и иногда в стереоскопическом микроскопе. Нужную колонию отмечают со стороны дна чашки и пересевают на скошенный агар. Посевы ставят в термостат. (Пересевать можно только изолированные колонии.)

3-й день — изучают характер роста на скошенном агаре. Делают мазок, окрашивают его и, убедившись в том, что культура чистая, приступают к ее изучению. На этом выделение чистой культуры заканчивается. Выделенная из определенного источника и изученная культура называется «штаммом».

При выделении чистой культуры из крови (гемокультуры) ее предварительно «подращивают» в жидкой среде: 10—15 мл стерильно взятой крови засевают в 100—150 мл жидкой среды. Так поступают потому, что в крови обычно мало микробов. Соотношение засеваемой крови и питательной среды 1 : 10 не случайно — так достигается разведение крови (неразведенная кровь губительно действует на микроорганизмы). Колбы с посевом ставят в термостат. Через сутки (иногда через большее время, в зависимости от выделяемой культуры) из содержимого колб делают высевы на чашки для получения изолированных колоний. При необходимости повторяют высевы с интервалом в 2—3 дня.

При выделении чистой культуры из мочи, промывных вод желудка и других жидкостей их предварительно центрифугируют в асептических условиях и засевают осадок. Дальнейшее выделение чистой культуры производят обычным способом.

Для выделения чистой культуры широко применяют элективные среды. В ряде методов для получения чистых культур используют биологические особенности выделяемого микроба. Например, при выделении спорообразующих бактерий посевы 10 мин прогревают при 80°C, убивая этим вегетативные формы. При выделении возбудителя туберкулеза, устойчивого к кислотам и щелочам, с помощью этих веществ посевной материал освобождают от сопутствующей флоры. Для выделения пневмококка и палочки чумы исследуемый материал вводят белым мышам — в их организме высокочувствительном к данным возбудителям, эти микробы размножаются быстрее других.

В научно-исследовательской работе, особенно при генетических исследованиях, необходимо получать культуры заведомо из одной клетки. Такая культура называется «клон». Для ее получения чаще всего пользуются микроманипулятором — прибором, снабженным инструментами (иглами, пипетками) микроскопических размеров. С помощью держателя под контролем микроскопа их вводят в препарат «Всячая капля», извлекают нужную клетку (одну) и переносят ее в питательную среду.

Изучение выделенных культур

Изучение морфологии, подвижности, типичных свойств, характера роста на средах (культуральные свойства); ферментативной активности и ряда других особенностей выделенного микроба позволяет установить его таксономическое положение, т. е. классифицировать микроорганизм: определить его род, вид, тип, подтип, разновидность. Это называется «идентификацией». Идентификация микроорганизмов очень важна при диагностике инфекций, установлена источников и путей ее передачи и в ряде других научных исследований.

Культуральные свойства

Различные виды микроорганизмов по-разному растут на средах. Эти различия служат для их дифференциации. Одни хорошо растут на простых средах, другие — требовательны и растут только на специальных. Микроорганизмы могут давать обильный (пышный) рост, умеренный или скудный. Культуры могут быть бесцветными, сероватыми, серо-гемолитическими.

Культуры микроорганизмов, образующих пигмент, имеют разнообразную окраску: белую, желтую или золотистую у стафилококка, красную — у чудесной палочки, сине-зеленую — у сине-зеленой палочки, пигмент которой, растворимый в воде, окрашивает не только колонии, но и среду.

На плотных средах микроорганизмы в зависимости от количества посевного материала образуют или сплошной налет («газон»), или изолированные колонии. Культуры бывают грубые и нежные, прозрачные и непрозрачные, с поверхностью матовой, блестящей, гладкой, шероховатой, сухой, бугристой.

Колонии могут быть крупные (4—5 мм в диаметре и больше), средние (2—4 мм), мелкие (1—2 мм) и карликовые (меньше 1 мм). Они различаются по форме, расположению на поверхности среды (выпуклые, плоские, куполообразные, вдавленные, круглые, розеткообразные), форме краев (ровные, волнистые, изрезанные).

В жидких средах микроорганизмы могут образовывать равномерную муть, давать осадок (зернистый, пылевидный, хлопьевидный) или пленку (нежную, грубую, морщинистую).

На полужидких средах при посеве уколом подвижные микробы вызывают помутнение толщи среды, неподвижные — растут только по «уколу», оставляя остальную среду прозрачной.

Культуральные свойства определяют изучая характер роста культуры простым глазом, с помощью лупы, под малым увеличением микроскопа или пользуясь стереоскопическим микроскопом. Величину и форму колоний, форму краев и прозрачность изучают в проходящем свете, рассматривая чашки со стороны дна. В отраженном свете (со стороны крышки) определяют характер поверхности, окраску. Консистенцию определяют прикосновением петли.

Морфологические свойства

Изучение морфологии микробов тоже служит для их дифференциации. Морфологию изучают в окрашенных препаратах. Устанавливают форму и величину клеток, их расположение в препарате, наличие спор, капсул, жгутиков. В окрашенных препаратах определяют отношение микробов к краскам (тинкториальные свойства) — хорошо или плохо воспринимают краски, как относятся к дифференциальным окраскам (в какой цвет окрашивается по Граму, Цилю—Нильсену и др.).

Глава 3 Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы

Жизнь микроорганизмов находится в тесной зависимости от условий окружающей среды. Как на растения, макроорганизмы, так и на микромир существенное влияние оказывают различные факторы внешней среды. Их можно разделить на три группы: химические, физические и биологические.

§ 1. Физические факторы

Из физических факторов наибольшее влияние на микроорганизмы оказывают: температура, высушивание, лучистая энергия, ультразвук, давление.

Температура: жизнедеятельность каждого микроорганизма ограничена определенными температурными границами. Эту температурную зависимость обычно выражают тремя точками: минимальная (min) температура — ниже которой размножение прекращается, оптимальная (opt) температура — наилучшая температура для роста и развития микроорганизмов и максимальная (max) температура — температура, при которой рост клеток или замедляется, или прекращается совсем. Впервые в истории науки Пастером были разработаны методы уничтожения микроорганизмов при воздействии на них высоких температур.

Оптимальная температура обычно приравнивается к температуре окружающей среды.

Все микроорганизмы по отношению к температуре условно можно разделить на 3 группы:

Первая группа: психрофилы — это холодолюбивые микроорганизмы, растут при низких температурах: min t — 0°C, opt t — от 10—20°C, max t — до 40°C. К таким микроорганизмам относятся обитатели северных морей и водоемов. К действию низких температур многие микроорганизмы очень устойчивы. Например, холерный вибрион долго может храниться во льду, не утратив при этом своей жизнеспособности. Некоторые микроорганизмы выдерживают температуру до -190°C, а споры бактерий могут выдерживать до -250°C.

Действие низких температур приостанавливает гнилостные и бродильные процессы, поэтому в быту мы пользуемся холодильниками. При низких температурах микроорганизмы впадают в состояние анабиоза, при котором замедляются все процессы жизнедеятельности, протекающие в клетке.

Ко второй группе относятся мезофилы — это наиболее обширная группа бактерий, в которую входят сапрофиты и почти все патогенные микроорганизмы, так как опт температура для них 37°C (температура тела), $\min t = 10^{\circ}\text{C}$, $\max t = 45^{\circ}\text{C}$.

К третьей группе относятся термофилы — теплолюбивые бактерии, развиваются при t выше 55°C , $\min t$ для них = 30°C , $\max t = 70\text{—}76^{\circ}\text{C}$. Эти микроорганизмы обитают в горячих источниках. Среди термофилов встречается много споровых форм. Споры бактерий гораздо устойчивей к высоким температурам, чем вегетативные формы бактерий. Например, споры бацилл сибирской язвы выдерживают кипячение в течение 10—20 с. Все микроорганизмы, включая и споровые, погибают при температуре $165\text{—}170^{\circ}\text{C}$ в течение часа. Действие высоких температур на микроорганизмы положено в основу стерилизации.

Высушивание. Для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов нужна вода. Высушивание приводит к обезвоживанию цитоплазмы, нарушается целостность цитоплазматической мембраны, что ведет к гибели клетки. Некоторые микроорганизмы под влиянием высушивания погибают уже через несколько минут: это менингококки, гонококки. Более устойчивыми к высушиванию являются возбудители туберкулеза, которые могут сохранять свою жизнеспособность до 9 месяцев, а также капсульные формы бактерий. Особенно устойчивыми к высушиванию являются споры. Например, споры плесневых грибов могут сохранять способность к прорастанию в течение 20 лет, а споры сибирской язвы могут сохраняться в почве до 100 лет.

Для хранения микроорганизмов и изготовления лекарственных препаратов из бактерий применяется метод лио-фильной сушки. Сущность метода состоит в том, что микроорганизмы сначала замораживают при -273°C , а потом высушивают в условиях вакуума. При этом микробные клетки переходят в состояние анабиоза и сохраняют свои биологические свойства в течение нескольких лет. Таким способом, например, изготавливают биопрепарат «колибактерин», содержащий штаммы *E. coli*.

Лучистая энергия. В природе бактериальные клетки постоянно подвергаются воздействию солнечной радиации. Прямые солнечные лучи губительно действуют на микроорганизмы. Это относится к ультрафиолетовому спектру солнечного света (УФ-лучи), они инактивируют ферменты клетки и разрушают ДНК. Патогенные бактерии более чувствительны к действию УФ-лучей, чем сапрофиты. Поэтому в бактериологической лаборатории микроорганизмы выращивают и хранят в темноте.

Опыт Бухнера показывает, насколько УФ-лучи губительно действуют на клетки: чашку Петри с плотной средой засевают сплошным газоном. Часть посева накрывают бумагой, и ставят чашку Петри на солнце, а затем через некоторое время ее ставят в термостат. Прорастают только те микроорганизмы, которые находились под бумагой. Поэтому значение солнечного света для оздоровления окружающей среды очень велико.

Бактерицидное действие УФ-лучей используют для стерилизации закрытых помещений: операционных, родильных отделений, перевязочных, в детских садах и т. д. Для этого используются бактерицидные лампы ультрафиолетового излучения с длиной волны 200—400 нм.

На микроорганизмы оказывают влияние и другие виды лучистой энергии — это рентгеновское излучение, α -, β - и γ -лучи оказывают губительное действие на микроорганизмы только в больших дозах. Эти лучи разрушают ядерную структуру клетки. В последние годы радиационным методом стерилизуют изделия для одноразового использования — шприцы, шовный материал, чашки Петри.

Малые дозы излучений, наоборот, могут стимулировать рост микроорганизмов.

Ультразвук вызывает поражение клетки. Под действием ультразвука внутри клетки возникает очень высокое давление. Это приводит к разрыву клеточной стенки и гибели клетки. Ультразвук используют для стерилизации продуктов: молока, фруктовых соков.

Высокое давление. К атмосферному давлению бактерии, а особенно споры, очень устойчивы.

В природе встречаются бактерии, которые живут в морях и океанах на глубине 1000— 10 000 м под давлением от 100 до 900 атм. Сочетанное действие повышенных температур и повышенного давления используется в паровых стерилизаторах для стерилизации паром под давлением.

§ 2. Химические факторы

Влияние химических веществ на микроорганизмы различно. Оно зависит от химического соединения, его концентрации, продолжительности воздействия.

В малых концентрациях химическое вещество может являться питанием для бактерий, а в больших — оказывать на них губительное действие. Например, соль NaCl в малых количествах добавляют в питательные среды. Так же существуют галофильные микроорганизмы, которые предпочитают соленую среду. В больших концентрациях NaCl задерживает размножение микроорганизмов. Для примера можно привести консервирование в быту: при недостаточном количестве соли баллоны с овощами могут «взрываться».

Многие химические вещества используются в медицине в качестве дезинфицирующих средств. К ним относятся фенолы, соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи. К наиболее распространенным дезрастворам относят хлоросодержащие соединения: хлорная известь, хлорамин Б, дихлор-1, сульфохлорантин, хлорцин и др. Активность дезинфицирующих веществ не одинакова и зависит от времени экспозиции, концентрации, температуры. В качестве контрольных микроорганизмов для изучения действия дезрастворов используют *S. typhi* и *S. aureus*. Для дезинфекции могут использоваться кислоты: 40% раствор уксусной кислоты для обеззараживания обуви. Виды дезинфекций: профилактическая — для предупреждения и распространения инфекций; текущая — при возникновении эпидемического очага и заключительная — после окончания эпидемической вспышки, (см. схему «Характеристика показаний для дезинфекции»)

Некоторые химические вещества используются в качестве антисептиков. Антисептики — это противомикробные вещества, которые используются для обработки биологических поверхностей. Антисептика — это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение микробов в ране или организме в целом, на предупреждение и ликвидацию воспалительного процесса. К антисептикам относятся:

препараты йода (спиртовой раствор йода, йодинол, йодоформ, раствор Люголя);

* соединения тяжелых металлов (соли ртути, серебра, цинка);

* химические вещества нитрофуранового ряда (фуразо-лидон, фурациллин); окислители (перекись водорода, калия перманганат);

* кислоты и их соли (салициловая, борная);

* красители (метиленовый синий, бриллиантовый зеленый).

Характеристика показаний для дезинфекции

Виды дезинфекции

Профилактическая

При возможности или угрозе распространения инфекционных болезней при невыявленном источнике инфекции

-- Места скопления людей:

Вокзалы

Гостиницы

Общежития

Общественные туалеты

Парикмахерские

Детские дошкольные учреждения

Бассейны

—^- Лечебные учреждения:

Родильные дома Операционные блоки и др.

Предприятия по изготовлению пищевых продуктов — Водопроводные станции и сооружения

" Исполнители:

персонал учреждений работники дезинфекционных учреждений

" Время проведения:

периодически

Очаговая

- При наличии источника возбудителя инфекции (больного или бактериовыделителя) дома, в стационаре к Исполнители:

мед. персонал больницы члены семьи больного больные и бактериовыделители

- Время проведения:

постоянно Заключительная

После удаления источника из очага госпитализация больного смерть больного выздоровление перепрофилирование инфекционного отделения

Исполнители:

мед. персонал отделений члены семьи больного работники дез. службы

Время проведения:

немедленно трибольничных инфекций примелекс мероприятий, направленных организмов. В медицинской практике антибиотики используются для лечения многих инфекционных заболеваний. Антагонизм может развиваться в форме конкуренции за источники питания. Если один микроорганизм использует другой организм как источник питания, то такой вид антагонизма называется паразитизмом. Примером паразитизма является отношение вирус — хозяин, бактериофаг — бактерии.

§ 4. Уничтожение микроорганизмов в окружающей среде

Для уничтожения микроорганизмов в окружающей среде применяются стерилизация и дезинфекция.

Стерилизация — это полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор. Существуют физические, химические и механические способы стерилизации.

К наиболее распространенным способам физической стерилизации относятся автоклавирование и сухожаровая стерилизация.

Автоклавирование — это обработка паром под давлением, которая проводится в специальных приборах — автоклавах. Автоклав представляет собой металлический цилиндр с прочными стенками, состоящий из двух камер: парообразующей и стерилизующей. В автоклаве создается повышенное давление, что приводит к увеличению температуры кипения воды. Паром под давлением стерилизуют питательные среды, патологический материал, инструментарий, белье и т.д.

Наиболее распространенный режим работы автоклава — 2 атм., 120°C, 15—20 мин. Началом стерилизации считают момент закипания воды.

К работе с автоклавом допускаются подготовленные специалисты, которые точно и строго выполняют все правила работы с этим прибором.

Сухожаровая стерилизация — проводится в печах Пас-тера. Это шкаф с двойными стенками, изготовленный из металла и асбеста, нагреваемый с помощью электричества и снабженный термометром. Сухим жаром стерилизуют, в основном, лабораторную посуду. Обеззараживание материала в нем происходит при 160°C в течение 1 часа.

В бактериологических лабораториях используется такой вид стерилизации, как прокалывание над огнем. Этот способ применяют для обеззараживания бактериологических петель, шпателей, пипеток. Для прокалывания над огнем используют спиртовки или газовые горелки.

К физическим способам стерилизации относятся также УФ-лучи и рентгеновское излучение. Такую стерилизацию проводят в тех случаях, когда стерилизуемые предметы не выдерживают высокой температуры.

Механическая стерилизация — проводится при помощи фильтров (керамических, стеклянных, асбестовых) и особенно мембранных ультрафильтров из коллоидных растворов нитроцеллюлозы. Такая стерилизация позволяет освобождать жидкости (биопрепараты, сыворотку крови, лекарства) от бактерий, грибов, простейших и вирусов, в зависимости от размеров пор фильтра. Для ускорения фильтрации создают повышенное давление в емкости с фильтруемой жидкостью или пониженное давление в емкости с фильтратом.

В микробиологической практике часто используют асбестовые фильтры Зейтца, Шамберлана. Такие фильтры рассчитаны на одноразовое применение.

Химическая стерилизация — этот вид стерилизации применяется ограниченно. Чаще всего используют химические вещества для предупреждения бактериального загрязнения питательных сред и иммунобиологических препаратов.

При химической стерилизации возможно использование двух токсичных газов: окиси этилена и формальдегида. Эти вещества в присутствии воды могут инактивировать ферменты, ДНК и РНК, что приводит к гибели бактериальных клеток. Стерилизация газами осуществляется в присутствии пара при 50—80°C в специальных камерах. Этот вид стерилизации опасен для окружающих, однако существуют объекты, которые могут быть повреждены при нагревании и по-

3* 67 этому их можно стерилизовать только газом. Например, оптические приборы, некоторые питательные среды.

Для проведения стерилизации тех или иных объектов необходимо строго соблюдать установленный режим стерилизации (например, для питательных сред он указан в рецепте приготовления).

При проведении стерилизации в автоклаве необходимо осуществлять контроль стерилизации.

Существует 3 вида контроля:

* химический — в автоклав при каждой загрузке кладут бензойную кислоту, мочевины, запаянные в ампулы, или индикаторы стерилизации ТВИ — 120°C — 1 атм, ТВИ - 132°C - 2 атм.

При достижении заданного режима стерилизации указанные вещества меняют свой цвет, а термовременные индикаторы темнеют; термический — 2 раза в месяц максимальным термометром во время стерилизации проводят замер температуры в контрольных точках, которая должна достичь заданных параметров;

* биологический — проводится 2 раза в год. В контрольных точках помещают пробирки со споровой культурой *Bacillus stearothermophilus*, погибающей при 120°C в течение 15 мин. После стерилизации пробирки помещают в термостат при $t = 55^\circ\text{C}$ на 48 часов. При достижении заданного режима рост тесткультуры отсутствует: фиолетовый цвет среды в пробирках не меняется.

Для сохранения стерильности стерилизуемые предметы должны иметь упаковку, не допускающую микробного загрязнения.

§ 5. Бактериофаги

Бактериофаги — это вирусы, обладающие способностью проникать в бактериальные клетки, репродуцироваться в них и вызывать их лизис.

Фаги широко распространены в природе — в воде, почве, сточных водах, в кишечнике животных, человека, птиц, в раковых опухолях растений. Фаг был выделен из молока, овощей. Источником фагов патогенных микробов являются больные люди и животные, бактерионосители, реконвалесценты. Выделяются с содержимым кишечника, мочой, его обнаруживали в мокроте, слюне, гное, носовом секрете. Особенно большое количество фагов выделяется в период выздоровления.

Фаг получают путем добавления в котлы с бульонными культурами специального производственного фага, который выдерживают сутки при 37°C, затем фильтруют. Проверяют на чистоту, стерильность, безвредность и активность (силу действия).

Структура и морфология фагов: большинство фагов состоит из головки, воротничка и хвостового отростка, заканчивающегося базальной пластинкой, к которой прикреплены фибриллы.

Содержание головки — это ДНК (иногда РНК). Хвостовой отросток имеет цилиндрический стержень, окруженный сократительным чехлом. В оболочку фаговой частицы и отросток входит белок, состоящий из полиаминов: спермин, путресцин, кислоторастворимый пептид.

Фаги более устойчивы во внешней среде, чем бактерии. Выдерживают давление до 6000 атм., устойчивы к действию радиации. До 13 лет не теряют своих литических свойств, находясь в запаянных ампулах.

Некоторые вещества, например, хлороформ и ферментативные яды (цианид, фторид), не оказывают влияния на фаги, но вызывают гибель бактерий.

Однако фаги быстро погибают при кипячении, действии кислот, УФ-лучей.

Фаги обладают строгой специфичностью, т. е. способны паразитировать только в определенном виде микроорганизмов: стрептококках, стафилококках и т. д. Фаги с более строгой специфичностью, которые паразитируют только на определенных представителях данного вида, называются типовыми. Фаги, которые лизируют микроорганизмы близких видов, например, видов, входящих в род возбудителей дизентерии (шигелл), называются поливалентными.

По механизму взаимодействия с клетками фаги подразделяются на вирулентные и умеренные.

Феномен бактериофагии, вызываемый вирулентными фагами, проходит в 5 фаз:

- 1) адсорбция — с помощью нитей хвостового отростка;
- 2) проникновение в клетку;
- 3) репродукция белка и нуклеиновой кислоты внутри клетки;
- 4) сборка и формирование зрелых фагов;
- 5) лизис клетки, выход фага из нее.

Умеренные фаги не лизируют все клетки, а с некоторыми вступают в симбиоз. Клетка выживает. Умеренный фаг превращается в профаг, который не обладает литическим действием.

Лизогенезация бактерий сопровождается изменением их морфологических, культуральных, ферментативных, антигенных и биологических свойств. Так, например, нетокси-генные штаммы коринебактерий дифтерии в результате лизогенезации превращаются в токсигенные. Практическое использование фагов: * назначают с профилактической и лечебной целью при дизентерии, брюшном тифе, паратифах, холере, чуме, стафилококковой инфекции; в диагностике инфекционных заболеваний; метод фаготипирования дает возможность устанавливать вид бактерий и тем самым выявлять источники инфекции.

§ 6. Генетика бактерий

Генетика (от греч. *genos* — рождение) — это наука, изучающая наследственность и изменчивость. Микроорганизмы обладают способностью изменять свои основные признаки: морфологические (строение); культуральные (рост на питательных средах); биохимические или ферментативные признаки (добавление определенных веществ в питательную среду может вызвать активацию фермента, который до этого находится в латентном состоянии); биологические свойства — может меняться степень патогенности, на этом основаны способы приготовления живых вакцин.

Например, при 12—14-дневном культивировании возбудителя сибирской язвы при t° — 42—43 $^{\circ}$ C микробы потеряли способность вызывать заболевание у животных, но сохранили свои иммуногенные свойства.

БЦЖ (бацилла Кальмета-Герена) снизила болезнетворность бычьего вида микобактерий туберкулеза путем длительных пассажей на картофельной среде с желчью и глицерином при t° 38 $^{\circ}$ C. Пересевы через каждые 14 дней получили ослабленный штамм микобактерий туберкулеза, который назван «вакциной» БЦЖ, используемой для профилактики туберкулеза.

Наследственность — это способность организмов сохранять определенные признаки на протяжении многих поколений.

Изменчивость — это приобретение признаков под влиянием различных факторов, отличающих их от предыдущих поколений.

Генетическая информация в клетках бактерий заключена в ДНК (у некоторых вирусов РНК). Молекула ДНК состоит из двух нитей, каждая из которых спирально закручена относительно другой. При делении клетки спираль удваивается. И вновь образуется двунитчатая молекула ДНК. В состав молекулы ДНК входят 4 азотистых основания — аденин, гуанин, цитозин, тимин. Порядок расположения в цепи у разных организмов определяет их наследственную информацию, закодированную в ДНК.

Формы проявления изменчивости

Ненаследственная, фенотипическая изменчивость, или модификация, микроорганизмов возникает как ответ клетки на неблагоприятные условия ее существования. Эта адаптивная реакция на внешние раздражители не сопровождается изменением генотипа и поэтому не передается по наследству. Могут измениться морфология (удлиняется), культуральные свойства (стафилококки без пигмента при недостатке кислорода) биохимические или ферментативные свойства, вырабатываются адаптивные ферменты *E. coli*, фермент лактаза на среде — с лактозой.

2. Наследуемая генетическая изменчивость возникает в результате мутаций и генетических рекомбинаций. Изменчивость микроорганизмов

Фенотипическая изменчивость (ненаследуемая модификация)

Генотипическая изменчивость наследуемая

Мутации (от лат. *mutatio* — изменять) — это передаваемые по наследству структурные изменения генов. При мутациях изменяются участки геномов (т. е. наследственного аппарата).

Бактериальные мутации могут быть спонтанными (самопроизвольными) и индуцированными (направленными), т. е. появляются в результате обработки микроорганизмов специальными мутагенами (хим. веществами, температурой, излучением и т.д.).

В результате бактериальных мутаций могут отмечаться:

* изменение морфологических свойств; изменение культуральных свойств; возникновение у микроорганизмов устойчивости к лекарственным препаратам;

* ослабление болезнетворных свойств и др.

К генетическим рекомбинациям относятся рекомбинации генов, которые происходят вследствие трансформации, от донора трансдукции и конъюгации.

Трансформация — передача генетического материала реципиенту при помощи изолированной ДНК другой клетки. Клетки, способные воспринимать ДНК другой клетки, называются компетентными.

Состояние компетентности часто совпадает с логарифмической фазой роста. Для трансформации необходимо создавать особые условия, например, добавляя неорганические фосфаты, повышается частота трансформации.

Трансдукция — это перенос наследственного материала от бактерии-донора к бактерии-реципиенту, который осуществляет фаг. Например, с помощью фага можно воспроизвести трансдукцию жгутиков, ферментативные свойства, ре-зистентность к антибиотикам, токсигенность и другие признаки.

Конъюгация бактерий — передача генетического материала от одной клетки другой путем непосредственного контакта. Причем происходит односторонний перенос генетического материала — от донора реципиенту. Необходимым условием для конъюгации является наличие у донора специфического фактора плодovitости F. У грамотрицательных бактерий обнаружены половые F-волоски, через них происходит перенос генетического материала. Клетки, играющие роль донора, обозначают F+, а реципиенты — F.

F-фактор находится в цитоплазме клеток, причем он не один. При конъюгации происходит перенос только ДНК без РНК и белка.

Практическое значение изменчивости: с помощью генетических методов получены специальные культуры дрожжей и других микробов, используемые в технологии изготовления пищевых продуктов, производстве анатоксинов, вакцин, антибиотиков, витаминов;

* большое научное и практическое значение имеет генная инженерия, методы которой позволяют изменять структуру генов и включать в хромосому бактерий гены других организмов, ответственных за синтез важных и нужных веществ, которые получить химическим путем очень трудно, — инсулин, интерферон и др.;

* при использовании мутагенных факторов (УФ-лучей, рентгеновские лучи, у-лучи, диэтилсульфат и др.) были получены мутанты — продуценты антибиотиков, которые в 100—1000 раз активнее исходных.

§ 7. Практическая часть

Подготовка к стерилизации лабораторной посуды

1. Перед стерилизацией лабораторную посуду тщательно моют и сушат.
2. Пробирки, флаконы, бутылки, матрацы, колбы закрывают ватно-марлевыми пробками. Поверх пробки на каждый сосуд (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок.
3. Чашки Петри стерилизуют завернутыми в бумагу по 1—5 штук или в пеналах.
4. Пастеровские пипетки по 3—5—10—15 штук заворачивают в плотную оберточную бумагу. В верхнюю часть каждой пипетки вкладывают кусочек ваты. Во время работы пипетки из пакета вынимают за верхний конец.

Лабораторную посуду стерилизуют:

- а) сухим жаром при температуре 150, 160 и 180°C соответственно 2 часа, 1 час и 30 минут.
- б) в автоклаве при давлении 1 атм. в течение 20—30 минут.

Стерилизация металлических инструментов

Ножницы, скальпели, пинцеты и пр. стерилизуют в 2% содовом растворе (сода предупреждает появление ржавчины и потерю остроты). Лезвия скальпелей и ножниц перед погружением в воду рекомендуется обертывать ватой.

Стерилизация перчаток и других резиновых изделий

Перчатки, шланги, трубки и другие, загрязненные вегетативной формой микробов, стерилизуют кипячением в 2% растворе соды или текучим паром 30 минут; при загрязнении спороносной патогенной микрофлорой — в автоклаве при давлении 1 атм. в течение 30 минут.

Приготовление дезрастворов группы хлора

1. Хлорная известь обладает высоким бактериальным действием. Ее используют в микробиологической практике в виде порошка, 10—20% хлорно-известкового молока и 0,2—10% осветленного раствора.

2. Схема приготовления хлорно-известкового молока.

Концентрация хлорно-известкового молока (в %)

Количество хлорной извести в граммах на 10 л воды при содержании в ней активного хлора (в %)

В таблице показана взаимосвязь между содержанием активного хлора в хлорной извести и ее количеством, необходимым для приготовления 10 л хлорно-известкового молока 10—20% концентрации.

3. Хлорамин — содержит 25—26,5% активного хлора.

В микробиологических лабораториях пользуются 0,2—10% растворами хлорамина.

Концентрация раствора (в%)

Количество хлорамина в 1 г на:

Приготовление маточного раствора хлорной извести

1. Взять емкость (стеклянные бутылки темного стекла с притертой пробкой, эмалированная или стеклянная посуда) и поместить в нее 1 кг сухой хлорной извести, после чего, продолжая помешивать, добавить постепенно небольшое количество воды до получения кашицеобразной массы. И затем, перемешивая, добавить воду до объема 10 литров, т. е. для приготовления 10% р-ра хлорной извести необходимо взять: 1 кг сухой хлорной извести + 9 литров воды = 10 литрам раствора.

2. Свежеприготовленные растворы оставляют на 24 часа в прохладном темном помещении в закрытой посуде. Через 24 часа осторожно, не взбалтывая осадка, сливают осветленный раствор в другую емкость (стеклянные емкости темного цвета, эмалированная или пластмассовая посуда) для хранения до 10 дней.

3. При приготовлении маточного раствора на емкости (на этикетке, которая крепится на ней) указывается дата приготовления, концентрация раствора, должность, фамилия лица, приготовившего раствор.

Внимание! Использование оцинкованной посуды запрещено. Дезрастворы группы фенола

1. Карболовая кислота. Жидкая карболовая кислота содержит 90% кристаллического фенола и 10% воды. В микробиологических лабораториях используют 3—5 % растворы карболовой кислоты.

Схема приготовления растворов карболовой кислоты

2. Хромовая смесь. Пропись приготовления:

В колбу наливают 150 мл концентрированной серной кислоты, туда же всыпают 25 г двуххромовокислого калия. Полученную смесь оставляют стоять до растворения. Через сутки раствор темно-оранжевого цвета может быть применен для мытья посуды. Перед употреблением смесь надо подогреть до 45—50°C. Если цвет смеси меняется на темно-зеленый, это говорит о ее непригодности.

Выделение бактериофага из патологического материала

Исследуемую жидкость фильтруют от микробов.

Твердый исследуемый материал (почва, пищевые продукты, оформленные испражнения) измельчают в ступке, эмульгируют, фильтруют. Наличие фага в полученном фильтрате определяют в жидких питательных средах или на плотных средах по методу Отто или Грациа.

Обнаружение бактериофага на плотных питательных средах по методу Отто

1,5% МПА разливают в чашки Петри (более высокая концентрация агара угнетает развитие колоний бактериофага). После застудневания МПА засевают 16—18-часовой бульонной культурой бактерий, гомологичных искомому фагу. Для получения сплошного роста посев растирают шпателем. Спустя 5—10 мин после посева на подсушенную поверхность каплями наносят исследуемый фильтрат. Чашки ставят в термостат на 18—24 часа при температуре 37°C.

Нет результатов: доказательством наличия бактериофага служит полное отсутствие роста культуры в месте попадания капли фильтрата (активный бактериофаг) или появление в этом месте мелких стерильных пятен-колоний бактериофага (бактериофаг слабой активности).

Техника фаготипирования микробов по методу Креджи и Иенсена

В основу фаготипирования положен принцип совместного выращивания типизируемой культуры с типовым бактериофагом. Наступление лизиса определяет типовую принадлежность бактерий. Для фаготипирования бактерий применяют 1,5% МПА с 5% глицерина. Пророщенную бульонную культуру каплями наносят на поверхность питательной среды. Капли не должны растекаться. Они должны впитаться в течение 3—10 мин.

Затем на поверхность каждой капли наносят по 1 капле типового фага с таким расчетом, чтобы часть культуры оставалась свободной от воздействия бактериофага (для контроля роста культуры). Чашки помещают в термостат при температуре 37°C: через 6—8 часов производят учет результатов фаготипирования.

Наличие хорошо выраженного лизиса исследуемой культуры с одним из типовых фагов указывает на принадлежность культуры к данному фаготипу.

Приложение 7.4 (справочное)

СП 1.2.731—99

Средства и методы дезинфекции, используемые при работе с микроорганизмами III—IV групп патогенности

I. Бактерии, не образующие спор

1. Хлорамин Б или ХБ (содержание активного хлора — АХ не менее 26%):

0,5%, 1%, 2%, 3%-е (по препарату) растворы.

2. Хлорная известь (содержание АХ не менее 25%):

сухое вещество;

0,5%, 1%, 2%-е (по препарату) осветленные растворы;

10%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы;

20%-и (по препарату) хлорно-известковое молоко.

3. Известь белильная термостойкая (содержание АХ не менее 25%):

сухое вещество;

0,5%, 1%, 2%-е (по препарату) осветленные растворы;

10%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы.

4. Нейтральный гипохлорит кальция — НГК (содержание АХ не менее 52% для марки А и не менее 24% для марки Б):

сухое вещество;

- 0,15%-й (по АХ) раствор;
0,25%, 0,5%, 1 %-е (по АХ) осветленные растворы;
5%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы.
5. Гипохлорит кальция технический — ГКТ (содержание АХ не менее 35%):
сухое вещество;
1%, 1,5%-е (по препарату) осветленные растворы;
5%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы.
6. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДТС ГК (содержание АХ не менее 47%):
сухое вещество;
0,25 %, 0,5 %, 1 %-е (по препарату) осветленные растворы;
5%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы.
7. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДСГК (содержание АХ не менее 30%):
сухое вещество;
1 %-й (по препарату) осветленный раствор;
5%-е (по препарату) осветленные и неосветленные растворы.
8. Гипохлорит натрия (содержание АХ не менее 14%):
1%-й (по АХ) раствор.
9. Гипохлорит натрия, получаемый методом электролиза поваренной соли на установках, разрешенных к производству и применению 0,125%, 0,25%-е (по АХ) растворы.
10. Анолиты, получаемые на установках, разрешенных к производству и применению: с содержанием 0,03%, 0,05%, 0,06% АХ.
11. Спорокс (содержание АХ не менее 2,5%):
2%, 5%-е (по препарату) растворы.
12. ДП-2 (содержание АХ не менее 40%)
0,1%, 0,2%-е (по препарату) растворы.
13. Дезоксон-1 или дезоксон-4 (содержание надуксусной кислоты — НУ К не менее 5%):
1%, 2%-е (по препарату) растворы.
14. Пергидроль (содержание перекиси водорода 30—35%):
3%-й (по ДВ) раствор перекиси водорода;
3%-й (по ДВ) раствор перекиси водорода с 0,5% моющего средства («Прогресс», «Новость», «Астра», «Лотос»);
6%-й (по ДВ) раствор перекиси водорода.
15. ПВК (содержание перекиси водорода не менее 30%):
0,5%, 0,75%, 2%-е (по перекиси водорода) растворы.
16. Пероксимед (содержание перекиси водорода 30% и ПАВ):
3%-й (по перекиси водорода) раствор.
17. Пероксогидрат фторида калия — ПФК-1 (содержание перекиси водорода не менее 30%):
3%, 6%, 7%, 9%-е (по препарату) растворы.
18. Полисепт (содержание полигексаметиленгуанидина хлорида 25%):
1 %-й (по препарату) раствор.
19. Демос (содержащий комплекс катионных и др. ПАВ):
5%, 10%-е (по препарату) растворы.
20. Велтолен (содержание клатрата мочевины с дидецилди-метиламмоний бромидом 20%):
1 %-й (по препарату) раствор.
21. Фогуцид (содержание полигексаметиленгуанидина фосфата 19-25%):
0,5—1 %-е (по ДВ) растворы.
22. Ника-экстра М (содержание алкилдиметил бензил аммоний хлорида 3,5—4,5%):
0,5%, 2%-е (по препарату) растворы.
23. Лизол А (содержание фенолов 50%):
5%-й (по препарату) раствор.
24. 1-хлор-р-нафтол:
0,5%, 2%-е (по препарату) растворы.
25. Едкий натр:
10%-й (по препарату) раствор.

26. Аламинол (содержит катамин АБ, глиоксаль и др.):
1%-й (по препарату) раствор.
 27. Бианол (содержит глутаровый альдегид, глиоксаль и ка-тамин АБ):
1,5%-й (по препарату) раствор.
 28. Глутарал или Глутарал Н (содержание глутарового альдегида 2%):
готовое к применению средство.
 29. Формалин:
3%, 10%, 20%, 40%-е (по формальдегиду) водные растворы.
 30. Аммиак 25% (по ДВ) водный раствор.
Для нейтрализации формальдегида применяется соотношение 1:1.
 31. Дихлор-1, Белка, Блеск, Блеск-2, Санита, Дезус и др. бытовые чистяще-дезинфицирующие средства: пасты, порошки и др. формы.
 32. Кипячение:
2%-й раствор пищевой соды;
2%-й раствор кальцинированной соды.
 33. Обработка водяным насыщенным паром под давлением (автоклавирование).
 34. Этиловый спирт 70%, 96%-е, смесь Никифорова.
 35. Обработка горячим воздухом — 180°C.
 36. Сжигание.
 37. Прокаливание.
 38. Обработка в дезинфекционных камерах: паровоздушный, пароформалиновый методы.
 39. Аэрозольный метод обеззараживания.
 40. Газовый метод (дезинфекция парами формальдегида).
 41. Ультрафиолетовое облучение.
- II. Микобактерии
1. Хлорамин Б или ХБ (содержание АХ не менее 26%):
5%-й (по препарату) раствор;
0,5% и 1%-е (по АХ) активированные растворы.
 2. Хлорная известь (содержание АХ не менее 25%):
сухое вещество;
2—10%-е (по препарату) растворы;
20%-й (по препарату) хлорно-известковое молоко;
0,25 0,5%-е (по АХ) активированные растворы.
 3. Известь белильная термостойкая (содержание АХ не менее 25%):
сухое вещество;
2—10%-е (по препарату) растворы;
0,25—0,5%-е (по АХ) активированные растворы.
 4. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДТС ГК (содержание АХ не менее 47%):
сухое вещество;
20%-ное хлорно-известковое молоко;
1 %-й (по препарату) раствор.
 5. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДСГК (содержание АХ не менее 30%):
сухое вещество.
 6. Нейтральный гипохлорит кальция — НГК (содержание АХ не менее 52% для марки А и не менее 24% для марки Б):
сухое вещество;
1 %, 5%-и (по АХ) раствор.
 7. Гипохлорит кальция технический — ГКТ (содержание АХ не менее 35%):
сухое вещество;
2%-й (по препарату) раствор.
 8. Гипохлорит натрия, получаемый методом электролиза на установках, разрешенных к производству и применению:
0,25%, 0,5%-е (по АХ) растворы.
 9. Анолиты, получаемые на установках, разрешенных к производству и применению с

содержанием 0,05,0,09% АХ.

10. Спорокс (содержание АХ не менее 2,5%):

10%-и (по препарату) раствор.

11. ДП-2 (содержание АХ не менее 35%):

сухое вещество;

0,5%-и (по препарату) раствор.

12. Дезоксон-1 или Дезоксон-4 (содержание надуксусной кислоты — НУК не менее 5%):

0,25%, 0,5%, 1%-е (по НУК) растворы.

13. Пергидроль (содержание перекиси водорода — ПВ — не менее 30%):

3%-и раствор.

14. Пероксимед (содержание ПВ не менее 30% и моющие компоненты):

3 и 4%-е (по ПВ) растворы.

15. ПВК (содержание ПВ не менее 30%):

2,5%-и (по ПВ) раствор.

16. Лизол марки А (содержание фенолов 50%):

5%-и раствор.

17. 1-хлор-р-нафтол:

0,5%-й (по препарату) раствор.

18. Глутарал или Глутарал Н (содержание глutarового альдегида 2%):

готовое к применению средство.

19. Аламинол (содержит катамин АБ, глиоксаль и др.):

1 %-й (по препарату) раствор.

20. Бианол (содержит глutarовый альдегид, глиоксаль и катамин АБ):

1,5%-и (по препарату) раствор.

21. Кипячение:

2%-й раствор пищевой соды;

2%-й раствор кальцинированной соды.

22. Обработка водяным насыщенным паром.

23. Обработка горячим воздухом — 180°C.

24. Сжигание.

25. Прокаливание.

26. Обработка в дезинфекционных камерах: паровоздушный, пароформалиновый методы.

27. Ультрафиолетовое облучение.

Ш. Бактерии, образующие споры

1. Хлорамин Б или ХБ (содержание АХ не менее 26%):

1—4%-е активированные растворы, содержащие 0,25— 1% АХ.

2. Хлорная известь или белильная термостойкая известь (содержание АХ не менее 25%):

сухое вещество;

20%-и осветленный и неосветленный раствор, содержащий не менее 5% АХ;

4%-й осветленный активированный раствор, содержащий не менее 1 % АХ.

3. Нейтральный гипохлорит кальция — НГК (содержание АХ не менее 52%):

сухое вещество;

15%-й осветленный раствор, содержащий не менее 5% АХ;

2%-й осветленный активированный раствор, содержащий не менее 1 % АХ.

4. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДТС, ГК (содержание АХ не менее 47%):

сухое вещество;

15%-й осветленный раствор, содержащий не менее 5% АХ;

2%-й осветленный активированный раствор, содержащий не менее 1 % АХ.

5. Двухосновная соль гипохлорита кальция — ДСГК (содержание АХ не менее 30%):

сухое вещество;

4%-й активированный раствор, содержащий не менее 1,2% АХ.

6. Едкий натр:

10%-й раствор (70°C).

7. Пергидроль, содержащий 30—35% перекиси водорода (ПВ):

6%-й раствор ПВ с 0,5% моющего средства («Прогресс», «Новость», «Астра», «Лотос»);

3 %-й раствор ПВ с 0,5 % моющего средства при температуре раствора 50°C.

8. ПВК (содержание ПВ не менее 30%):

раствор, содержащий 4% ПВ при температуре 20°C; раствор, содержащий 3% ПВ при температуре 50°C.

9. Пероксимед (содержание ПВ 30% и ПАВ):

3%-й (по ПВ) раствор при температуре 20 и 50°C;

6%-й (по ПВ) раствор.

10. Дезоксон-1 или дезоксон-4 (содержание ПУК не менее раствор, содержащий 1 % надуксусной кислоты (НУ К).

11. Формалин:

20%, 40% -е (по формальдегиду) водные растворы;

0, 2% -и раствор формальдегида с 0,2% мыла или ОП-10 при температуре 60° С.

12. Кипячение.

13. Прокаливание.

14. Сжигание.

15. Сухой горячий воздух.

16. Обработка паром под давлением.

17. Все емкости, в которых проводится обеззараживание, должны быть закрыты крышкой.

18. Обработка в камерах: паровоздушный и пароформали-1 новые методы.

19. Аэрозольный метод обеззараживания.

ВОПРОСЫ для самоконтроля

Какие физические факторы влияют на клетку? Что такое «антисептика» и «асептика»? Какие вы знаете «антисептики»? Что такое «симбиоз», «метабиоз» и «антагонизм»? Что такое «стерилизация»? Назовите физические способы «стерилизации». Где применяется химическая и механическая стерилизация?

Что такое «бактериофаг»? Структура и морфология фагов. Как используются фаги в медицине?

Глава 4 Учение об инфекции

§ 1. Понятие инфекции

Инфекция (позднелат. *infectio* — заражение) — это внедрение и размножение микроорганизмов в макроорганизм с последующим развитием различных форм их взаимодействия — от носительства возбудителей до клинически выраженной болезни.

Инфекционные заболевания распространены во всем мире. Известно около 3 тыс. инфекционных болезней, КОИ которыми может заболеть человек. Возбудителями их являются различные микроорганизмы: бактерии, простейшие, риккетсии, вирусы, актиномицеты (актиномицеты — лучистые грибки, совмещают в себе черты бактерий и простейших грибов), спирохеты. Инфекция — это биологическое явление, которое включает любые формы взаимодействия макроорганизма и патогенных бактерий. В зависимости от локализации микроорганизмов, Л.В. Грома-шевским была предложена классификация инфекционных болезней. В соответствии с этим основным признаком все инфекционные болезни разделены на 4 группы:

1) кишечные инфекции;

2) инфекции дыхательных путей;

3) кровяные инфекции;

4) инфекции наружных покровов.

1. Кишечные инфекции. Для кишечных инфекций характерна локализация возбудителей в кишечнике, которые проникают в организм через рот, чаще с пищей или водой, затем с испражнениями попадают во внешнюю среду. Подъем заболеваемости кишечными инфекциями наблюдается в теплое время года, что обусловлено увеличением численности мух, употреблением человеком большого количества плохо промытых овощей и фруктов.

К кишечным инфекциям относятся: брюшной тиф, холера, дизентерия, сальмонеллез, вирусный гепатит А, пара-тифы, бруцеллез, ботулизм и др. Основными способами борьбы с кишечными инфекциями являются соблюдение личной гигиены, мытье рук, своевременное

выявление и изоляция больных и носителей.

2. Инфекции дыхательных путей, которые передаются воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем. При инфекциях дыхательных путей возбудители локализуются в слизистых оболочках дыхательных путей и отсюда с капельками слизи выделяются при выдохе, кашле, чихании, разговоре и даже плаче и передаются здоровым людям.

В связи с тем, что инфекции дыхательных путей легко передаются от больного человека и носителя здоровому, некоторыми из них переболевает почти все население, а иногда и по несколько раз. Часть болезней выделена в подгруппу детских инфекций (дифтерия, скарлатина, корь, коклюш, эпидемический паротит, ветряная оспа, краснуха), которыми переболевают чаще в детском возрасте. К инфекциям дыхательных путей также относятся: ангина, грипп, парагрипп, менингококковая инфекция, аденовирусные инфекции. При таких инфекциях важно своевременное выявление больных и носителей, а также проведение мероприятий, направленных на разрыв механизма передачи возбудителей: борьба со скученностью, аэрация и кварцевание помещений, ношение масок, дезинфекция и т.д.

3. Кровяные инфекции, или трансмиссивные. К этой группе относятся инфекционные болезни, возбудители которых проникают в ток крови при укусе насекомых или животных. К этим инфекциям относятся: сыпной тиф, геммо-рагические лихорадки, чумы, вирусные гепатиты В и С, вирусные энцефалиты, туляремия. Для профилактики некоторых болезней этой группы применяется вакцинация (гепатит В).

4. Инфекции наружных покровов. Контактный механизм передачи. Заражение наружных покровов происходит при попадании патогенных микробов на кожу или слизистые оболочки здорового человека. При одних инфекциях возбудитель локализуется в месте входных ворот, при других — поражает кожные покровы, проникает в организм и с током крови попадает в различные органы и ткани (сибирская язва, рожа). При инфекциях половых органов возбудители передаются половым путем (гонорея, сифилис). Основными мероприятиями по борьбе с инфекциями наружных покровов являются: изоляция больных, уничтожение больных животных, проведение санитарно-просветительской работы среди населения, соблюдение правил личной гигиены.

Проявления инфекции весьма разнообразны и зависят от свойств микроорганизмов, от состояния макроорганизма, от условий окружающей среды.

Инфекционный процесс может проявиться в форме инфекционной болезни. Если инфекционный процесс не дает видимых клинических проявлений болезни, то говорят о скрытой форме инфекции (бессимптомное течение инфекционного гепатита). Это приводит к состоянию носительства. При заражении большое значение имеет инфицирующая доза (ИД) — эта доза выражает минимальное количество патогенных микроорганизмов, попавших в макроорганизм, при которой начинается заболевание. Например ИД для стафилококка — 10³, ИД для холерного вибриона — 10⁸~¹⁰. ИД снижается при иммунодефицитах человека.

Инфекция, вызванная одним микробом, называется простой инфекцией, двумя или более видами — смешанной. Повторное заражение одним и тем же возбудителем называется реинфекцией.

Инфекции делятся по форме на:

- 1) бактериальную, вирусную, грибковую, протозойную;
- 2) экзогенную, эндогенную;
- 3) местную (очаговую), общую (генерализованную): бактериемия и вирусемия, септицемия, сепсис;
- 4) моноинфекции, смешанные инфекции, реинфекции;
- 5) острую, хроническую, бактерионосительство;
- 6) бессимптомную или с выраженными клиническими проявлениями (манифестную);
- 7) антропонозы, зоонозы.

Инфекционная болезнь характеризуется определенной продолжительностью и клиническими проявлениями. Течение и исход инфекционного процесса обусловлен количеством патогенных микроорганизмов, попавших в макроорганизм, состоянием организма человека, его восприимчивостью к микробу, факторами внешней среды (экологическими), где происходит взаимодействие микроба с хозяином. В развитии инфекционного процесса

можно выделить несколько периодов:

1. Инкубационный период — это время, прошедшее с момента попадания микроорганизма в макроорганизм до появления первых клинических признаков заболевания. Этот период может быть различным по продолжительности и зависит в основном от вида возбудителя. Например, при кишечных инфекциях инкубационный период не длительный — от нескольких часов до нескольких суток. При других инфекциях (грипп, ветряная оспа, коклюш) — от нескольких недель до нескольких месяцев. Но есть и такие инфекции, при которых инкубационный период длится несколько лет: лепра, ВИЧ-инфекция, туберкулез. В этом периоде происходит адгезия клеток и, как правило, возбудители не выявляются. 2. Продромальный период — в этот период идет колонизация возбудителя на чувствительных клетках организма. В этот период появляются первые предшественники заболевания (повышается температура, снижаются аппетит и работоспособность и др.), микроорганизмы образуют ферменты и токсины, которые приводят к местным и генерализованным воздействиям на организм. При таких заболеваниях, как брюшной тиф, оспа, корь, продромальный период очень характерен и тогда уже в этом периоде врач может поставить предварительный диагноз. В этом периоде, как правило, возбудитель не выявляется, кроме коклюша и кори.

3. Период развития заболевания — в этот период идет интенсивное размножение возбудителя, проявление всех его свойств, максимально проявляются клинические проявления, характерные для данного возбудителя (пожелтение кожных покровов при гепатите, появление характерной сыпи при краснухе и т. д.). В этот период формируется защитная реакция макроорганизма в ответ на патогенное действие возбудителя, продолжительность этого периода также бывает различной и зависит от вида возбудителя. Например, туберкулез, бруцеллез текут долго, несколько лет — их называют хроническими инфекциями. При большинстве инфекций этот период является самым заразным. В разгар заболевания больной человек выделяет в окружающую среду очень много микробов. Период клинических проявлений заканчивается выздоровлением или смертью больного. Летальный исход может наступить при таких инфекциях, как менингит, грипп, чума и др. Степень выраженности клинического течения заболевания может быть разной. Болезнь может протекать в тяжелой или легкой форме. А иногда клиническая картина может быть вообще нетипичной для данной инфекции. Такие формы заболевания называют атипичными, или стертыми. Поставить диагноз в таком случае трудно и тогда используются микробиологические методы исследования.

4. Период выздоровления (реконвалесценция) — в этот период погибают возбудители, нарастают иммуноглобулины класса G и A. В этот период может развиваться бактерионосительство: в организме могут сохраняться антигены, которые длительно будут циркулировать по организму. Период выздоровления сопровождается снижением температуры, восстановлением работоспособности, повышением аппетита. В этот период из организма больного выводятся микробы (с мочой, испражнениями, мокротой). Продолжительность периода выделения микробов неодинакова при различных инфекциях. Например, при ветрянке, сибирской язве больные освобождаются от возбудителя при исчезновении клинических проявлений болезни. При других болезнях этот период продолжается 2—3 недели.

Инфекционный процесс не всегда проходит все стадии и может заканчиваться на ранних этапах заболевания. Например, если человек привит от того или иного заболевания, то периода развития заболевания может и не быть. В любом периоде инфекционной болезни, но особенно в период ее разгара, возможны осложнения: специфические и неспецифические.

Специфические — это осложнения, вызванные возбудителем данного заболевания и являющиеся следствием необычной выраженности функционально-морфологических изменений в организме больного (например, увеличение миндалин при стафилококковой ангине или перфорация язв кишечника при брюшном тифе). Неспецифические — это осложнения, вызванные микроорганизмами другого вида, как правило, условно-патогенными, являющимися неспецифическими для данного заболевания (например, развитие гнойного среднего отита у больного корью).

Одним из наиболее опасных для жизни больного осложнений является развитие инфекционно-токсического шока. Важнейшей причиной этого осложнения служит массивное инфицирование организма больного с высвобождением большого количества эндотоксина.

Клинические проявления инфекционно-токсического шока:

- 1) озноб;
- 2) снижение артериального давления;
- 3) частый и нитевидный пульс;
- 4) одышка;
- 5) рвота;
- 6) понос;
- 7) уменьшение количества выделяемой мочи.

Чтобы вызвать заболевание, микроорганизмы должны быть патогенными (болезнетворными). Патогенность микроорганизмов — это генетически обусловленный признак, который передается по наследству. Для того чтобы вызвать инфекционную болезнь, патогенные микробы должны проникать в организм в определенной инфицирующей дозе (ИД). В естественных условиях для возникновения инфекции патогенные микробы должны проникать через определенные ткани и органы организма. Патогенность микробов зависит от многих факторов и подвержена большим колебаниям в различных условиях. Патогенность микроорганизмов может снижаться или, наоборот, увеличиваться. Степень патогенности или болезнетворности микроорганизмов называется «вирулентностью». У патогенных микроорганизмов вирулентность обусловлена:

- 1) адгезией — это способность микроорганизмов прикрепляться к органам и тканям хозяина. За адгезию отвечают пили и другие рецепторы — у стафилококков белок А, у стрептококков белок М. Эти структуры, ответственные за прилипание к клеткам хозяина, называются «адгезинами». При отсутствии адгезинов инфекционный процесс не развивается;
- 2) инвазией — это способность внедряться во внутреннюю среду организма хозяина и распространяться по его органам и тканям. Микроорганизмы способны вырабатывать различные ферменты агрессии, для преодоления защитных барьеров макроорганизма. К ним относятся: нейраминидаза — фермент, который расщепляет биополимеры, которые входят в состав поверхностных рецепторов клеток слизистых оболочек. Это делает оболочки доступными для воздействия на них микроорганизмов; гиалуронидаза — действует на межклеточное и межтканевое пространство. Это способствует проникновению микробов в ткани организма; дезоксирибо-нуклеаза (ДНКаза) — фермент, который деполимеризирует ДНК, и др. Ферменты микроорганизмов могут действовать местно и генерализованно. Большую роль в преодолении межклеточных барьеров играют жгутики бактерий;
- 3) капсулообразованием — это способность микроорганизмов образовывать на поверхности капсулу, которая защищает бактерии от клеток фагоцитов организма хозяина (пневмококки, чума, стрептококки). Если капсул нет, то образуются другие структуры: например, у стафилококка — белок А, с помощью этого белка стафилококк взаимодействует с иммуноглобулинами. Такие комплексы препятствуют фагоцитозу. Или же микроорганизмы вырабатывают определенные ферменты: например, плазмокоагулаза приводит к свертыванию белка, который окружает микроорганизм и защищает его от фагоцитоза;
- 4) токсинообразованием — способность микроорганизмов вырабатывать яды. По своим свойствам токсины делятся на эндотоксины и экзотоксины.

Экзотоксины — это вещества белковой природы, обладают выраженными иммуногенными и антигенными свойствами. Они состоят из двух фрагментов — А и В. В-фрагмент способствует адгезии и инвазии; А-фрагмент обладает выраженной активностью по отношению к внутренним системам клетки.

По типу действия экзотоксины делятся на:

А. Цитотоксины — блокируют синтез белка в клетке (дифтерия, шигеллы);

Б. Мембранотоксины — действуют на мембраны клеток (лейкоцидин стафилококка действует на мембраны клеток фагоцитов или стрептококковый гемолизин действует на мембрану эритроцитов). Наиболее сильные экзотоксины вырабатывают возбудители

столбняка дифтерии, ботулизма. Характерной особенностью экзотоксинов является их способность избирательно поражать определенные органы и ткани организма. Например, экзотоксин столбняка поражает двигательные нейроны спинного мозга, а дифтерийный экзотоксин поражает сердечную мышцу и надпочечники.

Для профилактики и лечения токсинемических инфекций применяются анатоксины (обезвреженные экзотоксины микроорганизмов) и антитоксические сыворотки.

Эндотоксины — тесно связаны с телом микробной клетки и освобождаются при ее разрушении. Эндотоксины не обладают таким выраженным специфическим действием, как экзотоксины, а также менее ядовиты. Не переходят в анатоксины. Эндотоксины являются суперантигенами, они могут активизировать фагоцитоз, аллергические реакции. Эти токсины вызывают общее недомогание организма, их действие не отличается специфичностью. Независимо от того, от какого микроба получен эндотоксин, клиническая картина однотипна: это, как правило, лихорадка и тяжелое общее состояние. Выброс эндотоксинов в организм может привести к развитию инфекцион-но-токсического шока.

§ 2. Методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний

Существует 5 основных методов диагностики:

1) микроскопический — позволяет обнаружить возбудителя непосредственно в материале, взятом от больного. Для этого мазок окрашивают различными способами. Этот метод играет решающую роль при диагностике многих инфекционных заболеваний: туберкулеза, малярии, гонореи и др.;

2) бактериологический — заключается в посеве исследуемого материала на питательные среды. Этот метод позволяет выделить возбудителя в чистом виде и изучить его морфологические признаки, ферментативную активность и идентифицировать его;

3) биологический метод — осуществляют путем выделения возбудителя при заражении лабораторных животных, которые восприимчивы к данному заболеванию. Этот метод дорогостоящий, поэтому применяется ограниченно;

4) серологические методы исследования — основаны на выявлении специфических иммунных антител в сыворотке крови больного. Для этого используют различные иммунологические реакции: реакция Видаля (используется для выявления брюшного тифа);

5) аллергический метод — ставятся кожно-аллергические пробы, введение аллергена накожно или внутрикожно; используются для диагностики туберкулеза, туляремии, лепры и т. д.

§ 3. Основы эпидемического процесса

Эпидемический процесс — это возникновение и распространение инфекций среди населения. Для возникновения и непрерывного течения эпидемического процесса необходимо взаимодействие трех факторов: источника возбудителей инфекции, механизма передачи инфекции и восприимчивого населения. Выключение любого из этих звеньев приводит к прерыванию эпидемического процесса. Биологической основой эпидемического процесса служит паразитарная система, т. е. взаимодействие паразита и хозяина.

Возбудители инфекционных болезней делятся по характеристике источников:

АНТРОПОНОЗЫ

ЗООНОЗЫ

Болезни, регистрируемые только у животных, которыми болеет человек, т.е. болезни, которыми человек заражается от человека, т.е. болезни, которыми человек заражается от человека (лишайки (СПИД, сифилис, грипп, шай, бешенство, сибирская язва), корь и др.).

Под механизмом передачи подразумевают способ перемещения возбудителя инфекционных заболеваний из зараженного организма в восприимчивый. Этот механизм включает смену трех фаз: выведение микроорганизма из организма хозяина в окружающую среду; нахождение возбудителя в окружающей среде и внедрение возбудителя в восприим-

4. Зак. 361 чивый организм. Механизмы передачи подразделяются на: фекально-оральный, аэрогенный (воздушно-капельный), кровяной (трансмиссивный), контактный, вертикальный (от матери плоду через плаценту). По механизму передачи и была предложена Л.В. Громашевским классификация инфекционных болезней (см. выше).

Следующим элементом эпидемического процесса является восприимчивость населения. Если иммунная «прослойка» населения высокая, то можно считать, что достигается состояние эпидемического благополучия и циркуляция возбудителя прекращается. И наоборот, при снижении иммунной прослойки населения увеличиваются те или иные инфекционные заболевания. Так, например, в 90-е гг. в России снизилась иммунная «прослойка» населения к дифтерии, что привело к резкому увеличению дифтерийных больных. Поэтому задачей эпидемиологов является создание в коллективах этой «прослойки» путем проведения массовой вакцинации против соответствующих возбудителей. В последние годы широко применяется противогриппозная вакцинация, что в общем привело к снижению заболеваемости гриппом. Интенсивность эпидемического процесса выражается в показателях заболеваемости и смертности на 10 тыс. или 100 тыс. населения. Эпидемиологи различают три степени интенсивности эпидемического процесса:

Спорадическая заболеваемость — это обычный уровень заболеваемости данной нозологической единицы на одной территории в данный момент времени.

Эпидемия — распространение инфекционных болезней среди населения села, города или области.

Пандемия — распространение инфекционных заболеваний среди населения разных стран и континентов. Например, пандемия чумы в прошлом столетии или распространение ВИЧ-инфекции в XX в.

В соответствии с распространенностью С.В. Прозоровский разделил инфекционные заболевания на: 1) кризисные инфекции — инфекции, угрожающие существованию человеческой популяции (ВИЧ-инфекция);

2) массовые — вызывающие свыше 100 заболеваний на 100 000 населения. Первое место здесь занимают грипп и ОРВИ, на долю которых приходится ежегодно 92,5% всех случаев инфекционной заболеваемости;

3) распространенные управляемые — от 20 до 100 случаев заболевания на 100 тыс. населения. К таким заболеваниям относятся те инфекции, против которых осуществляется вакцинация населения — это дифтерия, столбняк, бруцеллез, коклюш. Хотя, несмотря на наличие профилактических препаратов, нельзя сказать, что все обстоит благополучно. Так, среди привитых против дифтерии заболевание составляет 57%;

4) распространенные неуправляемые — заболеваемость менее 20 случаев на 100 тыс. населения. Это группа инфекций, требующих постоянного внимания в плане научных исследований. Это относится к менингококковой инфекции, лептоспирозам, цитомегаловирусной инфекции и др.;

5) спорадические — единичные случаи заболеваемости на 100 тыс. населения (бешенство, сыпной тиф).

§ 4. Заболевания инфекционной природы.

которые возникают в стационарах, — нозокомиальные (ВБИ)

В инфекционных стационарах соблюдение санитарно-противоэпидемического режима предусматривает распределение больных по нозологическим формам в боксах, текущую и заключительную дезинфекцию, микробиологический контроль.

Этиология: основные возбудители ВБИ — условно-патогенные микробы. Причины:

1) объективные, не зависящие от медицинского персонала;

2) субъективные. 1. Объективные:

а) больницы, отделения, не соответствующие требованиям; б) отсутствие эффективных методов лечения стафилококкового носительства и условий для госпитализации; в) недостаточное число бактериологических лабораторий; г) неоправданно широкое применение антибиотиков; д) множество антибиотикоустойчивых микроорганизмов; е) увеличение лиц со сниженным иммунитетом.

2. Субъективные:

а) недостаточная профилактически направленная деятельность медицинского персонала; б) отсутствие единого эпидемиологического подхода к изучению ВБИ; в) отсутствие должного контроля со стороны работников центров госсанэпиднадзора; г) отсутствие надежной стерилизации некоторых видов аппаратуры; д) увеличение числа контактов между

больными; е) отсутствие полного учета ВБИ; ж) низкое качество стерилизации медицинского инструментария и дезинфекции; з) несовершенная система посещений родственниками.

Эпидемиология:

I. Источники инфекции:

- 1) медицинский персонал, посетители, страдающие инфекционными заболеваниями (грипп, диарея, гнойничковые);
- 2) больные со стертыми формами;
- 3) больные с чистыми ранами, являющиеся носителями вирулентных стафилококковых штаммов;
- 4) грудные дети с пневмонией, отитом, гриппом, выделяющие патогенные штаммы кишечной палочки.

II. Механизмы передачи: воздушно-капельный, фекаль-но-оральный, контактно-бытовой, возможен парентеральный (гепатит В, С, дельта, ВИЧ).

Предрасполагающие факторы:

- 1) ослабление больного;
- 2) длительность пребывания в стационаре (70% ВБИ у больных, лежащих более 20 дней);
- 3) чрезмерное применение АБ, они изменяют биоценоз кишечника, снижают иммунологическую резистентность;
- 4) госпитализация большого количества людей преклонного возраста, хронических больных, которые являются источником внутрибольничных инфекций;
- 5) пребывание в стационаре маленьких детей, особенно до 1 года;
- 6) большая скученность больных в стационаре.

Глава 5 Учение об иммунитете

§ 1. Понятие об иммунитете

Еще в древние времена было замечено, что человек, который перенес инфекционное заболевание, становится к нему невосприимчивым и повторно не болеет. В средние века людей, переболевших чумой, холерой, привлекали к уходу за больными или к захоронению умерших. Впервые английский врач Э. Дженнер использовал искусственное заражение человека для предохранения его от заболевания оспой. Затем Л. Пастер предложил прививки против бешенства и сибирской язвы. Изучение явлений иммунитета позволило создать вакцины, получить лечебные сыворотки и гамма-глобулины.

В процессе эволюции у человека сформировалась специальная система защиты организма от чужеродных веществ и микроорганизмов, вызывающих заболевания. Эта система называется иммунной системой. Она представлена лимфо-идной тканью и выполняет функции специального надзора, т.е. распознает чужеродные вещества, генетически чуждые макроорганизму. Чужеродные агенты, попадающие в наш организм, называются «антигенами». К ним относятся вещества белковой природы; соединения белков липидов и полисахаридов, микробы и их токсины; вирусы и т. д. А невосприимчивость организма к чужеродным веществам (антигенам) называется «иммунитетом» (от лат. Immunitas — освобождение, избавление от чего-либо).

Иммунный надзор играет важную роль в нормальном функционировании организма, предохраняет от различных болезней инфекционной и неинфекционной природы.

Изучением функционирования иммунной системы, а также разработкой средств и методов иммунологической диагностики, профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных болезней занимается иммунология — наука об иммунитете. Иммунология как наука сформировалась лишь в конце XIX в. Основоположниками ее можно считать И.И. Мечникова, Л. Пастера и П. Эрлиха.

Существуют различные классификации видов и форм иммунитета. Наиболее простая классификация:

- 1) естественный иммунитет:
 - а) врожденный иммунитет; б) приобретенный иммунитет; в) пассивный иммунитет новорожденных;
- 2) искусственный иммунитет:
 - а) активный иммунитет; б) пассивный иммунитет.

1. Естественный врожденный иммунитет является наиболее прочной формой невосприимчивости, которая обуславливается врожденными, биологическими особенностями данного вида. Например, человек не болеет чумой рогатого скота или куриной холерой. Животные не болеют заболеваниями человека: дифтерией, сифилисом и др. Эти свойства невосприимчивости к тем или иным заболеваниям передаются потомству по наследству. Поэтому мы говорим о врожденном иммунитете.

Естественный приобретенный иммунитет возникает после того, как человек перенес инфекционную болезнь, поэтому этот иммунитет также называют постинфекционным. Приобретенный иммунитет индивидуален и по наследству не передается. Если человек в детстве переболел эпидемическим паротитом (свинкой), то это не значит, что его дети не будут болеть этим заболеванием. Длительность приобретенного иммунитета различна и зависит от вида возбудителя. Например, после перенесения одних заболеваний в организме человека образуется длительный, пожизненный иммунитет (чума, эпидемический паротит, коклюш, туляремия и др.), а после перенесения других заболеваний остается непродолжительный, кратковременный иммунитет. Такими инфекциями человек может болеть несколько раз (грипп А, гонорея, ангина и др.).

Невосприимчивость к инфекции возникает не только при выраженной форме заболевания, но и при бессимптомных формах течения болезни.

Пассивный иммунитет новорожденных обусловлен передачей особых защитных веществ — антител — из организма матери плоду через плаценту или ребенку через грудное молоко. Продолжительность такого иммунитета невелика, всего несколько месяцев, но его роль для здоровья ребенка очень важна. Уже точно доказано, что дети, находящиеся на грудном вскармливании, болеют гораздо реже, чем те, которые вскармливаются искусственно.

2. Искусственный иммунитет — его создают в организме человека искусственным путем, чтобы предупредить возникновение инфекционной болезни, а также используют для лечения инфекционных болезней. Различают активную и пассивную формы искусственного иммунитета: активный иммунитет создают у человека путем введения вакцин или анатоксинов. Активный иммунитет может быть напряженным и длительным. Пассивный иммунитет создается путем введения в организм человека иммунных сывороток, в которых содержатся иммунные антитела. Пассивный иммунитет сохраняется недолго, около месяца, до тех пор, пока сохраняются антитела в организме. Затем антитела разрушаются и выводятся из организма. В зависимости от локализации иммунитет может быть общим и местным. Местный иммунитет осуществляет защиту кожных покровов и слизистых оболочек, а общий иммунитет обеспечивает иммунную защиту внутренней среды организма человека. Деление иммунитета на различные виды и формы очень условно, так как защиту организма осуществляют одни и те же системы, органы и ткани. Их функция направлена на то, чтобы поддерживать в организме постоянное нормальное состояние. Защитные факторы, которые обуславливают невосприимчивость человека к заболеваниям, могут быть специфическими и неспецифическими.

§ 2. Неспецифические факторы защиты

Неспецифические факторы защиты врожденные и лишены избирательности, так как действуют на любой микроорганизм.

К первичным барьерам неспецифических факторов защиты относятся:

1. Кожа — покрывает все тело и механически защищает организм от проникновения микробов, вирусов и т.д. На коже также имеются потовые и сальные железы, которые вырабатывают молочную и жирные кислоты. Известно, что кислая среда губительно действует на микроорганизмы. Если на поверхность чистой кожи нанести микробы, то через 30 мин они погибнут. Грязная кожа обладает сниженными бактерицидными свойствами, поэтому мытье рук и тела является важным условием сохранения защитной роли кожи.

2. Слизистые оболочки носоглотки, дыхательных путей, кишечника обладают еще более выраженными защитными свойствами, чем кожа. В слезах, слюне обнаружен лизоцим, который растворяет многие сапрофитные микробы, а также некоторые патогенные. Известно, что в слюне у собак лизоцима содержится в 100 раз больше, чем у человека. Поэтому слюна собак является более бактерицидной. Эпителий слизистых путей также

механически препятствует проникновению микроорганизмов, эту роль выполняет слизь и реснитчатый эпителий, освобождающие слизистые оболочки от попавших на них частичек. В желудочно-кишечном тракте защитную роль выполняют соляная кислота желудочного сока, которая убивает микроорганизмы. Еще в древние времена люди знали об этом свойстве, поэтому врач никогда не приходил к больному на «голодный» желудок.

3. Нормальная микрофлора организма человека обладает антагонистическим действием к различным видам микроорганизмов. Она препятствует их размножению и проникновению в организм. Например, кишечная палочка вырабатывает молочную кислоту, которая оказывает губительное действие на бактерии. Если микроорганизмы преодолевают эти барьеры, то в работу вступают вторичные барьеры неспецифических факторов защиты. К ним относятся:

1) гуморальные факторы — система комплемента. Комплемент — это комплекс 26 белков в сыворотке крови. Обозначается каждый белок, как фракция, латинскими буквами: С4, С2, С3 и т. д. В условиях нормы система комплемента находится в неактивном состоянии. При попадании антигенов он активируется, стимулирующим фактором является комплекс антиген — антитело. С активации комплемента начинается любое инфекционное воспаление. Комплекс белков комплемента встраивается в клеточную мембрану микроба, что приводит к лизису клетки. Также компле-мент участвует в анафилактии и фагоцитозе, так как обладает хемотаксической активностью. Таким образом, комплемент является компонентом многих иммунолитических реакций, направленных на освобождение организма от микробов и других чужеродных агентов;

2) клеточные факторы защиты.

Фагоциты. Фагоцитоз (от греч. phagos — пожираю, cytos — клетка) впервые открыл И. И. Мечников, за это открытие в 1908 г. он получил Нобелевскую премию. Механизм фагоцитоза состоит в поглощении, переваривании, инактивации инородных для организма веществ специальными клетками-фагоцитами. К фагоцитам Мечников отнес макрофаги и микрофаги. В настоящее время все фагоциты объединены в единую фагоцитирующую систему. В нее включены: промоноциты — вырабатывает костный мозг; макрофаги — разбросаны по всему организму: в печени они называются «купферовские клетки», в легких — «альвеолярные макрофаги», в костной ткани — «остеобласты» и т. д. Функции клеток-фагоцитов самые разнообразные: они удаляют из организма отмирающие клетки, поглощают и инактивируют микробы, вирусы, грибы; синтезируют биологически активные вещества (лизоцим, комплемент, интерферон); участвуют в регуляции иммунной системы.

Процесс фагоцитоза, т. е. поглощение инородного вещества клетками-фагоцитами, протекает в 4 стадии:

1) активация фагоцита и его приближение к объекту (хемотаксис);

2) стадия адгезии — прилипание фагоцита к объекту;

3) поглощение объекта с образованием фагосомы;

4) образование фаголизосомы и переваривание объекта с помощью ферментов.

Фагоциты — подвижные клетки и могут перемещаться по направлению к объекту. Движение фагоцита к объекту называется хемотаксисом. Как правило, фагоциты «переваривают» захваченные чужеродные агенты, тогда говорят о завершённом фагоцитозе. Но не всегда фагоцитоз заканчивается перевариванием — такой фагоцитоз называется незавершённым. Причины, обуславливающие незавершённый фагоцитоз:

1) некоторые микроорганизмы подавляют слияние фага и лизосомы;

2) некоторые микроорганизмы выделяют вещества, которые нейтрализуют действие рибосомальных ферментов;

3) некоторые микроорганизмы могут выходить из фагосомы;

4) некоторые бактерии имеют устойчивость к лизосомальным ферментам (гонококк, стафилококк, палочки туберкулеза и лепры).

В организме есть вещества — обсаины, которые повышают фагоцитоз. Это нормальные антитела, которые «обволакивают» антигены и способствуют их фиксации на фагоците.

§ 3. Специфические факторы защиты

Специфическая защита организма направлена на уничтожение какого-либо конкретного антигена. Она осуществляется комплексом специальных форм реагирования иммунной

системы. К этим формам относятся: антителообразование, иммунный фагоцитоз, киллерная функция лимфоцитов, аллергические реакции, протекающие в виде гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), иммунологическая память и иммунологическая толерантность.

Основными клетками, которые обеспечивают неспецифическую и специфическую защиту организма от чужеродных веществ, являются фагоцитирующие клетки, Т- и В-лимфоциты, антитела, комплемент, интерфероны, ферменты. Эти все клетки участвуют в иммунных реакциях макроорганизма. В зависимости от природы антигена на каждом из этапов защиты включаются наиболее эффективные формы реагирования и иммунореагенты. Например, для обезвреживания столбнячного и дифтерийного токсинов основную роль играют антитела (антитоксины), для предохранения от живых бактерий — фагоцитоз. Для противодействия клеткам злокачественных опухолей — цито-токсические Т-лимфоциты.

Результатом взаимодействия антигена с организмом человека является формирование специфической невосприимчивости организма (иммунитет), иммунологическая память к данному антигену, толерантность (терпимость) к антигену. Неблагоприятным последствием является приобретение повышенной чувствительности к антигену (аллергия).

Иммунитет — антибактериальный, антивирусный, антитоксический и т. д. — обеспечивает иммунная система в целом.

Как видно из схемы, иммунная система подразделена на центральные и периферические органы. В периферических органах происходит адекватный иммунный ответ на присутствие антигенов. Селезенка — орган, через который фильтруется кровь. Селезенка находится в левой подвздошной области и имеет дольчатое строение. Лимфоидные скопления заселены Т-, В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Лимфоциты распознают генетически чужеродные молекулы и клетки, участвуют в регуляции иммунного ответа, формировании гуморального и клеточного иммунитета.

Компоненты иммунной системы

Органы и ткани иммунной системы

1) центральные: костный мозг; тимус

2) периферические: селезенка; лимфатические узлы; скопление лимфоидной ткани в слизистых

Клетки иммунной системы иммунокомпетентные — обеспечивают специфичность иммунологических реакций;

1) Т- и В-лимфоциты;

2) макрофаги;

3) дендритные клетки

Гуморальные факторы иммунологической активности осуществляют неспецифическую функцию уничтожения:

1) третья популяция лимфоцитов — К-клетки (киллеры) НК (нормальные киллеры)

2) макрофаги;

3) нейтрофилы;

4) эозинофилы

1) иммуноглобулины;

2) цитокины (регулирующие факторы);

3) комплемент

Кровь также относится к периферическим органам иммунитета. В ней находятся Т- и В-лимфоциты, фагоциты, лейкоциты.

1 клетки вещества. Основными клетками лимфы являются лимфоциты.

которые отвечают за синтез иммуноглобулинов всех пяти классов, участвуют в формировании гуморального иммунитета. На долю этих клеток приходится 15% всей лимфоидной популяции. В организме могут жить до 10 и более лет. Лимфатические узлы — мелкие анатомические образования, бобовидной формы, которые располагаются по ходу лимфатических сосудов. Каждый участок тела имеет региональные лимфатические узлы. В организме человека находится около 1000 лимфатических узлов. Через них фильтруется лимфа, задерживаются и концентрируются различные антигены. В пределах узла включается

система специфического иммунного реагирования, направленная на обезвреживание антигена. Лимфа — жидкая ткань, которая находится в лимфатических сосудах и узлах. Так как клетки организма с кровью не соприкасаются, каждая клетка омывается лимфой, в которой содержатся необходимые для

В-лимфоциты — это иммунокомпетентные клетки, ко-

3. Т-супрессоры — ингибируют активность Т-лимфоцитов или В-лимфоцитов, препятствуют чрезмерному развитию иммунных реакций.

л ера определяются молекулы СД8.

| уничтожают клетки. На поверхности мембраны Т-кил-

| 2. Т-цитотоксические (киллеры) — распознают антигены и

| сти мембраны Т-хелпера определяются молекулы СД4.

| верхности антигенпредставляющих клеток. На поверхно-

1 . Т-хелперы — распознают несущую часть антигена на по-

Т-лимфоциты обеспечивают клеточные формы иммунного ответа. Среди Т-лимфоцитов выделяют 3 основные популяции:

В осуществлении иммунной защиты участвуют 3 вида клеток: фагоциты, Т- и В-лимфоциты. Деятельность этих клеток направлена на распознавание и уничтожение чужеродных агентов — антигенов.

Свойства антигенов

Антигены обладают двумя основными свойствами:

1) антигенностью. Это способность вызывать в организме выработку антител.

Антигенность вещества зависит от его чужеродности, от величины и сложности строения молекулы, от его растворимости. Все эти свойства присущи белкам или белковой части антигена;

2) специфичностью — выражается в способности антигенов взаимодействовать только с теми антителами, которые выработались в ответ на введение данного антигена. Специфичность антигена определяется небольшим участком молекулы — детерминантной группой. Количество этих групп может быть разным. Их функции выполняют углеводы, пептиды, липиды, нуклеиновые кислоты. Антигены многих микроорганизмов уже хорошо изучены (у сальмонелл, эшерихий, шигелл). У бактерий различают несколько видов антигенов:

1) групповые. Являются общими для двух или более видов микробов. Например, возбудители брюшного тифа имеют общие групповые антигены с возбудителями паратифов А и В;

2) специфические антигены — имеются только у данного вида микроорганизма. Знание специфических антигенов позволяет дифференцировать микробов внутри рода и вида.

Так, внутри рода сальмонелл по комбинации антигенов дифференцировано более 1500 типов сальмонелл. По локализации антигенов в микробной клетке различают:

1) соматические, О-антигены — связаны с телом микробной клетки. О-антиген высокотоксичен (является эндотоксином грамотрицательных микроорганизмов), термостабилен (не разрушается даже при кипячении). Однако соматический антиген разрушается под действием формалина и спиртов;

2) жгутиковые, Н-антигены — имеют белковую природу и находятся в жгутиках подвижных микроорганизмов. Н-антигены быстро разрушаются при нагревании;

3) капсульные, К-антигены — расположены на поверхности микробной клетки и называются еще поверхностными. Наиболее детально эти антигены изучены у кишечной группы бактерий. У них различают Vi-, М-, В-, L- и А-антигены. При иммунизации человека комплексом Vi-антигена наблюдается высокая степень защиты против брюшного тифа. Наибольшая термостабильность характерна для группы А — они не разрушаются даже при длительном кипячении. Группа В выдерживает нагревание до 60°C около 1 часа, группа L быстро разрушается при такой же температуре.

Антигенными свойствами обладают также бактериальные токсины, ферменты, белки, которые секретируются бактериями в окружающую среду. При взаимодействии со специфическими антителами эти антигены теряют свою активность.

По иммуногенности антигены бывают полноценными и неполноценными.

Полноценные антигены обладают способностью вызывать образование антител в организме и вступают с ними в специфическое взаимодействие. Такие антигены имеют большую молекулярную массу, большой размер молекулы и хорошо взаимодействует с факторами иммунитета. Результат этого взаимодействия можно наблюдать в пробирке. Под влиянием антител микробы могут склеиваться и оседать на дно пробирки, эта реакция называется реакцией агглютинации.

Неполноценные антигены обладают низкой иммуногенностью и не вызывают образования антител в организме, но они становятся полноценными, если соединятся с белками организма.

Существует несколько путей проникновения антигенов в макроорганизм:

Ф через кожные покровы и слизистые оболочки в результате их повреждения (укусы насекомых, ранения, микротравмы и т. д.); путем всасывания в ЖКТ;

* межклеточно (при незавершенном фагоцитозе, при внутриклеточном паразитировании микроорганизм может разноситься по всему организму). Проникнув в организм, микроб разносится по всем органам и тканям с током крови или лимфы. Процесс проникновения антигена и его контакт с иммунной системой протекают поэтапно, постепенно.

§ 4. Антитела и антителообразование

Антитела вырабатываются макроорганизмом при попадании в него чужеродных агентов — антигенов. Антитела относятся к глобулиновой фракции крови, поэтому их еще называют иммуноглобулинами и обозначают символом^Λ. Антитела синтезируются плазматическими клетками. Ig относятся к факторам специфического гуморального иммунитета: инактивируют токсины; в комплексе с комплементом препятствуют проникновению вирусов и лизируют бактерии; активизируют фагоцитоз; участвуют в аллергических реакциях; участвуют в деструкции гельминтов.

В плазме крови содержится около 5 % белков — из них 3% составляют иммуноглобулины. Иммуноглобулины различаются по структуре, антигенному составу и по выполняемым ими функциям. По этим свойствам они разделены на 5 классов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Ig обнаруживаются в сыворотке крови в таких количествах: IgG — 7—20 гл, IgA — 0,7—5 гл; IgM — 0,5—2 гл; IgD и IgE — очень мало.

Химическая природа иммуноглобулинов

Молекулы иммуноглобулинов всех пяти классов имеют универсальное строение. Если молекулу иммуноглобулинов обработать меркаптоэтанолом, то она распадется на две пары полипептидных цепей: две тяжелые и две легкие. На легкой цепи до 200 аминокислотных остатков, а на тяжелой до 400. Каждая из этих цепей закручена в первичную спираль — α-спираль и каждая из цепей имеет вторичную спираль — домены. На каждой из легких цепей локализуется по 2 домена, а на каждой тяжелой цепи — по 4 домена. Легкие и тяжелые цепи соединяются между собой дисульфидными связями, образуя единую молекулу. Легкие и тяжелые цепи состоят из постоянного набора аминокислот, а также в некоторые домены входит переменный набор аминокислот, которые участвуют в образовании активного центра иммуноглобулинов. Ig обладают выраженной специфичностью — переменный домен подходит к антигену, как ключ к замку. Молекула любого иммуноглобулина имеет четвертичную структуру.

1. Иммуноглобулины класса G (IgG) — эти антитела являются наиболее важными в развитии иммунитета, так как на его долю приходится 80% всех сывороточных иммуноглобулинов. В начале заболевания их мало, но по мере развития болезни количество их увеличивается и основная функция борьбы с микробами выпадает на их долю. Иммуноглобулин легко проходит через плацентарный барьер и обеспечивает гуморальный иммунитет новорожденного в первые месяцы жизни.

2. Иммуноглобулины класса M (Ig M) — это самая крупная молекула из всех пяти классов иммуноглобулинов. Ig — пентамер, который построен из 5 молекул. В состав молекул входят 2 легкие цепи и тяжелая цепь. Молекула этого иммуноглобулина в 5 раз больше, чем IgG, поэтому скорость его оседания будет выше. Иммуноглобулины этого класса первыми появляются при развитии плода и последними исчезают в старости.

3. Иммуноглобулины класса А (IgA) — играют важную роль в защите слизистых оболочек дыхательных и пищеварительных трактов, мочеполовой системы. В молекуле IgA те же легкие цепи и своя собственная тяжелая цепь. Существует в модификации — секреторный IgA и сывороточный. Секреторный иммуноглобулин активирует комплемент и стимулирует фагоцитарную активность в слизистых оболочках. Сывороточный иммуноглобулин класса А может быть неполным антителом, не связывает комплемент и не проходит через плацентарный барьер. Молекулярная масса варьирует.

4. Иммуноглобулины класса Е (IgE) — или реагиновые антитела, так как принимают участие в аллергических реакциях по типу реакций немедленного типа, а также участвуют в деструкции гельминтов. Обнаруживаются в сыворотке крови в небольших количествах. Через плацентарный барьер не проходит.

Иммуноглобулины класса Д (IgD) — участие его недостаточно изучено. Содержится в сыворотке крови в очень малых количествах. Известно, что IgD продуцируют клетки миндалин и аденоидов. IgD не связывает комплемент, не проходит через плацентарный барьер. Специфичность иммуноглобулинов проявляется в специфичности иммунного ответа, поэтому в практической медицине используются различные препараты для профилактики и лечения различных заболеваний. Специфичность иммуноглобулинов проявляется в иммунологических реакциях *in vitro* (реакции преципитации и т. д.).

Схема строения молекулы иммуноглобулина (по Г. Литмену и Г. Гуду, 1981 г.)

. активный центр шарнирная область

Fab — фрагмент, связывающий антиген;

Fc - фрагмент, имеющий постоянный аминокислотный со-

VL, VH — домены, составляющие переменные участки легких и тяжелых цепей;

CL, CH, — домены, составляющие константные участки легких и тяжелых цепей;

CH₂, CH₃ — доменов — участок фиксации комплемента (К) и участок фиксации антител к макрофагам (М), тучным клеткам (ТК), лимфоцитам (Л).

§ 5. Реакции иммунитета

Это реакции между антигеном и антителом, которые происходят в живом организме, а также могут быть воспроизведены в лабораторных условиях. Реакции антитела и антигена называются серологическими, или гуморальными. В процессе взаимодействия с антигеном участвует не вся молекула иммуноглобулина, а лишь ее ограниченный участок — антигенсвязывающий центр. Антитело взаимодействует не со всей молекулой антигена сразу, а только с ее антигенной детерминантой. Антитела обладают специфичностью взаимодействия, т. е. связываются со строго определенной антигенной детерминантой.

К особенностям антител относятся их аффинность и авидность.

Аффинность — это сила специфического взаимодействия антитела с антигеном (энергия их связи). Эта характеристика зависит от степени соответствия структуры антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты. Чем больше они подходят друг другу, тем больше образуется межмолекулярных связей и тем выше будет устойчивость образовавшегося иммунного комплекса.

В макроорганизме с одной и той же антигенной детерминантой способно одновременно прореагировать и образовать иммунный комплекс около 100 различных клонов антител. Все они будут отличаться структурой антигенсвязывающего центра и аффинностью.

Авидность — это прочность связывания антигена с антителом. Она определяется аффинностью и числом антиген-связывающих центров. При равной аффинности наибольшей авидностью обладают антитела класса М, так как они не имеют 10 антигенсвязывающих центров.

Эффективность взаимодействия антитела с антигеном зависит от различных условий: рН среды, температуры, осмотической плотности, солевого состава среды и т.д. Наиболее приемлемыми для реакции антиген—антитело являются физиологические условия внутренней среды макроорганизма.

Иммунные реакции используются в практической медицине при диагностических и иммунологических исследованиях у больных и здоровых людей. С этой целью применяются серологические методы исследования (от лат. *Serum* — сыворотка и *logos* — учение) с

помощью реакции антиген-антитело. Обнаружение в сыворотке крови больного антител против того или иного возбудителя или его антигена позволяет поставить диагноз болезни. Серологические исследования применяют также для идентификации антигенов микробов, определения групп крови, тканевых и опухолевых антигенов и т. д.

При выделении микроорганизмов от больного в бактериологических лабораториях проводят идентификацию возбудителей путем изучения их антигенных свойств с помощью иммунных диагностических сывороток, содержащих специфические антитела.

В микробиологической практике широко применяются реакции агглютинации, преципитации, нейтрализации и т. д. Эти реакции различаются по технике постановки, хотя все они основаны на реакции взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов.

Реакция агглютинации (РА)

Эта реакция основана на взаимодействии антител с целыми микробными клетками. Протекает она в две фазы: 1) соединение антигена с антителом; 2) выпадение осадка, в присутствии электролитов, например хлорида Na. Применяются различные варианты постановки этой реакции: развернутая (ставится в пробирках), ориентировочная (на стекле). Характер и скорость агглютинации зависят от вида антигена и антител. Примером являются особенности взаимодействия О- и Н-антигенов со специфическими антителами: реакция с О-диагностикумом (бактерии, убитые нагреванием) происходит в виде мелкозернистой агглютинации; реакция с Н-диагностикумом (бактерии, убитые формалином) крупнохлопчатая и протекает быстрее.

Разные родственные микроорганизмы могут агглютинироваться одной и той же диагностической агглютинирующей сывороткой, что затрудняет их идентификацию. Поэтому используются адсорбированные агглютинирующие сыворотки, из которых удалены перекрестно реагирующие антитела путем адсорбции их родственными бактериями. В таких сыворотках сохраняются антитела, специфичные только к данному виду микроорганизма.

Реакция гемагглютинации (РГА)

Различают прямую и непрямую РГА. При прямой гемагглютинации происходит подавление вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего вирусы теряют свойство агглютинировать эритроциты. Эту реакцию широко используют для диагностики некоторых вирусных инфекций, например гриппа.

При реакции непрямой гемагглютинации (РИГА) происходит склеивание эритроцитов при адсорбции на них определенных антигенов. При этом эритроциты оседают на дно пробирки в виде фестончатого осадка. РИГА применяют для диагностики различных инфекционных заболеваний, для выявления чувствительности к лекарственным препаратам и гормонам. Для определения групп крови применяется реакция агглютинации эритроцитов, при этом используются антите-: ла к группам крови А(II), В(III). Контролем служит сыворотка, не содержащая антител, т. е. АВ(IV) группы крови, антигены, содержащиеся в эритроцитах групп А(II), В(III). О-отрицательный контроль не содержит антигенов, т. е. используют эритроциты группы О(1).

Реакция преципитации

Эта реакция основана на выпадении в осадок комплекса растворимого антигена со специфическими антителами. Этот осадок комплекса антиген—антитело называется «преципитатом». Эту реакцию проводят в пробирках или в полужидком агаре. Если реакцию ставят в пробирке, то растворимый антиген постепенно наслаивают на иммунную сыворотку. При оптимальном соотношении антигена и антитела на границе этих двух растворов образуется непрозрачное кольцо преципитата. При постановке реакции преципитации в полужидком агаре используют стеклянные пластинки, на которые тонким слоем наносится растопленный агаровый гель. После его затвердевания в нем вырезают небольшие лунки, в которые раздельно помещают антигены и иммунные сыворотки, которые, диффундируя в агар, образуют в месте соединения преципитат в виде белой полосы.

Реакция нейтрализации

Эта реакция основана на том, что антитела иммунной сыворотки способны нейтрализовать повреждающее действие микроорганизмов или их токсинов на чувствительные клетки и

ткани, что связано с блокадой микробных антигенов антителами, т. е. их нейтрализацией. В основном эту реакцию используют при вирусных заболеваниях как для определения антител в крови больного, так и для идентификации вирусов. Принцип реакции заключается в том, что исследуемые сыворотки смешивают с вирусосодержащим материалом и выдерживают некоторое время. Затем эту смесь вводят чувствительным лабораторным животным. О результатах этой реакции судят по гибели животных. При отсутствии у животных повреждающего действия микроорганизмов или их антигенов и токсинов говорят о нейтрализующем действии иммунной сыворотки.

§ 6. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней человека

Для профилактики и лечения заболеваний большое значение имеет создание профилактических, диагностических и лечебных препаратов, объединяемых в группу иммунобиологических препаратов.

По современной классификации А. А. Воробьева иммунологические препараты включают:

- * препараты, получаемые из живых или убитых микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов). К ним относятся живые и убитые вакцины, анатоксины, фаги, иммуноглобулины и иммунные сыворотки от иммунизированных животных и человека;
- * иммуномодуляторы для иммунокоррекции, лечения профилактики иммунодефицитов различной этиологии;
- * диагностические препараты для выявления антигенов и антител, для постановки кожных проб при аллергиях и иммунопатологических состояниях.

Вакцины

Вакцинация человечеством было обязано Э. Дженнеру (см. главу 1). Хотя только открытия Л. Пастера, показавшего возможность ослабления вирулентности возбудителей, заложили основы современной иммунопрофилактики; для иммунопрофилактики применяются вакцины нескольких типов.

Убитые вакцины (инактивированные) — получают путем инактивирования микроорганизмов либо нагреванием, либо действием различных химических агентов (например, формалином). В результате инактивирования микроорганизмы теряют свою жизнеспособность, но при этом сохраняют антигенные свойства. Для приготовления вакцин используются самые разные виды микроорганизмов, но наибольшее распространение получили бактериальные (например, коклюшная) и вирусные (например, полиомиелит) вакцины. В качестве антигенов могут использоваться как цельные тела микроорганизмов (вакцина чумы), так и отдельные компоненты возбудителей (например, иммунологически активные фракции вакцины против гепатита В). Если убитые вакцины содержат антиген одного микроорганизма, то такие вакцины называются моновалентными, если антигены двух или нескольких возбудителей — поливакцинами.

Живые вакцины (аттенуированные) — содержат живых микробов, вирулентность которых ослаблена химическими, физическими и биологическими способами. Многие слабовирулентные штаммы получают от больных людей или животных. Живые вакцины имеют большее преимущество перед убитыми, так как они полностью сохраняют антигенный набор возбудителя и обеспечивают более длительное состояние невосприимчивости. Самой известной и длительно применяемой живой бактериальной вакциной является БЦЖ (создана на основе живых микобактерий бычьего типа и предназначена для профилактики туберкулеза). Большую часть живых вакцин, применяемых в практическом здравоохранении, составляют противовирусные вакцины. При введении вакцин в организм у человека вырабатывается иммунитет к тому или иному инфекционному заболеванию. Длительность такого иммунитета различна и зависит от вида возбудителя. Например, при введении вакцины против эпидемического паротита у человека остается очень напряженный иммунитет, такой, как если бы человек переболел этим инфекционным заболеванием. Массовая вакцинация населения во время эпидемических вспышек резко сокращает число заболевших, а также снижает тяжесть течения болезни.

При введении вакцин у человека могут возникать общие и местные реакции. Общая реакция: повышение температуры, головная боль и др. Эти симптомы проходят через 1—3 дня после прививки.

При иммунизации населения очень важно учитывать противопоказания к вакцинации. К ним относятся: лекарственная аллергия, сердечно-сосудистые заболевания, хронические болезни, иммунодефициты, заболевания нервной и дыхательной систем. Перечень противопоказаний изложен в инструкциях, прилагаемых к каждой вакцине.

Прежде чем вакцина будет использована на практике, она должна пройти обязательные доклинические испытания на животных на безвредность, токсичность, аллергенность, иммуногенность. В нашей стране существует система Государственного контроля за качеством иммунобиологических препаратов. Только после оценки по комплексу показателей вакцина решением государственных органов принимается для использования в практике. На каждую ампулу наносятся надписи с указанием названия препарата, его объема, срока годности, номера серии, контрольного номера. В каждую коробку обязательно вкладывается инструкция по применению препарата.

На территории России проводится плановая вакцинация населения, согласно национальному календарю прививок (см. таблицу).

Приказ № 229 от 27.06.2001 г.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ КАЛЕНДАРЬ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРИВИВОК

Возраст

Наименование прививки

Новорожденные (в первые 12 часов жизни)

Первая вакцинация против вирусного гепатита В

Новорожденные (3—7

Вакцинация против туберкулеза

1 месяц

Вторая вакцинация против вирусного гепатита В

3 месяца

Первая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита

4,5 месяца

Вторая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита

6 месяцев

Третья вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита. Третья вакцинация против вирусного гепатита В

12 месяцев

Вакцинация против кори, краснухи, эпидемического паротита

18 месяцев

Первая ревакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита

20 месяцев

Вторая ревакцинация против полиомиелита

Ревакцинация против кори, краснухи, эпидемического паротита

Ревакцинация против туберкулеза. Вторая ревакцинация против дифтерии, столбняка

13 лет

Вакцинация против краснухи (девочки). Вакцинация против вирусного гепатита В (ранее не привитые)

14 лет

Третья ревакцинация против дифтерии, столбняка. Третья ревакцинация против полиомиелита

Взрослые

Ревакцинация против дифтерии, столбняка — каждые 10 лет от момента последней ревакцинации

Примечание:

1. Иммунизация в рамках национального календаря проводится вакцинами отечественного и зарубежного производства, зарегистрированными разрешенными к применению в установленном порядке в соответствии с инструкциями по их применению.

2. Детям, родившимся от матерей-носителей вируса гепатита В или больных вирусным гепатитом В в третьем триместре беременности, вакцинация против вирусного гепатита В

проводится по схеме 0—1—2—12 месяцев.

3. Вакцинация от гепатита В в 13 лет проводится ранее не привитым по схеме 0—1—6 месяцев.

4. Вакцинация против краснухи проводится девочкам в 13 лет, ранее не привитым или получившим только одну прививку.

5. Ревакцинация туберкулеза проводится неинфицированным мико-бактериями туберкулеза туберкулиноотрицательным детям.

6. Ревакцинация против туберкулеза в 14 лет проводится неинфицированным микобактериями туберкулеза туберкулиноотрицательным детям, не получившим прививку в 7 лет.

7. Проводимые в рамках национального календаря профилактических прививок вакцины (кроме БЦЖ) можно вводить одновременно разными шприцами в разные участки тела или с интервалом в 1 месяц.

8. При нарушении срока начала прививок последние проводят по схемам, предусмотренным настоящим календарем и инструкциями по применению препаратов.

Анатоксины

Анатоксины — это обезвреженные экзотоксины микроорганизмов. При действии на микробы 0,4% формальдегида, при 40° С в течение месяца токсины переводятся в анатоксины. Впервые способ приготовления анатоксинов был предложен французским ученым Рамоном. Анатоксины получены из экзотоксинов дифтерийного, столбнячного, дизентерийного, ботулинического и стафилококкового микробов, а также из токсинов яда змей и яда растений. При использовании анатоксинов в организме вырабатывается антитоксический иммунитет.

Анатоксины относятся к наиболее эффективным иммунобиологическим препаратам. Введение анатоксинов в организм создает у человека активный искусственный иммунитет.

Поливалентные вакцины могут содержать как бактериальные компоненты, так и анатоксины. Например, АКДС — адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина, которая содержит убитые коклюшные бактерии и анатоксины столбнячного и дифтерийного микробов. Применение комплексных вакцин упрощает схемы вакцинации при проведении массовой иммунопрофилактики.

Иммунные сыворотки

При необходимости быстрого создания иммунитета или для лечения какой-либо инфекционной болезни используют иммунные сыворотки, которые содержат уже готовые антитела. Иммунные сыворотки получают путем вакцинации животных. Иммунные сыворотки можно также получить от вакцинированных или уже переболевших людей. Различают сыворотки антитоксические, которые получают путем иммунизации животных анатоксинами (сыворотки против дифтерии, столбняка, газовой гангрены и др.), и антимикробные, полученные путем многократной иммуни-

зации бактериями. Сюда относятся сыворотки, содержащие агглютинины, преципитины и другие антитела к возбудителям таких болезней, как брюшной тиф, дизентерия, чума и др.

Противовирусные сыворотки содержат вируснейтрализующие антитела.

При введении человеку иммунных сывороток в организме создается пассивный иммунитет. Продолжительность его невелика, примерно около месяца антитела сохраняются в организме, а затем разрушаются и выводятся. Поэтому такую иммунопрофилактику применяют в случае необходимости немедленного создания иммунитета у людей, контактировавших с больными в инфекционных очагах или при подозрении на возможное инфицирование.

Сывороточные препараты используют также для иммунотерапии инфекционных болезней в сочетании с антибактериальными, противовирусными препаратами.

Диагностические препараты

Это иммунологические препараты, так как действие их основано на иммунологических принципах и реакциях. Диагностические препараты, наборы и системы используют в лабораторной практике для диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, идентификации бактерий, вирусов, грибов и простейших, для определения аллергических и

иммунопатологических расстройств. Также диагностику мы применяем для выявления специфических антигенов и антител, факторов естественной резистентности (комплемент, интерферон).

В соответствии с целевым назначением диагностические препараты содержат те или иные иммунореагенты, которые используют для выявления объекта исследования. На сегодняшний день созданы сотни диагностических систем, с помощью которых выявляют ВИЧ-инфицированных, больных брюшным тифом и гепатитами, а также онкологических и аллергических больных.

Иммунологические методы диагностики высокочувствительны и достоверны, поэтому нашли широкое применение в медицине.

§ 7. Аллергия. Анафилаксия

Иммунитет — это невосприимчивость макроорганизма к веществам инфекционной и неинфекционной природы. Наряду с состоянием невосприимчивости к тем или иным веществам может возникать и повышенная чувствительность нашего организма к любым чужеродным агентам. Измененную реактивность организма К. Пирке назвал аллергией (от греч. *Allos* — другой, *ergon* — действие). Аллергия возникает в результате нарушения общих или местных иммунных реакций организма, чаще при повторном поступлении в организм веществ, называемых «аллергенами».

Анафилактическая реакция — является одной из форм измененной реактивности. Анафилаксия впервые изучена; Ш. Рише и П. Портье. Она может проявляться в виде местной (на коже или слизистых оболочках) или системной (ана-1 филиактический шок) реакции. Местные реакции могут проявляться в виде сыпи, насморка, бронхиальной астмы. Анафилактические реакции у человека вызываются реагиновыми иммуноглобулинами класса E. Каждый вид животных имеет определенные органы, которые поражаются чаще других (шок-органы). У человека это бронхи, хотя местные анафилактические реакции могут протекать в любом органе. В зависимости от того, где образуется и локализуется комплекс аллерген—антитело, происходит развитие определенной аллергической реакции. Если встреча аллергена с антителом произошла в коже, появляется крапивница; в верхних дыхательных путях — аллергический насморк; в слизистой оболочке глаза — конъюнктивит; в слизистой оболочке бронхов — бронхиальная астма.

Некоторые вещества и препараты способны вызвать анафилаксию: яды пчел, ос, змей; пыльца многих растений (амброзия); антибиотики (пенициллин); сыворотки (противодифтерийная, противостолбнячная); вакцины (противогриппозная) и пр.

Первую дозу антигена, вызывающего повышенную чувствительность, называют сенсibilизирующей, вторую, от введения которой развивается анафилаксия, — разрезающей.

У человека анафилактический шок возникает вследствие повторных введений тех или иных антигенов. Анафилактический шок характеризуется расстройством деятельности сердечно-сосудистой системы (падение АД), спазмом гладкой мускулатуры (судороги), снижением температуры тела на 1—4 градуса, болью в суставах и т. д.

Аллергические реакции и анафилаксия — это очень сложные процессы, присущие только высокоорганизованным организмам, обладающим свойством реактивности.

Для профилактики анафилаксии предварительно ставят внутрикожную пробу путем введения в предплечье 0,1 мл сыворотки, разведенной 1 : 100. При отрицательной реакции папула не более 0,9 см в диаметре и краснота вокруг нее ограниченная) через 20—30 минут вводят 0,1—0,5 мл неразведенной сыворотки, а через 30—60 минут — всю дозу. Если внутрикожная проба положительная (диаметр папулы более 1 см и большая зона покраснения), разведенную сыворотку 1 : 100 впрыскивают подкожно в дозах 0,5; 1,2 и 5 мл с интервалами в 20 минут, затем 0,1—0,2 мл неразведенной сыворотки с интервалами в 30 минут. Этот метод десенсibilизации путем дробного введения антигена сыворотки был предложен А. М. Безредка.

В качестве лечебных средств при анафилактическом шоке применяют кордиамин, адреналин, супрастин и другие ан-

5. Зак 361 тигистаминные препараты; при пенициллиновом шоке — ту же антишоковую

терапию и пенициллиназу.

§ 8. Практическая часть

Постановка реакции агглютинации на стекле и в пробирках

Во всех иммунологических реакциях основным компонентом является антиген, который обладает двумя свойствами:

- 1) способностью вызывать иммунологический процесс в организме;
- 2) способностью соединяться с антителами в серологических реакциях.

Реакции взаимодействия антитела с антигеном называются серологическими (от лат. serum — сыворотка). Серологические реакции используют:

- 1) для обнаружения в сыворотке крови антител к тому или иному микробу с помощью известного специфического антигена;
- 2) для установления вида или типа выделенного микроба по его антигенной структуре с помощью диагностической сыворотки, содержащей известные специфические антитела.

Посуда и аппаратура для постановки серологических реакций

Посуда:

- 1) пробирки химические и центрифужные;
- 2) колбы Эрленмейера и плоскодонные;
- 3) пипетки пастеровские объемом 10 и 5 мл с делениями на 0,1 мл;
- 4) градуированные цилиндры.

Посуда должна быть чистой и сухой. Для ее обработки нельзя применять дезинфицирующие средства (карболовая кислота, хлорамин), кислоты и щелочи. Посуду кипятят в простой воде. Стерилизовать серологическую посуду не обязательно.

Аппаратура:

1. Штативы с гнездами.
2. Термостат и водяная баня с терморегуляторами.
3. Центрифуга на 2000—3000 об/мин.
4. Агглютиноскоп.

Реакция агглютинации (РА)

Агглютинацией называется обнаруживаемое невооруженным глазом склеивание и выпадение в осадок микробных тел при взаимодействии их со специфическими антителами.

РА получила большое распространение в микробиологической практике для диагноза:

- 1) брюшного тифа;
- 2) паратифов А и В (реакция Видаля);
- 3) сыпного тифа;
- 4) бруцеллеза (реакция Райта);
- 5) туляремии и др.

Постановка развернутой реакции агглютинации объемным способом Для постановки реакции требуется:

- 1) сыворотка крови, подлежащая исследованию, 0,1—0,2 мл;
- 2) физиологический раствор;
- 3) корпускулярный антиген: взвесь живой 20-часовой культуры микробов.

Используются культуры только в S-форме (гладкие, блестящие колонии с ровными краями).

Приготовление разведений сыворотки больного:

Из сыворотки готовят ряд последовательных разведений, от 1:50— 1:100 до 1:1600— 1:3200. В отдельной пробирке готовят первое разведение сыворотки 1:50 или 1:100. Для этого градуированной пипеткой набирают 0,1 мл сыворотки, другой пипеткой прибавляют к ней 4,9 мл (1:50) или 9,9 мл (1:100) физиологического раствора. Основной раствор сыворотки используется для приготовления последовательных, двукратных разведений. По окончании разведений во все пробирки ряда (кроме контрольной) прибавляют по 2—3 капли антигена. Пробирки встряхивают и ставят на 2 часа в термостат при температуре 37 °С. Затем учитывают предварительный результат реакции. Окончательный результат реакции агглютинации регистрируют через 18—20 часов стояния пробирок при комнатной температуре.

Положительный результат реакции агглютинации характеризуется образованием на дне

пробирки осадка с выраженным просветлением надосадочной жидкости.

Осадок на дне пробирки, образовавшийся в результате склеивания микробных тел, называется агглютинатом.

Для регистрации результатов реакции агглютинации пользуются четырехкрестовой системой обозначения: + + + н — полная агглютинация, при которой большой осадок на дне располагается кучкой или в форме открытого перевернутого зонтика. Надосадочная жидкость прозрачная; + + + — почти полная агглютинация, осадок такой же, надосадочная жидкость почти прозрачная; + + — слабая агглютинация, осадок едва заметен, жидкость непрозрачная; + — отмечаются следы агглютинации;

— отрицательная реакция, содержимое пробирки равномерно мутное.

Последнее разведение сыворотки, в котором наблюдается агглютинация, считают ее титром.

Постановка реакции агглютинации на стекле

Эта реакция считается ориентировочной. Ею часто пользуются для определения вида микроба.

1. На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят с помощью пастеровской пипетки 2 капли агглютинирующей сыворотки.

2. В сыворотку вносят исследуемую бактериальную культуру, снятую с поверхности плотной питательной среды.

3. Внесенную культуру тщательно перемешивают. Реакция протекает при комнатной температуре. Результат учитывают с помощью лупы через 5—10 мин.

При положительной реакции в капле отмечается окупивание бактерий в виде зернышек или хлопьев.

Факторы естественной резистентности организма. Методы их изучения. Фагоцитоз

У человека и высших животных фагоцитарной способностью обладают клетки ретикуло-эндотелиальной системы: лейкоциты крови и лимфы, фиксированные купферовские клетки печени, ретикулярные клетки селезенки, костного мозга, лимфатических узлов, гистиоциты рыхлой соединительной ткани.

В борьбе с патогенными микробами большую роль играют лейкоциты. Судьба микроорганизмов, захваченных лейкоцитами, может иметь три исхода:

1) полное внутриклеточное переваривание микробов, приводящее к их исчезновению в лейкоците, — заверченный фагоцитоз;

2) выталкивание микробов из лейкоцитов обратно, в окружающую среду;

3) активное размножение микробов внутри лейкоцитов, — незавершенный фагоцитоз.

В последнем случае фагоцитоз приобретает отрицательное значение для организма, так как микробы, находящиеся внутри клеток, становятся менее доступными действию антител. Незавершенный фагоцитоз имеет место при заболевании туберкулезом, бруцеллезом, туляремией, гонореей.

Представление о фагоцитарной способности лейкоцитов крови можно получить по данным фагоцитарной активности лейкоцитов.

Определение фагоцитарной активности лейкоцитов

Фагоцитарная активность лейкоцитов выражается процентом активных лейкоцитов (фагоцитов) к общему числу подсчитанных нейтрофильных лейкоцитов.

В стерильную центрифужную пробирку наливают 0,2 мл 2% лимоннокислого натрия, прибавляют 0,1 мл исследуемой крови, взятой из пальца, и 0,05 мл микробной взвеси. Пробирку осторожно встряхивают, помещают на 30 мин в термостат при температуре 37 °С. Затем смесь центрифугируют при 2000—3000 обмин до расслоения жидкости на верхний — соломенно-желтый прозрачный слой плазмы, нижний — слой эритроцитов и среднюю серебристую пленку между ними — слой лейкоцитов. Пастеровской пипеткой отсасывают вначале верхний слой, затем очень осторожно снимают средний, делают из него 3—5 мазков и окрашивают их.

При микроскопии мазка подсчитывают число фагоцитировавших нейтрофильных лейкоцитов из общего числа подсчитанных лейкоцитов. Для получения достоверных результатов количество последних должно быть не меньше 100. Полученный результат выражают в процентах.

Анафилактический шок

1. Информация, позволяющая медицинскому работнику заподозрить анафилактический шок:

1.1. На фоне или сразу после введения лекарственного препарата, сыворотки, укуса насекомого и т. д. появились слабость, головокружение, затруднение дыхания, чувство нехватки воздуха, беспокойство, чувство жара во всем теле, иногда рвота.

1.2. Кожа бледная, холодная влажная, дыхание частое, поверхностное. Систолическое давление 90 мм рт. ст. или ниже. В тяжелых случаях угнетение сознания и дыхания.

2. Тактика медицинского работника

ДЕЙСТВИЯ

ОБОСНОВАНИЕ

1. Вызвать врача

2. Если анафилактический шок развился на внутривенное введение лекарственного препарата, то:

1. Прекратить введение препарата, сохранить венозный доступ

Снижение дозы аллергена

2. Придать устойчивое боковое положение, вынуть зубные протезы

Профилактика асфиксии

3. Приподнять ножной конец кровати

Улучшение кровоснабжения мозга

4. Дать 100% увлажненный кислород

Снижение гипоксии

5. Измерить АД и ЧСС

Контроль состояния

3. При внутримышечном введении:

1. Прекратить введение препарата

Замедление всасывания препарата

2. Положить пузырь со льдом на место инъекции

3. Обеспечить внутривенный доступ

4. Повторить этапы стандарта со 2 по 4 как при шоке на внутривенное введение

3. Подготовить медикаменты, аппаратуру, инструментарий:

3.1. Адреналин (амп.), преднизолон (амп.), дипразин (амп.), димедрол (амп.), циметидин (амп.), эуфиллин (амп.), полиглюкин (фл.), 0,9% хлорида натрия (фл.), реополигл юкин.

3.2. Систему для внутривенного вливания, шприцы и иглы для в/м и и/к инъекций, жгут, аппарат ИВ Л, пульсо-ксиметр, коникотом, набор для интубации трахеи, мешок Амбу.

4. Оценка достигнутого:

4.1. Восстановление сознания, стабилизация артериального давления, сердечного ритма.

Часть 2

ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 6 Кишечная микрофлора здорового человека

Условные обозначения к схемам бактериологических исследований

Исследуемый материал

Фаголизис

Выявление специфических биологических свойств микробов

Посев исследуемого материала на питательные среды

Изучение биохимических свойств выделенной чистой культуры

Реакции для обнаружения антител

Реакции для обнаружения антигена

Определение I чувствительности материала

Биопроба на животных

Реакция нейтрализации на животных для обнаружения антигена

Микроскопическое исследование

Определение гиперчувствительности

Чистая культура

Обозначения сокращений

СМ — световая микроскопия.
УФА — люминесцентная микроскопия.
ЭМ — электронная микроскопия.
ИЭМ — иммунная электронная микроскопия.
МБС — микроскоп бинокулярный стереоскопический.
МФА — метод флуоресцирующих антител.
ТРИА — твердофазный радиоиммунный анализ.
НМФА — непрямой метод флуоресцирующих антител
ИФА — иммуноферментный анализ.
ИД — иммунодиффузия.
ИЗОФ (ВИЭФ) — иммуноэлектроосмосфорез.
РП — реакция преципитации.
РА — реакция агглютинации.
РАЛ — реакция агглютинации-лизиса.
РКоА — реакция коагглютинации.
РАЛат — реакция латекс-агглютинации.
РСК — реакция связывания комплемента.
РНГА — реакция непрямой гемагглютинации.
РПГА — реакция пассивной гемагглютинации.
РНФ — реакция нарастания титра фага.
РТНГА — реакция торможения непрямой гемагглютинации.
РНАг — реакция нейтрализации антигена.
РНАт — реакция нейтрализации антитела.
СИБ — системы индикаторные бумажные.
СМЖ — спинномозговая жидкость.
ЦСЖ — центрифугат спинномозговой жидкости.
ВСА — висмут-сульфит агар.
ЭМС — агар с эозин метиленовым синим (среда Левина).
ПА — питательный агар.
Х — метод разрабатывается.

§ 1. Краткая характеристика кишечной микрофлоры здоровых людей

В кишечнике у взрослых и детей основную массу микрофлоры составляют анаэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы. Роль кишечной микрофлоры:

- 1) формирует нормальную слизистую оболочку кишечника;
- 2) участвует в разрушении избытка пищеварительных секретов (например, энтерокиназы и фосфатазы);
- 3) участвует в процессах детоксикации некоторых фармакологически активных веществ, поступающих извне или образующихся в процессе пищеварения;
- 4) синтезирует витамины группы В, никотиновую, фо-лиевую кислоты (E. coli, лактобактерии, бифидобактерии);
- 5) способствует нормальному развитию лимфоидной ткани кишечника;
- 6) участвуют в обмене веществ: микробы кишечника могут влиять на газовый обмен, активизируя функцию щитовидной железы;
- 7) является антагонистами патогенных бактерий.

Некоторые представители кишечной микрофлоры являются условно-патогенными бактериями и при снижении защитных сил организма способны вызывать различные заболевания. Условно-патогенные микроорганизмы обладают выраженной биологической пластичностью, позволяющей им адаптироваться к существованию в различных экологических ситуациях. Для одних естественной средой обитания является организм человека, для других — организм отдельных видов животных, а для некоторых внешняя среда. В кишечнике человека обитают следующие условно-патогенные бактерии: E. coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter, Serratia, Providentia, Pseudomonas.

§ 2. Дисбактериоз

Дисбактериоз — нарушения качественного и количественного состава нормальной

микрофлоры.

Причины развития дисбактериоза

1) заболевания, протекающие с поражением кишечника: острая и хроническая дизентерия, сальмонеллез, кишечные гельминтозы, хронические колиты и энтероколиты, неспецифический язвенный колит и др.;

2) массивное поступление в организм антибиотиков;

3) применение химиотерапевтических средств и лучевые воздействия;

4) недоношенность новорожденных, ранний перевод на искусственное вскармливание, токсикозы беременности;

5) гнойно-инфекционные заболевания у детей (сепсис, пневмония, пиодермия, омфалиты, отиты и др.). Дисбактериоз I степени (латентная, компенсированная форма) характеризуется незначительными изменениями в аэробной части микробиоценоза (увеличение или уменьшение количества кишечной палочки). Бифидофлора и лакто-флора не изменены. Как правило, кишечные дисфункции не регистрируются. Такая степень дисбактериоза, отмечаемая после применения бактериальных биологических препаратов, свидетельствует об их нормализующем эффекте.

Дисбактериоз II степени (субкомпенсированная форма дисбактериоза) — на фоне незначительного снижения количественного содержания бифидобактерий выявляются количественные и качественные изменения кишечной палочки или других условно-патогенных микроорганизмов.

Дисбактериоз II степени является пограничным состоянием и свидетельствует о том, что обследуемый может быть отнесен к группе «риска». Если же эта форма дисбактериоза выявлена при лечении бактериальными препаратами, то можно говорить о начавшейся нормализации микробиоценоза кишечника.

Целесообразно назначение бактериальных препаратов до восстановления нормальной микрофлоры даже в случаях отсутствия явных клинических проявлений и дисфункций кишечника.

Дисбактериоз III степени — значительно сниженный уровень бифидофлоры (10^5 — 10^7) в сочетании со снижением лактофлоры и резким изменением уровня кишечных палочек. Вслед за снижением бифидофлоры нарушаются соотношения в составе кишечной микрофлоры, создаются условия для проявления патогенных свойств условно-патогенных микроорганизмов. Как правило, при дисбактериозе III степени возникают кишечные дисфункции. Необходимым является незамедлительное назначение бифидумбактерина, лактобактерина или бификола.

Дисбактериоз IV степени — отсутствие бифидофлоры, значительное уменьшение лактофлоры и изменение количества кишечной палочки (снижение или увеличение), возрастание как облигатных, так и факультативных и не характерных для здорового человека видов условно-патогенных микроорганизмов в ассоциациях. Нарушаются нормальные соотношения в составе кишечного микробиоценоза, в результате чего снижается его защитная и витаминизирующая функция, изменяются ферментивные процессы, возрастают нежелательные продукты метаболизма условно-патогенных микроорганизмов. Все это приводит к дисфункциям желудочно-кишечного тракта и деструктивным изменениям кишечной стенки, бактериемии и сепсису, поскольку снижается общая и местная сопротивляемость организма и реализуется патогенное действие условно-патогенных микроорганизмов. Выявлено, что такая степень дисбактериоза, особенно у новорожденных детей с сепсисом, может приводить к развитию перфоративного язвенно-некротического энтероколита. В таких случаях обязательным является назначение бифидумбактерина.

Глава 7 Патогенные кокки

Сем. Enterobacteriaceae

Общая характеристика. Это семейство объединяет обширную группу грамм-палочек, подвижных, движущихся при помощи жгутиков или неподвижных, образующих или не образующих капсулы. Неспорообразующие, аэробы или факультативные анаэробы. Метаболизм дыхательный или бродильный. Хорошо растут на обычных питательных средах, но некоторые нуждаются в специальных ростовых добавках. Образуют кислоту при

ферментации глюкозы, а также из других углеводов и спиртов с образованием газа или без газа.

В сфере внимания медработников заболевания, этиологически связанные с любой группой Enterobacteriaceae. Прежде всего это поражения желудочно-кишечного тракта, энтериты, гастроэнтериты. Следует помнить о возможных поражениях внекишечной локализации, вызываемых как традиционно патогенными микроорганизмами, такими, как представители родов *Salmonella*, *Shigella*, так и условно-патогенными микробами-оппортунистами, относящимися к семейству Enterobacteriaceae. Семейство энтеробактерий согласно IX определителю Берджи (1984) включает 14 родов, в ранг рода возведены *Providentia* и *Morganella*.

§ 1. Под *Escherichia*

Впервые этерихии были выделены в 1885 г. Этерихом. Встречается очень много разновидностей кишечных палочек, которые являются нормальными обитателями кишечника человека.

Типовой вид рода *Escherichia* — *E. coli* (кишечная палочка), вызывающая при снижении иммунитета гнойно-воспалительные заболевания у человека.

Морфологические и культуральные свойства:

E. coli — небольшие (0,5—1 мкм) палочки, спор не образуют, грам-. Некоторые штаммы образуют капсулу. Имеют жгутики, которые расположены по всей поверхности клетки (перитрих). Факультативный анаэроб, температурный опт — 37°C, рН — 7,2—7,8. *E. coli* к питательным средам не требовательна и хорошо растет на простых средах. На твердых средах образует слегка выпуклые колонии, мутные, слегка желтоватые.

E. coli обладает большим набором различных ферментов. Наиболее важным отличительным признаком *E. coli* от других представителей семейства является ее способность ферментировать в течение 24 часов лактозу.

Резистентность. *E. coli* хорошо сохраняется во внешней среде. При температуре 60°C погибает в течение 15 мин; 1 % раствор лизола или 5 % раствор хлорамина — убивает через 10—15 мин. В отличие от других энтеробактерий, *E. coli* более устойчива к действию различных факторов.

Эпидемиология. Как сапрофиты *E. coli* обитают в толстом кишечнике и играют положительную роль: принимают участие в синтезе витаминов группы В; являются антагонистом многих гнилостных бактерий; частично расщепляют клетчатку. В толстом кишечнике обитают *E. coli* серогрупп 02, 07, 09. Но при снижении иммунитета *E. coli* может вызывать различные воспалительные заболевания — этерихиозы. Источником этерихиозов являются больные люди, реже животные. Механизм заражения — фекально-оральный, пути передачи — пищевой, контактно-бытовой. Чаще всего заболевание носит характер вспышек.

Антигенная структура — *E. coli* имеет О-соматический, Н-жгутиковый и К-капсульный антигены. Каждый из этих антигенов имеет несколько вариантов: О-антиген — 170 вариантов, К-антиген — более 100, Н-антиген — более 50. Строение О-антигена определяет принадлежность к серогруппе. Штаммы *E. coli*, имеющие присущий им набор антигенов, называются серологическими вариантами (серовары).

По своим токсигенным свойствам различают два варианта *E. coli*: 1) условно-патогенные и 2) патогенные штаммы.

Патогенез поражений. Основными факторами патогенности являются облегчающие адгезию к эпителию и способствующие колонизации нижних отделов тонкой кишки. *E. coli* вырабатывает термолабильный и термостабильный энтеротоксины. Эффект термолабильного токсина аналогичен действию токсина холерного вибриона. Он усиливает пери-стальнику кишечника, вызывает диарею, повышение температуры тела, рвоту и нарушение водно-солевого обмена.

Клинические проявления этерихиозов

1. Кишечные инфекции. Инкубационный период — 2—3 дня. Болезнь начинается остро, с повышения температуры тела, болей в животе, поноса, рвоты. Отмечаются нарушения сна, головная боль. Холероподобные этерихиозы сопровождаются обезвоживанием организма.
2. Инфекции мочевыводящих путей — сопровождаются бессимптомной бактериурией,

циститами и острыми пиелонефритами. Клинически это проявляется дизурией, частыми позывами на мочеиспускание, болями в нижней части живота, лихорадкой, реже — тошнотой и рвотой. Обычно эти поражения происходят из микрофлоры кишечника. Бактерии проникают в уретру, затем в мочевой пузырь, прикрепляются к поверхности эпителия и активно размножаются. Развитие этих поражений зависит от возраста и пола.

3. Бактериемия. *E. coli* составляет одну из основных причин бактериемии у детей и взрослых (20—35%). Основные возбудители серогрупп 02, 04, 06, 07, 016, 018. Факторы риска — преждевременные роды, преждевременные разрывы плодного пузыря, родовые травмы. У взрослых лиц первичными источниками бактериемии являются мочевыводящие пути и кишечник. Клинически бактериемии, вызванные *E. coli*, не имеют особых признаков. У новорожденных — это нарушение терморегуляции, рвота, диарея, желтуха, сонливость. У взрослых — лихорадка, спутанность сознания, судороги, снижение артериального давления.

4. Менингит. У новорожденных *E. coli* способна вызывать менингит. В большинстве случаев это заболевание развивается как осложнение при бактериемии. Основные клинические проявления — рвота, диарея, желтуха, лихорадка, сонливость. Летальность заболевания у новорожденных весьма высокая. У выживших детей часто сохраняются остаточные неврологические расстройства.

После перенесенных заболеваний, вызванных *E. coli*, остается непродолжительный иммунитет. Профилактика сводится к соблюдению правил личной гигиены, проводятся санитарно-гигиенические мероприятия. Специфическую профилактику не проводят.

§ 2. Под *Shigella*

Согласно международной классификации род шигелл включает 4 вида (подгруппы):

A. *S. dysenteriae* — 10 сероваров;

B. *S. flexneri* — 13 сероваров;

C. *S. boydii* — 15 сероваров;

D. *S. sonnei* — серологически однороден.

Термин «дизентерия» как клиническое понятие существует с древних времен. Название болезни дано Гиппократом в V в. до н. э. До начала XIX в. под этим понятием объединялись все болезни, сопровождающиеся диареями.

Морфологические и культуральные свойства. Впервые шигеллы были выделены в 1919 г. Кастеллани и Чалмер-сом, а род назван в честь Киеси Шйга, который описал его типовой вид.

Шигеллы — мелкие палочки (2—3 мкм) с закругленными концами. В мазках располагаются беспорядочно. Грам⁺. Спор не образуют, некоторые штаммы обладают нежной капсулой. Жгутиков не имеют — неподвижны. Факультативные анаэробы, температурный опт — 37°C, рН — 6,8—7,2. На плотных средах образует полупрозрачные гладкие и шероховатые колонии. На простых средах растут хорошо, хотя для культивирования чаще используют среды обогащения.

Резистентность. Возбудители бактериальной дизентерии сохраняются в воде, почве, на различных предметах в течение 10—15 суток. Температура 60°C убивает бактерии в течение 10—20 минут. Под действием 1% раствора лизола, хлорамина шигеллы погибают через 30 мин. Это говорит о некоторой устойчивости возбудителей дизентерии к действию дезинфектантов.

Эпидемиология. Единственным источником инфекции является больной человек и бактерионоситель. Механизм заражения — фекально-оральный. Пути передачи могут быть разными, в зависимости от вида возбудителя, а именно: пищевой, водный или контактно-бытовой. Дизентерия распространена повсеместно, хотя в различных уголках планеты циркулируют разные виды дизентерии. Например, в Индии циркулирует *S. boydii*, в США отмечают рост заболеваемости, вызванной *S. flexneri*, в России — *S. sonnei*. Чаще всего дизентерия развивается у лиц со сниженным иммунитетом. Дизентерию регистрируют в течение всего года, но чаще в теплый сезон: июнь—сентябрь.

Патогенез поражений. Возбудители дизентерии через рот попадают в ЖКТ, достигают толстой кишки и там проникают в клетки слизистой оболочки.

Усиленно размножаются в них и инфицируют соседние клетки, благодаря инвазивному

фактору. Размножение шигелл в эпителиальных клетках вызывает механическое повреждение эпителия, что приводит к развитию дефектов слизистой оболочки и воспалительной реакции подслизистой с выходом элементов крови в просвет кишки. Эндотоксин, который освобождается при разрушении бактерий, вызывает общую интоксикацию организма, усиление перистальтики кишечника, понос. Кровь из просвета кишки попадает в кал. Под действием экзотоксина наблюдаются нарушение водно-солевого обмена, со стороны нервной системы.

Клинические проявления. Инкубационный период дизентерии — от 2 до 7 дней. Заболевание может протекать бессимптомно или, наоборот, очень тяжело: с высокой температурой (38—39°C), лихорадкой, ознобом, болями в животе, поносом. При острой форме дизентерии у человека бывает от 10 до 25 актов дефекации в сутки в начальной стадии заболевания. Затем количество дефекаций уменьшается и стул приобретает вид тертого картофеля. Он состоит из слизи и крови, а в более поздний период наблюдаются примеси гноя. Наиболее тяжелое течение наблюдают при дизентерии Григорьева—Шига. Иногда болезнь может переходить в хроническую форму. Летальность при дизентерии низкая и составляет 1 %.

У человека имеется естественный иммунитет к дизентерийной инфекции, поэтому заражение не всегда приводит к заболеванию.

После перенесенного заболевания остается кратковременный, непродолжительный иммунитет.

Для экстренной профилактики дизентерии в очагах эпидемических вспышек используется дизентерийный бактериофаг, который также применяют для терапии начальной стадии заболевания у грудных детей. К профилактическим мероприятиям относится выполнение санитарно-гигиенических правил и соблюдение личной гигиены.

§ 3. Род *Salmonella*

Род сальмонелл включает 65 групп — 2000 сероваров. Бактерии названы в честь Дэвида Сэльмона. По IX изданию определителя бактерий Берджи (1994 г.) в род сальмонелл включено 2 вида: *S. bongori* и *S. choleraesuis*, которые объединяют 5 подвидов— *choleraesuis* (1), *salamae* (2), *arizonae* (3a), *diarizonae* (3b), *houtenae* (4) и *indica* (5).

Морфологические и культуральные свойства. Сальмонеллы — короткие палочки с закругленными концами. Под-

Схема выделения возбудителя дизентерии

Испражнения, слизь, гной, промывные воды кишечника, рвотные массы, секционный материал и др.

Бактериологический метод

Среды Плоскирева, Левина и др.

Чистая культура

Ферментативные свойства (СИБ)

Антибиоти кограмма

Серологическое тестирование РА на стекле

Серологический метод

Сыворотка крови

РИГА, РА, определение IgG и fg вижные, так как имеют жгутики. Спор и капсул не образуют, грам". В мазках располагаются беспорядочно. Факультативные анаэробы, pH среды — 5,0—8,0. На МПА сальмонелла тифа образует полупрозрачные нежные колонии, на средах Эндо и Плоскирева сальмонеллы тифа образуют полупрозрачные, бесцветные или бледнорозовые колонии, на висмутсульфитном агаре— черные блестящие колонии. Сальмонеллы паратифа А на питательных средах образуют колонии, сходные с колониями *S. typhi*.

Колонии сальмонелл паратифа В более грубые. По периферии колоний возникают слизистые валики, что является характерным дифференциальным признаком.

Эпидемиология. Сальмонеллы вызывают заболевания человека и животных. К этому роду относятся возбудители брюшного тифа и паратифов А и В. Брюшной тиф и паратиф А — это антропонозные инфекции, источником инфекции являются больные или бактерионосители. Источником паратифа В могут быть также сельскохозяйственные животные. Основные пути

передачи — водный и пищевой, реже -контактный. Брюшной тиф и паратифы А и В регистрируются в разных странах, а также повсеместно на территории России. Чаще болеют люди старше 15 лет, но встречается заболевание и у маленьких детей. Наибольшая заболеваемость отмечается в летне-осенний период.

Резистентность. Сальмонеллы устойчивы во внешней среде. В пыли, во льду, в воде могут сохраняться до 3 месяцев. Низкие температуры переносят хорошо. В мороженых овощах могут сохраняться до 2 месяцев. Наиболее устойчива *S. typhimurium* (возбудитель тифа мышей, которая на различных предметах остается жизнеспособной до года).

К дезинфектантам сальмонеллы чувствительны. Осветленный 0,3% раствор хлорной извести убивает сальмонеллы через 1 час. Хлорирование сточных вод снижает их загрязненность сальмонеллами в несколько раз. При кипячении возбудители гибнут сразу.

Антигенная структура. Сальмонеллы брюшного тифа имеют О-, Н- и Vi-антигены. Каждый вид сальмонелл обладает определенным набором антигенов.

О-антигены — термостабильны, выдерживают длительное кипячение и автоклавирование при 120° С в течение 30 мин. Чувствительны к действию формалина, но устойчивы к разведенным кислотам. В соответствии с набором тех или иных О-антигенов сальмонеллы подразделяются на серологические группы (их насчитывают 65).

Vi-антиген находится на поверхности бактериальной клетки. Этот антиген препятствует агглютинации сальмонелл О-сыворотками, утрата Vi-антигена сопровождается восстановлением О-агглютинабельности. Брюшнотифозные сальмонеллы, содержащие Vi-антиген, не агглютинируются О-сыворотками. Термолабилен. Чувствителен к HCl.

Н-антигены термолабильны, разрушаются при нагревании до 100°С и при действии соляной кислоты.

Антигенная структура сальмонелл может меняться и переходить из S- в R-форму в результате мутаций.

Патогенез заболевания. Первичным местом локализации возбудителей является пищеварительный тракт. После того, как микробы попадают в тонкий кишечник, они проникают в его лимфатический аппарат и там усиленно размножаются. Оттуда возбудители брюшного тифа попадают в кровь — наступает бактериемия, при которой происходит гематогенный занос возбудителя в селезенку, костный мозг. Особенно много сальмонелл накапливается в печени. При гибели бактерий освобождается эндотоксин, который вызывает явление интоксикации (головная боль, бессонница, расстройство деятельности сердечно-сосудистой системы). Из печени микробы попадают в желчный пузырь, а оттуда вместе с желчью опять в тонкий кишечник. Таким образом сальмонеллы могут циркулировать по организму несколько лет (бактерионосительство). Сальмонеллы выводятся из организма с мочой и калом.

Клинические проявления. Брюшной тиф и паратифы — клинически эти заболевания не различимы. Инкубационный период — от 10 до 14 дней. Это острые кишечные инфекции, сопровождающиеся бактериемией, лихорадкой и явлениями общей интоксикации: повышение температуры, нарастание утомляемости и слабости, снижение аппетита, бессонница. Для брюшного тифа характерно помутнение сознания, галлюцинации, бред. Тяжелыми осложнениями могут быть кишечное кровотечение, перитонит, прободение стенки кишки, инфекционно-токсический шок. Для брюшнотифозных больных характерна сухость языка, который обычно обложен серовато-бурым налетом. В период разгара болезни все симптомы интоксикации усиливаются.

Заболевание паратифом А протекает менее тяжело. Паратиф А начинается остро: у больного отмечается тошнота, рвота, частый жидкий стул. Возможны гиперемия лица и герпетические высыпания.

Паратиф В протекает по-разному: от стертых до тяжелых форм с симптомами менингита. Кишечные расстройства похожи на сальмонеллезные гастроэнтериты.

При диагностике этих заболеваний решающее значение принадлежит лабораторным исследованиям.

После перенесения брюшного тифа и паратифов у человека вырабатывается стойкий иммунитет, но иногда бывают рецидивы и повторные заболевания.

Гастроэнтериты (сальмонеллезы) — группа инфекционных заболеваний у человека и животных. Инкубационный период от нескольких часов до 3 суток. В начале заболевания поднимается температура, появляются озноб, рвота, частый водянистый жидкий стул, боли в животе. При явлениях общей интоксикации у больных появляется общая слабость, головная боль.

Для того чтобы подтвердить диагноз, обязательна лабораторная диагностика, при которой проводится идентификация сальмонелл.

Профилактика сальмонеллезных инфекций заключается в проведении санитарно-гигиенических, ветеринарно-санитарных и противоэпидемических мероприятий. В районах с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой проводится вакцинация. Для иммунопрофилактики брюшного тифа используют 2 типа вакцин — убитые (эффективность 50%) и живая аттенуированная (из штамма Ty 21 a). Для экстренной профилактики и для терапии у грудных детей используют брюшнотифозный бактериофаг.

§ 4. Практическая часть

Основные принципы и этапы бактериологического исследования

1. Квалифицированный выбор материала, подлежащего исследованию: для клинических образцов — с учетом характера и локализации патологического процесса, патогенеза заболевания и его стадии; для объектов окружающей среды — с учетом возможного значения их в качестве путей и факторов передачи микроорганизмов — возбудителей инфекций.

2. Отбор проб материала для исследования в необходимом и достаточном объеме. Обеспечение своевременной доставки материала для сохранения жизнеспособности искомым бактерий.

3. Выбор оптимального набора соответствующих питательных сред для первичного посева и накопления возбудителя с учетом характера материала, свойств искомого микроорганизма и посевных доз.

4. Соблюдение классических принципов тщательного изучения посевов.

5. Изучение фенотипических характеристик выделенных чистых культур, в первую очередь, биохимических свойств с максимально возможной стандартизацией условий их определения.

6. Определение согласно классификационным таблицам таксономического положения выделенной культуры в соответствии с задачами исследования (родовой, видовой, внутривидовой принадлежности). Бактериологическое исследование проводится в несколько этапов:

1. Посев доставленного материала на среды обогащения. Для некоторых видов материалов осуществляют предварительную подготовку их для посева, а затем инкубацию посевов для всех видов при условиях, соответствующих свойствам искомым бактерий.

2. Изучение чашек с посевами. Выделение чистых культур из намеченных колоний для дальнейшего изучения с использованием для этого комбинированных сред для первичной идентификации.

3. Учет результатов посева в комбинированные среды пос-" ле 18—20 часов инкубации. Изучение морфологических и тинкториальных свойств. Посевы для воспроизведения тестов минимального дифференцирующего ряда. I Ориентировочное изучение культур в реакциях агглю- j тинации.

4. Определение рода и вида микроорганизмов на основании учета результатов посевов в среды минимального дифференцирующего ряда. При необходимости проводить посевы для определения дополнительных биохимических признаков.

5. Учет дополнительных биохимических тестов.

Схема бактериологической диагностики колиэнтеритов

Бактериологическому исследованию на содержание эн-теропатогенных кишечных палочек подвергают испражнения, рвотные массы, слизь из зева и носа, при исследовании секционного материала — кровь из сердца, кусочек легкого, печени, селезенки, почек, отрезки тонких и толстых кишок.

Если испражнения не могут быть доставлены в лабораторию в первые два часа с момента взятия, их сохраняют в леднике при температуре + 4°C, но не дольше суток или

консервируют в глицериновой смеси.

Учитывая, что при колиэнтеритах поражается преимущественно тонкий кишечник, целесообразней исследовать последние порции кала.

1-й день: материал, поступивший на исследование, засевают на плотные накопительные питательные среды: Эндо, Левина, ВСА.

При посеве испражнений небольшое количество материала эмульгируют в физиологическом растворе. После оседания крупных частиц с поверхности жидкости берут 1—2 капли приготовленной взвеси, вносят ее в чашку Петри и на небольшом участке питательной среды растирают стерильным стеклянным шпателем. Затем шпатель отрывают от поверхности агара, и не прожигая его, распределяют остаток материала по остальной поверхности чашки.

2-й день: просматривают посевы, сделанные накануне. Колонии энтеропатогенных кишечных палочек не отличаются от колоний непатогенных кишечных палочек. На чашках со средой Эндо они имеют круглую форму, ровный край, матовую поверхность, малиново-красный цвет.

Из 10 изолированных колоний с культурально-морфологическими признаками, характерными для кишечной палочки, берут часть материала для пробной агглютинации на стекле так, чтобы оставшаяся часть колонии в случае надобности могла быть использована для дальнейшего исследования. С материалом каждой колонии отдельно ставят реакцию агглютинации на стекле с неразведенной агглютинирующей комплексной ОВ-количесывороткой.

При положительном результате реакции агглютинации исследуемая культура в первую же минуту наблюдения образует хорошо видимые простым глазом крупные хлопья агглютината. Материал из 3—5 колоний, бактерии которых агглютинировались смесью сывороток на предметном стекле, отсевают в пробирки со скошенным мясопептонным агаром (МПА) для дальнейшего изучения чистой культуры.

3-й день: просматривают посевы на скошенном МПА. На поверхности агара кишечная палочка образует влажный, блестящий налет сероватого цвета. Культуры, выросшие на МПА, проверяют повторно в реакции агглютинации на стекле.

Микробную культуру, выращенную на скошенном МПА и давшую повторно реакцию агглютинации на стекле, пересевают:

а) для изучения сахаролитических свойств в среды Гиса с глюкозой, лактозой, маннитом, мальтозой, сахарозой; б) для выявления индола в пробирку с бульоном Хот-тингера; в) для выявления сероводорода в мясопептонный бульон; г) для выявления активной подвижности производят посев в полужидкий питательный агар.

4-й день: регистрируют в протоколе проведенные исследования.

Схема микробиологического исследования сальмонелл

Наиболее ранним и достоверным методом диагностики брюшного тифа и паратифов следует считать выделение гемокультуры, так как бактериемия у больных возникает с конца инкубационного периода и продолжается в течение всего лихорадочного периода болезни. Частота выделения возбудителя из крови больного в 1-ю неделю заболевания достигает 100%. Со 2-й недели процент положительных результатов уменьшается. Кровь для посева берут из вены локтевого сгиба: на 1-й неделе в количестве 10 мл, на 2-й и 3-й неделе — 15—20 мл.

С 3-й недели заболевания, в связи с тем, что патологический процесс и соответственно возбудитель заболевания сосредотачиваются в лимфатическом аппарате кишечника, начинается интенсивное выделение бактерий из испражнений.

Выделение бактерий брюшного тифа из крови 1-й день: кровь больного засевают немедленно после взятия во флаконе 10—20% желчным бульоном. Желчь, содержащаяся в питательных средах, способствует росту сальмонелл и предотвращает свертывание крови.

2-й день: просматривают колбы с посевами, сделанными накануне. Размножение бактерий в желчном бульоне в первые 2—3 дня после произведенного посева не всегда сопровождается помутнением среды. Поэтому независимо оттого, помутнела среда или нет, делают высев на чашки с висмут-сульфитным агаром и среду Плоскирева. Засеянные среды ставят в термостат вместе с первичным посевом крови. Последний сохраняют для повторных высевок

на тот случай, если на плотных питательных средах не обнаружатся колонии, характерные для сальмонелл. Повторные высевы со сред обогащения производят на 2-е, 3-й, 5-е, 7-е и 10-е сутки. При отсутствии характерных колоний после высева, произведенного на 10-е сутки, лаборатория дает отрицательный ответ и прекращает исследование.

§ 5. Под *Proteus*

Типовой вид *P. vulgaris*.

Протей впервые был выделен Хаузером в 1885 г. Это грамм⁺ палочки. В мазках располагаются парно или цепочками, спор и капсул не образуют, подвижны. Капсул не имеют, факультативные анаэробы. Хорошо растет на обычных питательных средах. На МПА образует два вида колоний: в Н-форме колонии имеют вид «роения». Это типичная форма роста (сплошной рост), которая сопровождается неприятным гнилостным запахом. При неблагоприятных условиях (наличие в среде фенола, желчных солей) образует О-формы колоний, с ровными краями. Пигментов не образуют. При росте на жидких средах дают равномерное помутнение.

Антигенная структура. У протеев выделяют О-, Н- и К-антигены. Соматический О-антиген термостабилен, Н-ан-тиген — термолабилен. Род *Proteus* состоит из 5 видов, *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *Pr. morgani* (66 сероваров), *Pr. rettgeri* (45 сероваров), *Pr. inconstans* (156 сероваров). Некоторые из них относят к патогенным бактериям, хотя протей считается условно-патогенным микроорганизмом.

Резистентность. Во внешней среде протей довольно устойчивы. При 60°C сохраняются около часа. Низкие температуры переносят хорошо. Устойчивы к действию дезрастворов.

Патогенез поражений. Важным фактором патогенности протей является способность к образованию уреазы. Бактерии разлагают мочевины в качестве источника энергии, конечные продукты метаболизма (хлорид аммония) вызывают местное воспаление и способствуют образованию камней и застою мочи.

«Роящиеся» бактерии способны к адгезии и паренхиме почечной ткани и эпителию мочевого пузыря. Эти бактерии характеризуются повышенным образованием уреазы и гемолизина. На кровяном агаре гемолитическая активность проявляется через 48 часов.

При снижении защитных сил организма протей вызывают у человека циститы, энтероколиты, воспаление среднего уха, сепсис, послеоперационное нагноение ран и т. д.

Иммунитет после перенесенных заболеваний непродолжительный.

Лабораторные методы диагностики такие же, как и при других кишечных инфекциях. Идентификация протеев самая простая во всем семействе *Enterobacteriaceae*. Их легко распознать по способности давать вид «роения» и по гнилостному запаху.

Профилактика протейных заболеваний сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил: защита воды и продуктов питания от загрязнения испражнениями и гнойными выделениями.

§ 6. Под *Klebsiella*

Капсульные бактерии обнаруживаются в слизи зева и носа, выделениях дыхательных путей, кишечнике человека.

Морфологические и культуральные свойства. Клебсиеллы толстые, короткие палочки с закругленными концами, неподвижные, спор не образуют. В мазках располагаются одиночно, попарно, реже — короткими цепочками. Грам⁻. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах. На твердых средах образуют мутные, слизистые колонии, в бульоне отличается интенсивное помутнение, пленка на поверхности жидкой среды или пристеночное кольцо. На средах Эндо и Плоскирева клебсиеллы образуют колонии с металлическим блеском.

Резистентность. Клебсиеллы — это сравнительно устойчивые бактерии. При комнатной температуре могут сохраняться месяцами, при нагревании до 65°C погибают через 1 час. Чувствительны к действию дезрастворов.

Антигенная структура. В клебсиеллах содержатся К-антигены, О-соматические и деградированный О-антиген (R-антиген). Клебсиеллы классифицируются по капсульному антигену, поэтому реакции агглютинации ставят, используя капсульные бактерии. В популяциях клебсиелл, которые содержат К- и О-антигены, имеются серовары.

Патогенез поражений. Вирулентность клебсиелл связана с наличием у них капсул, способностью вырабатывать эндотоксин. Бактерии, которые утратили способность к капсулообразованию, становятся непатогенными.

Клинические проявления. Наиболее известные поражения вызывает *K. pneumoniae*, как правило, у лиц с поражениями дыхательных путей. Клебсиеллы пневмонии вызывают у человека воспаление легких, а также бронхиты и бронхопневмонии. Пневмония характеризуется поражением одной и нескольких долей легкого. Иногда возбудители пневмонии вызывают менингит, цистит; у детей — септицемию и другие заболевания.

K. pneumoniae, подвид *ozaenae* — является возбудителем хронических заболеваний дыхательного тракта. Поражают гортань, трахею, вызывают атрофию придаточных полостей и носовых раковин, выделение вязкого секрета, подсыхающего с образованием плотных корок, затрудняющих дыхание и издающих зловонный запах, известного как озена. Удаление корок вызывает кровотечение. Заболевание может приводить к потере обоняния.

K. pneumoniae, подвид *rhinoscleromatis* — у человека вызывает хронический гранулематозный процесс в слизистой оболочке носа, глотки, гортани, трахеи, бронхов. Заболевание характеризуется хроническим течением, клиническая картина поражений развивается очень медленно — от 3 до 5 лет. Риносклерома — малоконтагиозная болезнь. В первой стадии заболевания появляется сухость в носу, кашель. На слизистой оболочке носоглотки обнаруживают плотные беловатые узелки, покрытые мокротой, из которой можно высеять возбудителя. Во второй стадии заболевания у больных отмечается нарушение дыхания, в верхних дыхательных путях образуются множественные инфильтраты, покрытые корками. Состояние больных ухудшается, так как дыхательные пути забиты корками и очень сужены. В таких случаях возможен летальный исход.

Схема выделения возбудителей заболеваний, вызываемых условно-патогенными энтеробактериями

Испражнения, рвотные массы, гной, смывы из зева, моча, кровь, спинно-мозговая жидкость и др.

Среды обогащения: глюкозный бульон, селенитовая, буферная и др.

Среды Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит-агар, ЭФ-2 и др.

Ферментативные свойства (СИБ)

Серологическое тестирование

Серологический метод

РА с аутоштаммом

6. Зак. 361

После перенесения заболеваний, вызванных клебсиеллами, у человека остается недлительный, слабонапряженный иммунитет.

Профилактика этих заболеваний сводится к выявлению больных людей, лечению их антибиотиками и химиопрепаратами.

Лабораторная диагностика.

1. Микроскопирование.

При пневмонии окрашивают мазки, полученные из мокроты.

При озене — просматривают слизь из носа. При риносклероме — исследуется гранулематозная ткань.

2. Выделяют чистую культуру и идентифицируют ее по культуральным, биохимическим и серологическим признакам.

3. Ставят серологические реакции с диагностическими антисыворотками.

§ 7. Род *Yersinia*

В этот род включены 3 вида бактерий: *Y. pestis* — возбудитель чумы; *Y. pseudotuberculosis* — возбудитель псевдотуберкулеза и *Y. enterocolitica* — возбудитель персиноза.

Представители этого рода являются подвижными или неподвижными палочками, спор не образуют, капсул не имеют, факультативные анаэробы, паразитируют в организме человека и животных. Хорошо растут на простых питательных средах.

Типовой вид *Y. pestis* — возбудитель чумы.

Морфологические и культуральные свойства. Чумная бактерия неподвижна, спор и капсул

не образует. Молодые колонии имеют неровные края («кружевной платочек»), зрелые колонии — неровные края в виде «ромашки». На скошенном агаре через 48 часов при 28°С образуют серовато-белый налет, растающий в среду. На бульоне через 48 часов образуют пленку на поверхности и хлопьевидный осадок.

Y. enterocolitica на плотных средах образует мелкие, блестящие, голубоватые колонии. На среде Эндо они имеют розоватый оттенок. На жидких средах образуют равномерное помутнение.

Y. pseudotuberculosis образуют бесцветные колонии на среде Эндо. Часто колонии выпуклые, бугристые и по внешнему виду могут напоминать колонии *Y. pestis*.

Opt — температура роста для персиний 28°С, pH — 5,0—8,0.

Антигенная структура. Все виды персиний имеют О-ан-тиген (эндотоксин), который является очень токсичным для животных и человека. Методом преципитации в агаре у возбудителя чумы обнаружены антигены, общие с псевдотуберкулезными, кишечнотифозными, дизентерийными бактериями.

Резистентность. Возбудитель чумы очень устойчив к низким температурам, на предметах и одежде может сохранять свою жизнеспособность до 6 месяцев, в воде и мокроте — 10—30 суток, в молоке — до 3 месяцев. Возбудитель чумы очень чувствителен к высыханию и действию высоких температур, при кипячении гибнет через 1 мин, под действием 5% раствора фенола через 5—10 мин, 5% раствора лизола — через 2—10 минут.

Эпидемиология. Для всех персиний основными хозяевами являются животные, вторичным — человек.

Y. pestis — чума — человеку передается через укусы блох, а также контактным, алиментарным или воздушно-капельными путями.

6* 163

Эпидемии чумы известны с древнейших времен. Это заболевание приводило к гибели миллионов людей. В XIV—XV вв. пандемия чумы унесла около 60 млн жизней. В 1894 г. в Гонконге началась 3-я пандемия чумы, которая продолжалась 20 лет и унесла 10 млн жизней. Последние вспышки были зарегистрированы в Индии (90-е гг. XX в.).

Y. Enterocolitica — вызывают у человека инфекции, сопровождающиеся энтеритом, диареей, псевдоаппендицитом. Главный симптом заболевания — гастроэнтерит. Этот возбудитель в природе распространен повсеместно, выделяется от различных животных. Подъем заболеваемости персинию-зами отмечают в осенне-зимний период. Большинство случаев заражения связаны с употреблением недостаточно проваренного мяса свинины.

Y. pseudotuberculosis — вызывает у человека брыжеечный аденит, а у диких и домашних животных системные поражения. Заражение человека происходит от инфицированного животного путем, общим для большинства кишечных инфекций. Природный резервуар возбудителя — домашние животные и птицы, а также олени, грызуны.

Патогенез. *Y. pestis* внедряется в организм в месте укуса блохи; блохи инфицируются бактериями, питаясь кровью больных животных. При легочной форме бактерии чумы передаются воздушно-капельным путем с мокротой при кашле больного человека. В зависимости от места локализации возбудителя, иммунного статуса организма, вирулентности микроба может наблюдаться кожная, бубонная, кишечная, первично-легочная, вторично-легочная форма чумы.

Y. Enterocolitica — вызывает энтероколит с диареей, лихорадкой и болями в животе. Вирулентность этого возбудителя связана с адгезивными и инвазионными свойствами, а также выделением энтеротоксина, аналогичного термостабильным токсинам *E. coli*. *Y. Enterocolitica* проникают в слизистую оболочку тонкой кишки, там усиленно размножаются и попадают в брыжеечные лимфатические узлы.

Клинические проявления. Чума начинается внезапно. Инкубационный период от 2 до 6 дней. Продромальный период отсутствует: появляется озноб, сильная головная боль и головокружение; лицо становится бледным, с синюшным оттенком и выражением страдания (ужаса) — *fades pestica*. Каждой форме чумы присущи специфические клинические проявления. Наиболее часто, попав в лимфатический узел, возбудитель вызывает в нем серозно-геморрагическое воспаление, при этом формируется болезненный бубон. Кишечная

чума проявляется диареей с обильным выделением крови и слизи. Обычно заканчивается летальным исходом.

Иерсинеоз характеризуется диареей с имитацией приступа аппендицита. Иногда кишечная инфекция может трансформироваться в септицемию с поражением внутренних органов, которые возникают через 2 недели от начала болезни.

Y. pseudotuberculosis — вызывает энтероколиты и воспаление брыжеечных лимфатических узлов.

Иммунитет. После перенесения чумы у человека вырабатывается стойкий иммунитет. Древние люди догадывались об этом, и переболевших людей привлекали для ухода за больными и для захоронения трупов.

Иммунитет обусловлен фагоцитарной активностью клеток лимфоидно-макрофагальной системы.

Профилактика

1. Ранняя диагностика чумы.

2. Немедленная изоляция больных, госпитализация и установление карантина.

3. Проведение в очагах тщательной дезинсекции и дератизации.

4. Индивидуальная защита медицинского персонала, профилактическое введение стрептомицина и вакцинация.

5. Выполнение международных конвенций по профилактике

Специфическая профилактика проводится путем введения человеку живой вакцины EV. Ее выпускают в сухом виде, вводят подкожно, внутрикожно, накожно однократно или двукратно. Такой иммунитет сохраняется до года. В зависимости от эпидемиологической обстановки проводится ревакцинация через 6—12 месяцев. В последние годы заболеваемость чумой снизилась, хотя в ранее эндемических районах отмечается некоторая активизация природных очагов.

Глава 8 Патогенные кокки

§ 1. Род *Staphylococcus*

В этой обширной группе микроорганизмов встречаются как сапрофиты, обитающие в окружающей среде, так и патогенные виды. Стафилококки — повсеместно распространенные бактерии. Первых представителей этого рода выделили Л. Пастер и Р. Кох (1878 г.).

Морфологические и культуральные свойства. Стафилококки — это небольшие круглые клетки диаметром 0,5—1,5 мкм, после деления располагаются в мазках одиночно, парами или в виде гроздьев винограда. Стафилококки неподвижны, спор и капсул не образуют. Грамположительные. По типу дыхания стафилококки являются факультативными анаэробами. Хорошо растут на простых питательных средах (рН 7,2—7,4) с 5—10% NaCl. На плотных средах образуют мелкие колонии, гладкие, слегка выпуклые. Могут быть белого, желтоватого, кремового цвета. Цвет колоний обусловлен наличием липохромного пигмента, его образование происходит только в присутствии кислорода. Пигмент стафилококков — это сложное соединение, состоящее из 13 ка-ротиноидных фракций. (По приказу №181S. aureus идентифицируют по наличию пигмента.) Стафилококки обладают сахаролитическими и протеолитическими ферментами. Патогенные свойства стафилококков обусловлены способностью вырабатывать экзотоксин и наличием микрокапсул. Стафилококковый экзотоксин содержит ряд фракций: лейкоцидины, гемолизины, летальный яд. Гемолитическую способность стафилококков (и других микроорганизмов) определяют при посеве на кровяной агар, на котором через 18—24 часа вокруг колонии стафилококка видна прозрачная зона — зона гемолиза. Антигенная структура стафилококков очень сложная. У стафилококков известно около 30 антигенов, представляющих собой белки, полисахариды. Ви-доспецифичными антигенами являются тейхоевые кислоты. Типовой вид — *S. aureus* (золотистый стафилококк).

Резистентность. Среди патогенных микроорганизмов стафилококки наиболее устойчивы в окружающей среде. Они хорошо переносят высушивание, сохраняя при этом вирулентность. Очень хорошо переносят замораживание — могут сохраняться при низких температурах несколько лет. Прямой солнечный свет убивает стафилококки в течение нескольких часов.

При нагревании до 70°C погибают в течение 1 часа, до 80°C — через 10—20 минут. Зато эти микроорганизмы менее устойчивы к действию дезрастворов: 1% раствор хлорамина убивает их через 2—5 минут. Стафилококки способны быстро приобретать устойчивость к антибиотикам. Особенно они устойчивы к антибиотикам пенициллинового ряда.

Эпидемиология. Стафилококки являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек человека. В биоценоз человека входит до 14 видов стафилококков. Всего известно 30 видов этих микроорганизмов. В основном они локализируются на слизистой носа и зева. Золотистый стафилококк встречается примерно у 29—30% здорового населения. Такие люди считаются носителями патогенного стафилококка. В большинстве случаев носительство протекает несколько недель или месяцев; хроническое носительство типично для медицинского персонала; пациентов, страдающих различными дерматитами. Стафилококковому носительству способствует поздняя диагностика и поздняя санация. Важную роль в инфицировании стафилококком играют тесные контакты с носителями и людьми, страдающими стафилококковыми заболеваниями. Наиболее подверженной группой являются дети, особенно новорожденные. Очень опасно попадание стафилококка в пупочную рану. *S. aureus* может циркулировать среди животных: крупный рогатый скот, собаки, кошки.

Патогенез поражений. Факторы патогенности стафилококка: микрокапсула, ферменты и токсины.

Микрокапсула защищает клетки от фагоцитов организма, а также способствует адгезии стафилококков к органам и тканям. Ферменты проявляют самое разное действие. Наиболее ярко выражены у золотистого стафилококка, который продуцирует различные ферменты: 1) каталаза — защищает бактерии от действия кислородозависимых механизмов фагоцитов; 2) ряд ферментов, разлагающих сахара: лактозу, мальтозу, глюкозу, маннит; 3) плазмакоагулаза — приводит к свертыванию белков плазмы; 4) фибринолизин; 5) гиалу-ронидаза — способствует распространению возбудителя в организме; 6) ДНКаза и др.

Стафилококк образует ряд токсинов:

1) гемолизины — вызывают гемолиз на кровных средах. Золотистый стафилококк способен синтезировать несколько типов гемолизинов а, р, у. Из стафилококкового гемолизина получают стафилококковый анатоксин, а-ге-молизин не активен в отношении эритроцитов человека, но быстро лизирует эритроциты барана, р-гемолизин вызывает теплехолодовой шок — этот тип токсина хорошо выявляется при смене температур (максимальная активность проявляется при низких температурах), у-гемолизин лизирует различные эритроциты, что обуславливает токсичность широкого спектра действия; 2) эксфолиатин — вызывает стафилококковый синдром ожога кожи, в результате того, что этот токсин разрушает гранулярные клетки эпидермиса кожи;

3) лейкоцидин — вызывает деструкцию лейкоцитов, угнетение фагоцитарного звена. Этот токсин обнаружен у штаммов, выделенных от больных людей;

4) энтеротоксины — накапливаются в продуктах питания (например, в кондитерских изделиях, содержащих крем), что может привести к пищевым отравлениям и вызвать у человека рвоту, диарею. При этом развивается псевдомембранный энтероколит.

Клинические проявления. Известно более 100 клинических форм проявлений стафилококковых инфекций. Стафилококки способны поражать практически любые ткани и органы человека. При снижении защитных сил организма эти микробы вызывают следующие гнойно-воспалительные заболевания: ангины, отиты, холециститы, пневмонии, сепсис, фурункулез. Особенно велика их роль в акушерско-гинекологической практике, так как они могут вызывать маститы у рожениц и сепсис у новорожденных. Стафилококковые инфекции протекают очень тяжело, часто с летальным исходом. Также золотистый стафилококк является основным возбудителем инфекций опорно-двигательного аппарата (остеомиелиты, артриты); в частности, он вызывает 70—80% случаев септических артритов у подростков, реже у взрослых. Иммуитет после перенесенных стрептококковых инфекций остается непродолжительным. Лица, которые являются носителями стафилококка, чаще болеют кожными стафилококковыми инфекциями.

Лечение и профилактика. При лечении стафилококковых инфекций обычно применяются

антибиотики. Для этого целесообразно определить чувствительность стафилококков к тем или иным антибактериальным средствам. В тяжелых или хронически протекающих случаях следует применять антитоксическую противостафилококковую плазму или донорский антистафилококковый иммуноглобулин, который получают из крови добровольцев-доноров, иммунизированных адсорбированным стафилококковым анатоксином. Этот анатоксин можно также использовать для иммунизации плановых хирургических больных и беременных.

Профилактические меры борьбы со стафилококковыми инфекциями заключаются в проведении санитарно-гигиенических мероприятий и санации хронических носителей.

§ 2. Род *Streptococcus*

Этот род представлен более 20 видами бактерий, среди которых встречаются как патогенные, так и представители нормальной микрофлоры человеческого организма.

Впервые стрептококки были описаны Бильротом в 1874 г.

Морфологические и культуральные свойства. Стрептококки — это мелкие шаровидные клетки размером 0,5—2,0 мкм; в мазках располагаются парами или цепочками, грамположительные, спор не образуют, жгутиков не имеют. Некоторые стрептококки образуют нежную капсулу. Факультативные анаэробы. Opt pH 7,2—7,6, t— 37°C. Растут на питательных средах, обогащенных кровью, сывороткой. На плотных средах образуют мелкие колонии сероватого цвета.

По классификации Брауна (1919) стрептококки разделены на 3 группы:

р-гемолитические — дают полный гемолиз на кровяном агаре — *S. pyogenes*, некоторые энтерококки.

α-зеленящие стрептококки — дают зеленящую зону гемолиза — *S. pneumoniae*.

γ-негемолитические стрептококки — не образуют зону гемолиза на кровяном агаре.

Для человека самыми патогенными являются стрептококки р-гемолитические, большая часть которых относится к серогруппе А. Стрептококки подразделяются на серогруппы на основе специфичности полисахаридного антигена. Определяются 17 серологических групп по Лэнсфилду — обозначают заглавными латинскими буквами. *S. pyogenes* — это стрептококк серогруппы А. Стрептококки этой группы вырабатывают более 20 веществ, обладающих антигенностью.

Резистентность. В окружающей среде — в пыли, на различных предметах — сохраняются долго, но при этом утрачивают свою патогенность. В высушенном гное и мокроте могут сохраняться месяцами. Низкие температуры переносят хорошо. Стрептококки погибают при 56°C в течение 30 мин, 3—5% раствор карболовой кислоты убивает их в течение 15 мин.

Эпидемиология. Стрептококки группы А встречаются повсеместно и могут являться постоянными обитателями слизистой рта и зева человека. Частота носительства может достигать 25 %. Основной резервуар инфекции — больной человек или носитель. Основным механизмом передачи стрептококковой инфекции является контактно-бытовой. Также эти возбудители могут передаваться воздушно-капельным путем.

Патогенез поражений. Стрептококки группы А обладают адгезивными свойствами, также на поверхности клетки имеется белковый антиген М, который препятствует фагоцитозу. А как известно, эти свойства присущи патогенным микроорганизмам антимикробного потенциала фагоцитов и облегчают адгезию к эпителию.

Клинические проявления. *S. pyogenes* вызывает у человека многие болезни: скарлатину, фарингит, рожистое воспаление, эндокардит, послеродовой сепсис, ревматизм.

Скарлатина — это инфекционное заболевание, которым в основном болеют дети от года до 5 лет. Заражение скарлатиной происходит воздушно-капельным путем. Заболевание характеризуется появлением кожных точечных высыпаний или мелких пятен красного цвета на шее и верхней части грудной клетки. После перенесения скарлатины у человека вырабатывается очень стойкий иммунитет, что нехарактерно для стрептококковых инфекций.

Рожистое воспаление чаще всего развивается на месте предшествующей травмы или в местах инъекций. Инкубационный период рожистого воспаления от нескольких часов до 5—6 суток. Для этого заболевания характерно острое начало: очень высокая температура —

до 40°C, озноб, слабость, головная боль. На пораженном участке кожи в первые сутки появляются отеки, гиперемия. В тяжелых случаях у больных может развиваться инфекционно-токсических шок.

Стрептококки группы В в основном обитают на слизистой носоглотки, в ЖКТ и влагалище. *S. agalactiae* вызывает урогенитальное, фарингиальное носительство. У новорожденных вызывает сепсис, менингиты. Стрептококковая пневмония может развиваться на фоне респираторных вирусных инфекций, как вторичное проявление болезни. Заражение организма человека вирусами увеличивает чувствительность легочной ткани к стрептококкам.

Поражения, вызванные стрептококками этой группы, можно наблюдать как у взрослых, так и у детей.

Пневмококки — *Streptococcus pneumoniae*

Пневмококки были описаны Пастером в 1871 г. Это пар-норасположенные кокки, овальной формы. В организме человека и животных образует капсулу. Неподвижны, спор не образуют, факультативные анаэробы, грамположительные. Хорошо растут на средах с добавлением крови.

Вирулентность стрептококков связана с веществом капсулы. По капсульному антигену пневмококки делятся на 85 сероваров. Большинство сероваров пневмококков — это нормальные обитатели верхних дыхательных путей. При ослаблении защитных сил организма они способны вызывать пневмонию.

Эпидемиология. Ежегодно по всему миру регистрируются около 500 тыс. случаев пневмококковых пневмоний. Наиболее часто это заболевание встречается у детей и лиц преклонного возраста. Основным источником инфекции являются больные и бактерионосители. Основной путь передачи — контактный, а в период вспышек — воздушно-капельный. Пик заболеваемости приходится на холодное время года (при переохлаждении организма снижаются его защитные силы).

Клинические проявления пневмонии. При крупозной пневмонии поражаются доли или все легкое. Заболевание начинается внезапно: повышается температура; озноб; сухой кашель и боли в грудной области. У пожилых людей, наоборот, заболевание развивается медленно, с нарушением сознания и признаками легочно-сердечной недостаточности.

После перенесенного заболевания у человека вырабатывается непродолжительный иммунитет.

Специфическая профилактика пневмонии отсутствует. Личная профилактика сводится к закаливанию организма.

Зеленящие стрептококки

Стрептококки этой группы чаще всего выделяют из полости рта и кишечника человека. Обитая в полости рта, микробы расщепляют углеводы или азотистые вещества пищи с образованием кислоты и щелочи. Избыточное накопление кислот способствует растворению зубной эмали, что приводит в результате к кариесу зубов. Наибольшую группу стрептококков, находящихся во рту, составляют *S. mitis* — они локализируются в щелях между десной и поверхностью зуба, что вызывает воспаление зубной пульпы, а при стоматологических манипуляциях (удаление зуба) может вызвать по-дострый эндокардит и другие осложнения.

Str. salivarius обитает в слюне и на спинке языка, вызывает кариес поверхности корня. *Str. sanguis* также вызывает кариес зубов.

Бактериальные эндокардиты развиваются при проникновении зеленящих стрептококков в кровотоки. Такие эндокардиты сопровождаются поражением сердечных клапанов. Поражения сопровождаются лихорадкой, потерей массы тела, потливостью и другими симптомами.

Лечение таких заболеваний не отличается от терапии, проводимой при других стрептококковых инфекциях.

Основные поражения человека, вызываемые стрептококками

Поражение

Возбудитель

Материал для исследования

Менингиты
Стрептококки групп А, В *S. pneumoniae*
Ликвор
Поражения кожи и мягких тканей
Стрептококки групп А, С, зеленящие стрептококки; *S. pyogenes*
Мазки из очагов поражений, гнойное отделяемое
Фарингиты
Стрептококки групп А и С, G
Мазки из зева
Неонатальный сепсис
Стрептококки группы В и О
Инфекции мочеполовой системы
Стрептококки группы В; аэрококки
Пневмонии
Стрептококки групп А и В; *S. pneumoniae*
Мокрота, кровь, плевральная жидкость
Отиты среднего уха
S. pneumoniae
Тимпаноцентез
Эндокардиты
Стрептококки В, С, G, D; *S. pneumoniae*; зеленящие стрептококки
Абсцессы легких, печени, головного мозга
Зеленящие стрептококки
Аспираты из очагов поражения
Кариес зубов, периодонтит
Зеленящие стрептококки; *S. mitis*, *S. salivarius*
Слюна, кариозная полость

Иммунитет после перенесения стрептококковых инфекций имеет нестойкий характер. Исключение составляет скарлатина. Также в литературе встречаются данные о том, что после перенесения стрептококковых инфекций у человека наступает аллергизация организма.

§ 3. Под *Neisseria*

Основными представителями этого рода являются возбудители менингококковой инфекции и гонореи. В этот род включены также непатогенные представители, встречающиеся в полости рта, носоглотки, верхних дыхательных путей. Как правило, это парнорасположенные кокки, но могут образовывать и скопления.

Все нейсерии грамотрицательные. Спор не образуют, жгутиков не имеют. Аэробы, могут быть и факультативными анаэробами. В организме человека образуют капсулу, имеют пили или микроворсинки, способствующие адгезии патогенных бактерий к эпителию. Каждый вид этого рода избирательно ферментирует углеводы.

Neisseria meningitidis — возбудитель менингококковой инфекции. Впервые этот вид бактерий был открыт Вексельба-умом в 1887 г., хотя упоминания об эпидемиях менингита встречаются в трудах древнегреческих врачей.

Морфологические и культуральные свойства. Менингококки — мелкие диплококки (0,7—0,8 мкм), в мазках напоминают кофейные зерна. Неподвижны, спор не образуют, грамотрицательны.

Менингококки хорошо растут на питательных средах с добавлением крови, молока или яичного желтка. В качестве источника углерода и азота менингококки используют аминокислоты — аспарагин, глутамин, глицин, поэтому их включают в среду культивирования. Элективная среда должна содержать ристомицин. Повышенная концентрация углерода стимулирует рост менингококков.

Резистентность. Во внешней среде менингококк нестойк, быстро погибает при отклонении температуры от 37°C. При температуре 55°C менингококк погибает через 3—5 мин. Плохо переносит охлаждение. При низкой температуре теряет способность к образованию колоний.

Бактерии также чувствительны к ультрафиолетовому облучению, к дезинфицирующим средствам. В 1 % растворе карболовой кислоты гибнет в течение 1 мин. Такое же действие оказывают 1 % раствор хлорамина, 70° спирт. Менингококки чувствительны к антибиотикам тетрациклинового ряда, эритромицину и др.

Эпидемиология. Основным источником менингококковой инфекции — больной человек или бактерионоситель. Возбудитель передается воздушно-капельным путем. Входными воротами бактерий является носоглотка, где возбудитель может длительно существовать, не вызывая заболевания (носительство). Менингококки встречаются на слизистых оболочках носоглотки у 5—10% здорового населения. Для менингококковой инфекции характерна цикличность заболеваемости. Отмечены подъемы заболеваемости каждые 10—12 лет. Наиболее восприимчивы к этой инфекции дети до трех лет, а возраст носителей менингококка превышает 20 лет.

Патогенез поражений. Основным фактором патогенности является капсула, которая защищает менингококки от клеток фагоцитов. Со слизистой носоглотки возбудитель распространяется дальше по лимфатическим и кровеносным сосудам. Поэтому основным путем распространения менингококка по организму — гематогенный. Менингококковая бактериемия сопровождается массовой гибелью возбудителей и выделением эндотоксина (менингококкцемия). Как правило, менингит развивается на фоне вирусных инфекций (грипп, ОРВИ), а также при снижении защитных сил организма. По кровеносным сосудам возбудитель проникает в оболочки спинного и головного мозга и вызывает в них гнойное воспаление — менингит.

Клинические проявления. Инкубационный период менингита — 2—7 дней. Менингит начинается остро. Отмечаются высокая температура, рвота, судороги, очень сильная головная боль, при которой даже больно моргнуть или просто повернуть голову. Заболевание длится несколько недель. Иногда развивается менингококковый сепсис.

После перенесенного заболевания у человека вырабатывается очень стойкий, длительный иммунитет.

Неспецифическая профилактика этого заболевания сводится к соблюдению санитарно-противоэпидемического режима в местах большого скопления людей.

Neisseria gonorrhoeae — является возбудителем венерического заболевания — гонореи.

Морфологические и культуральные свойства. Гонококк был открыт в 1879 г. Нейссером. Это парнорасположенные кокки, напоминают кофейное зерно, неподвижны, образуют капсулу. Для гонококков характерен полиморфизм: встречаются мелкие и крупные клетки, а также палочковидные формы. Хорошо красятся всеми анилиновыми красителями, грам-, но могут встречаться и грам+. Аэробы. Opt. рН 7,2— 7,4, требователен к питательным средам. Для культивирования применяют сывороточный, асцитический и кровяной агары. На кровяном агаре гемолиза не дают. Гонококки разлагают глюкозу с образованием кислоты и декстрозу. На плотных средах гонококки образуют мелкие колонии. На жидких средах растут диффузно с образованием пленки на поверхности.

Резистентность. Гонококки малоустойчивы во внешней среде. При 40°С погибают через 3—6 часов, при 56°С — в течение 5 минут. Не переносят охлаждения. Поэтому посев следует проводить сразу после забора материала от больного. Высокочувствителен к пенициллину. В процессе лечения быстро приобретает устойчивость к антибиотикам различных групп.

Эпидемиология. Гонореей болеет только человек. Животные невосприимчивы к этой инфекции, в отличие от человека. Единственный источник инфекции — больной человек. Основной путь передачи — половой, возможно инфицирование плода при прохождении через родовые пути матери. Таким путем гонококки могут попасть в конъюнктивальный мешок глаза новорожденного и вызвать там воспаление (бленнорея). Возможно также заражение гонококком через кровь, взятой у инфицированных лиц на раннем этапе заболевания (что случается крайне редко).

У человека гонококк колонизируется на эпителии мочеиспускательного канала, прямой кишки, конъюнктивы, шейки матки, маточной трубы и яичника. Гонококковая инфекция часто проявляется воспалением тазовых органов и бесплодием у женщин.

Патогенез поражений. Гонококк попадает на слизистые мочеполовых путей, там усиленно

размножается и проникает в подслизистую соединительную ткань. Хотя надо отметить, что попадание гонококков в организм не всегда приводит к развитию заболевания. В этом случае большое значение имеет вирулентность возбудителя, инфекционная доза, место проникновения и состояние иммунного статуса организма. Гонококки фагоцитируются лейкоцитами, размножаются в них и не перевариваются (незавершенный фагоцитоз).

Клинические проявления. Инкубационный период гонореи — 2—3 дня. Гонорея проявляется болями при мочеиспускании, выделением гноя из уретры. Чаще всего у женщин заболевание протекает бессимптомно, что делает женщин основными носителями инфекции. У мужчин бессимптомное течение гонореи практически не наблюдается.

При бленнорее новорожденных возникает гнойное воспаление глаз.

После перенесенного заболевания у человека остается непродолжительный, кратковременный иммунитет.

Профилактика гонореи сводится к санитарно-просветительной работе среди населения и своевременному выявлению больных. Специфическая профилактика не проводится.

§ 4. Практическая часть

Техника сбора материала от больного для бактериологического исследования

Выбор материала для лабораторного исследования определяется локализацией патологического процесса, особенностями патогенеза болезни и биологическими свойствами возбудителя.

Успех бактериологического исследования зависит от правильности забора материала. Патологический материал для бактериологического исследования рекомендуется брать у больного до начала специфического лечения, так как под влиянием сульфаниламидов, антибиотиков, иммунной сыворотки и других лечебных средств патогенные микробы изменяются и утрачивают способность к росту на искусственных питательных средах.

Взятие слизистого отделяемого полости носа

При взятии материала со слизистых оболочек носа, кожу в окружности наружных отверстий носа протирают ватой, смоченной 60° спиртом. После этого тампон вводят вглубь полости носа и снимают слизь со стенки носовой перегородки. Забирать материал из разных ноздрей можно одним тампоном.

Взятие слизи тампоном со слизистых оболочек зева

Больной должен широко открыть рот. Корень языка придавливают шпателем. Язык стараются придавить книзу и придвинуть кпереди. Тампон в полость рта вводят правой рукой, не касаясь поверхности языка, содержащего обильную микрофлору. Снимая налет и слизь с миндалин, дужек мягкого нёба и задней стенки глотки, обращают внимание на видимые измененные участки слизистой оболочки.

Взятие мокроты для микробиологического исследования

Для бактериологического исследования утреннюю порцию мокроты, выделяющуюся во время приступа кашля, собирают в стерильную склянку с хорошо подобранной пробкой. У детей, которые не умеют откашливать мокроту, искусственно вызывают кашель, раздражая корень языка тампоном.

Взятие испражнений для бактериологического исследования

Испражнения собирают в стерильные картонные тарелки или в подкладные судна и эмалированные лотки, предварительно обеззараженные раствором хлорной извести и затем многократно промытые горячей водой.

Стерильным деревянным шпателем из разных мест полученной порции кала отбирают 1—2 г испражнений, помещают их в пробирки или склянки с хорошо закрывающимися пробками. При наличии патологических включений (слизь, гной) последние обязательно вносят в посевной материал.

Патогенные кокки: стафилококки, стрептококки

Стафилококки

Материал для исследования:

- 1) гной из очагов поражения при гнойничковых заболеваниях кожи, фурункулах и т. д.;
- 2) кровь при подозрении на сепсис;
- 3) слизистое отделяемое зева и носоглотки при заболеваниях верхних дыхательных путей;

- 4) мокрота при пневмонии;
- 5) рвотные массы и промывные воды желудка.

Микробиологическая диагностика стафилококка

В лаборатории для диагностики стафилококковых заболеваний используют бактериологический метод исследования — посев патологического материала на питательные среды.

1-й день. 1. При исследовании гноя открытых ран, мокроты лучше всего пользоваться желточно-солевым агаром Чистовича или молочно-солевым агаром. Для засева солевых сред берется большое количество материала, который втирают в поверхность среды шпателем.

2. При посеве гноя из не вскрывшихся абсцессов можно пользоваться обычным мясопептонным или 3% кровяным агаром. Исследуемый материал наносят на питательную среду в количестве 1—2 капель и затем распределяют по всей поверхности чашки. Инкубация посевов при температуре 37°C длится 18—24 часа.

2-й день. Просматривают посевы исследуемого материала на МП А, молочно-солевым, желточно-солевым и кровяным агаре. Колонии стафилококка на плотных питательных средах круглые, слегка выпуклые, с ровными краями. По цвету колонии могут быть эмалево-белыми, лимонно-желтыми или золотистыми. На кровяном агаре вокруг колоний стафилококка может обнаруживаться гемолиз.

Из колонии с типичными для стафилококка признаками делают мазок для окраски по Граму. При наличии стафилококков под микроскопом видны характерные гроздевидные скопления кокков, окрашенных по Граму положительно.

3-й день. Просматривают посевы, сделанные накануне. По характеру роста на кровяном агаре стафилококки могут быть разделены на три группы. Гемолитически активные стафилококки образуют в течение 18—20 часов четкую зону гемолиза (агар становится совершенно прозрачным, бесцветным) шириной 2—3 мм. Слабо гемолитические стафилококки вызывают неполное просветление агара с шириной зоны 1—1,5 мм. Негемолитические стафилококки не изменяют кровяного агара.

4-й день. Из культур, выросших на скошенном мясопептонном агаре, после предварительной проверки на чистоту, ставят реакцию плазмокоагуляции.

Техника постановки реакции плазмокоагуляции

В стерильную преципитационную пробирку наливают 0,2—0,3 мл плазмы, разведенной 1:3 — 1:5 стер. физраствором. Агаровую культуру стафилококка вносят в плазму петлей. Пробирки выдерживают при температуре 37°C в течение суток. Штаммы стафилококка, продуцирующие фермент плазмокоагулазу, вызывают свертывание плазмы, вследствие чего она превращается в желеобразную массу. Свертывание плазмы обозначается знаком плюс (+).

Стрептококки

По характеру роста на кровяном агаре стрептококки делятся на три группы: р-гемолитические стрептококки, а-зе-ляющие стрептококки и у-стрептококки (не вызывают гемолиза на кровяном агаре). Единственным методом дифференциации патогенных и непатогенных стрептококков является серологический метод Ленсфилд. Ленсфилд обнаружила в клеточной стенке стрептококка поверхностно расположенный группоспецифический полисахаридный антиген, который позволил разделить гемолитические и зеленящие стрептококки на 17 групп, обозначенных условно заглавными буквами латинского алфавита от А до S. Наиболее изученной является группа А, объединяющая большинство штаммов, патогенных для человека.

Патологическим материалом для исследования на стрептококки являются:

- 1) налет и слизь с миндалин и слизистых оболочек зева при ангине и скарлатине;
- 2) гной из очагов поражения;
- 3) кровь при явлениях септического характера.

Схема микробиологического исследования на стрептококки

1-й день: материал засевают в чашки Петри с 3%-м кровяным агаром. Посевы выдерживают в термостате при температуре 37°C не более 20 часов.

2-й день: просматривают чашки. Штаммы стрептококков серологической группы А,

наиболее патогенные для человека, могут образовывать колонии трех видов:

а) мукоидные — крупные, блестящие, вязкой консистенции; б) шероховатые — мелкие, плоские, с шероховатой поверхностью, зернистой структурой, изрезанным краем; в) гладкие — глянцевые, мелкие колонии серовато-зеленого цвета.

Из колоний с признаками, характерными для стрептококка, готовят мазки для окраски по Граму.

Колонии, окруженные зоной гемолиза, снимают петлей и пересевают в бульон Мартена.

3-й день: просматривают рост стрептококка в бульоне Мартена. В жидких питательных средах при характерном росте стрептококка бульон остается совершенно прозрачным, и только на дне и стенках пробирки образуется крошковидный осадок беловато-кремоватого цвета. Характер роста обусловлен длиной цепочек: чем длиннее цепочки, тем лучше выражена зернистость.

Менингококки

Менингококк является возбудителем эпидемического цереброспинального менингита. Менингококки могут быть обнаружены и у здоровых людей — носителей менингококка.

При подозрении на менингит материалом для исследования служит спинномозговая жидкость (ликвор), получаемая при помощи пункции спинномозгового канала. Для микробиологического исследования требуется 5 мл ликвора.

При выявлении носителей менингококка исследуют отделяемое задней стенки носоглотки.

Исследование спинномозговой жидкости

1-й день: из ликвора, соблюдая правила стерильности, берут 1,5 мл жидкости. По внешнему виду ликвор может быть мутным или прозрачным, бесцветным или с примесью крови. Из мутного ликвора делают мазки и окрашивают их по Граму.

Ликвор засевают на питательные среды, содержащие в своем составе нативный белок. Посев производят тампонами методом отпечаток. Нанесенный таким образом материал распределяют по поверхности среды шпателем.

2-й день:

1) просматривают посеvy, сделанные накануне. Колонии менингококка круглые, слегка уплощенные, голубоватого цвета, с ровными краями;

2) из колоний, внешне похожих на менингококк, берут материал для микроскопирования. Мазки окрашивают по Граму. При микроскопировании в них обнаруживаются беспорядочно расположенные кокки, неравномерно окрашенные по Граму. Такой полиморфизм характерен для менингококков, выращенных на искусственных питательных средах;

3) колонии с культуральными признаками и морфологическими свойствами, типичными для менингококка, отсеивают в одну пробирку со скошенным мясопептонным агаром и в 2—3 пробирки с сывороточным агаром. Посевы инкубируют в термостате при 37°C.

3-й день:

1) просматривают посеvy. На поверхности сывороточного агара менингококки образуют нежный, влажный налет сероватого цвета;

2) с чистой культурой исследуемого микроба ставят реакцию агглютинации со специфическими агглютинирующими антименингококковыми сыворотками типов А и В (типы менингококка, имеющие преимущественное распространение на территории нашей страны). Процесс взаимодействия агглютининов с соответствующим антигеном происходит в течение 5—15 мин.

Гонококки

Гонококки являются возбудителями гонореи — гнойного воспаления слизистых оболочек мочеполового тракта и бленнореи — специфического поражения конъюнктивы глаз. Гонококки поражают только человека, животные обладают врожденной невосприимчивостью к гонококковой инфекции.

Материал для бактериологического исследования

При острой форме гонореи материалом для бактериологического исследования у мужчин служит отделяемое уретры, у женщин — отделяемое уретры, влагалища, шейки матки, которое берут тампоном из пораженного органа.

При хронической форме гонореи, а также к концу лечения острой гонореи, когда количество

выделений резко уменьшается или прекращается, у мужчин исследуют слизисто-гнойные нити или хлопья, содержащиеся в моче.

За 2 — 3 дня до взятия материала для бактериологического исследования больному гонореей не вводят антибиотики, антисептические средства и не делают спринцевания. Патологический материал тотчас после получения засевают на питательные среды, так как гонококки очень чувствительны к температурным колебаниям, высыханию и даже в гноynom содержимом гибнут в течение нескольких часов.

Схема бактериологического исследования на гонококки

К питательным средам гонококки очень требовательны. Для его выращивания применяют среды, содержащие нативный белок: человеческую кровь или сыворотку крови. Другим обязательным условием является достаточная влажность среды. Однако даже на свежеприготовленных питательных средах не всегда удается выделить культуру гонококка.

1. Микроскопия. Патологический материал, поступивший на исследование, микроскопируют. Из каждого образца материала готовят не менее двух мазков. Окраска по Граму имеет основное дифференциально-диагностическое значение для распознавания гонококка. В мазке должны обнаруживаться парно расположенные кокки бобовидной формы, обращенные друг к другу вогнутыми сторонами и не соприкасающимися между собой. В мазках, окрашенных по Граму, гонококки грам~.

2. Бактериологическое исследование патологического материала на гонококки:

1-й день: патологический материал от больного с подозрением на гонорею засевают немедленно после его получения на свежеприготовленные среды.

Материал, нанесенный на плотную питательную среду, втирают шпателем для получения изолированных колоний гонококка. Чашки с посевами помещают на 24 часа в термостат при 36—37°C.

2-й день: просматривают засеянные чашки. Колонии гонококка на поверхности питательных сред напоминают собой капельки росы, прозрачные, голубоватого цвета, с гладкой блестящей поверхностью, ровными краями.

Из колоний, характерных для гонококка, делают мазки и окрашивают их по Граму.

Дифференциальная диагностика гонококков

Гонококки приходится дифференцировать с менингококком, а также другими грамтрицательными диплококками, обитающими на слизистых оболочках верхних дыхательных путей.

При дифференциации гонококка прежде всего следует уточнить место, откуда выделен диплококк: гонококки, как отмечено выше, обнаруживаются преимущественно на слизистых оболочках мочеполового тракта, при поражении глаз — на слизистой оболочке конъюнктивы.

Глава 9 Сем. *Vibrionaceae*

§1. Под *Vibrio*

Представители этого семейства — изогнутые палочки, подвижные, температурный оптимум для большинства видов 37°C. Некоторые виды патогенны для беспозвоночных и млекопитающих.

В род *Vibrio* включены прямые и изогнутые палочки, подвижность обусловлена одним или несколькими жгутиками. Вибрионы распространены в пресных и соленых водоемах. Патогенны для животных и человека. Типовой вид — *V. cholerae*.

Vibrio cholerae — возбудитель холеры.

Возбудителями холеры являются: биовар классического холерного вибриона, описанного впервые в 1854 г. Ф. Панини и подробно исследованного Р. Кохом в 1883 г., и биовар холерного вибриона Эль-Тор, выделенного из трупов паломников на карантинной станции Эль-Тор в Египте (1906 г.). Эти два биовара являются возбудителями холеры у человека. Существует еще 2 биовара: *V. cholerae proteus* — вызывает понос у птиц, у людей — гастроэнтерит, и *V. cholerae albensis* — обнаружен в воде, испражнениях и желчи человека.

Морфологические и культуральные свойства. Холерный вибрион — это изогнутая палочка, в виде запятой, имеет один жгутик, спор и капсул не образует, грам~. Под влиянием различных факторов вибрионы подвержены изменчивости. Типичные формы обычно

выделяют из патологического материала. Подвижность бактерий определяют методом висячей или раздавленной капли.

Холерный вибрион — быстрорастущий микроорганизм, на пептонной воде, уже через 8 ч после посева виден рост культуры невооруженным глазом.

На твердых средах вибрион образует небольшие круглые, голубоватые в проходящем свете колонии. Колонии маслянистые по консистенции, легко снимаются петлей. На скошенном агаре холерный вибрион образует желтоватый налет. На жидких средах образует равномерное помутнение с нежной пленкой на поверхности. При выфашивании холерных вибрионов используют питательные среды с рН — 8,3—9,0.

Ферментативные свойства — сбраживают сахара с образованием кислоты (глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, маннозу, маннит); разжижают свернутую сыворотку, желатин, образуют индол, аммиак, молоко свертывают постоянно. Гемолитическая активность и гемагглютинирующие свойства являются нестабильными признаками и учитываются как второстепенные данные в идентификации микробов рода *Vibrio*.

Антигенная структура. У холерных вибрионов имеются О- и Н-антигены. Н-антиген (жгутиковый) — термолabileльный, О-антиген — термостабильный, специфический для всех вибрионов, имеет 5 компонентов: А, В, С, D, Е. А-компонент присущ всем холерным вибрионам. Разные сочетания присущи сероварам Огава (АВ), Инаба (АС), Хикоджима (АВС). По структуре О-антигена выделяют 139 серогрупп, возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор объединяют в О1. Холероподобные вибрионы не агглютинируются О1-антисывороткой, их называют неагглютинирующимися или НАГ-вибрионами. Они обнаруживаются у больных и вибрионосителей. Полагают, что НАГи являются следствием изменчивости холерных вибрионов, которые утрачивают не только агглютинабельность, но и другие биологические свойства. НАГи сходны с холерными вибрионами по морфологическим культуральным свойствам, но не обладают общими с ними О- и Н-антигенами.

Резистентность. Очень устойчивы к низким температурам, в воде сохраняются до 5 суток, в почве — до 2 месяцев, в испражнениях до 5 месяцев. Холерный вибрион Эль-Тор обладает большей устойчивостью в окружающей среде, чем классический холерный вибрион.

При действии солнечного света холерные вибрионы погибают через несколько часов. При кипячении гибнут сразу. Также, чувствительны к дезрастворам, особенно к кислотам (внутренняя среда желудка человека является хорошим защитным барьером против холерного вибриона).

Эпидемиология. Холера — это острая кишечная инфекция. Вибрионы передаются от больных и носителей через пищу, воду, мух и грязные руки, что характерно для всех кишечных инфекций. Поскольку существуют скрытые формы течения болезни, выделение возбудителя в окружающую среду обуславливает его постоянную циркуляцию.

Наиболее предрасположены к холере лица, проживающие в неблагоприятных условиях (отсутствие питьевой воды) и не соблюдающие правил личной гигиены. Чаще всего подъем заболеваемости отмечают в летне-осенний сезон.

Патогенез поражений. Микробы проникают через рот в тонкий кишечник. Кислая среда желудка губительно действует на холерный вибрион, но в ряде случаев этот барьер нарушается вследствие действия различных факторов, нейтрализующих или снижающих бактерицидные свойства желудочного сока. Небольшая часть все же достигает тонкой кишки, где щелочная среда является благоприятной для размножения возбудителей. Жгутики холерных вибрионов обеспечивают колонизацию возбудителей в организме. Холерный вибрион вырабатывает токсины: эндотоксин и экзотоксин. Эндотоксин не играет существенной роли в развитии болезни. Под действием экзотоксина (холерогена) в просвет кишки выделяется изотоническая жидкость, состоящая из H₂O, Cl, Na, K, HCO₃. В сутки при разных формах заболевания может секретироваться 10—20—30 литров жидкости, которая обратно не всасывается, что приводит к обезвоживанию организма.

Клинические проявления. Инкубационный период холеры от нескольких часов до 2—3 суток. У большинства инфицированных заболевание протекает бессимптомно либо возможна легкая диарея. При клинически выраженных случаях заболевание характеризуется

общим недомоганием, болями в животе, диареей, рвотой. Испражнения имеют характерный вид «рисовый отвар» и «рыбный» запах. В развитии болезни различают несколько форм заболевания:

Степень дегидратации

Форма заболевания

Потеря жидкости к весу тела, в% легкая средней тяжести тяжелая холерный алгид

В тяжелой форме заболевания у больного начинается гиповалемический шок, что приводит к понижению артериального давления, сердечной недостаточности и нарушению сознания. В IV степени дегидратации резко снижается температура тела до 35—34°C, больные уже находятся без пульса и давления. В этой стадии прекращается понос и рвота, начинается учащенное, резкое дыхание, черты лица заостряются.

Продолжительность этих проявлений зависит от своевременно проведенного лечения. При отсутствии лечения больной может умереть.

После перенесенного заболевания остается непродолжительный иммунитет, возможны случаи повторного заражения.

Профилактика холеры направлена на выполнение санитарно-гигиенических требований и проведение карантинных мероприятий. Для специфической профилактики применяют холерную убитую вакцину и холерную комбинированную вакцину, состоящую из двух компонентов — О-антигена холерного вибриона и холерогена-анатоксина.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования являются испражнения, желчь, рвотные массы, секционный материал, вода, сточные воды, смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты и т. д.

Лучше всего брать патологический материал от больного до начала антибактериальной терапии. Для посева используют жидкие среды обогащения, щелочной МП А, элективные и дифференциально-диагностические среды.

Исследование проводят в несколько этапов.

I этап. Материал засевают в пептонную воду на 6—8 часов, на щелочной агар или на одну из элективных сред.

II этап. Через 6—8 часов после начала исследования изучают характер роста в пептонной воде, откуда высевают возбудителя на щелочной агар и вторую среду накопления.

III этап. Через 14 часов после начала исследования изучают рост на второй среде накопления, производят высев со второй среды накопления на щелочной агар. С чашек отбирают колонии для дальнейшего исследования и пересевают их на среду Кл игл ера.

IV этап. Через 18—24 часа после начала исследования отбирают подозрительные колонии с применением пробы на индофеноксидазу (с помощью реагента или индикаторных бумажек). Подозрительные колонии исследуют в реакции агглютинации на стекле с 01-антисывороткой, а также с сыворотками Огава и Инаба.

Из культур готовят мазки для окрашивания по Граму и далее проводят биохимическую идентификацию выросших бактерий.

7. Зак. 361

Правила забора материала от больного холерой

Сбор материала производится в стерильную стеклянную посуду со средой обогащения (щелочная 1 % пептон-ная вода) при помощи ватных тампонов. Исследуемый материал следует брать до назначения АБ, так как через 1—2 часа после их приема количество вибрионов уменьшается, а через 1—3 суток вообще не обнаруживается.

Количество материала зависит от клинических проявлений. При тяжелой форме— 0,1—0,5мл на 50мл пеп-тонной воды, при легкой — 1—2 г испражнений.

При исследовании на вибриононосительство — предварительно солевое слабительное (чтобы получить жидкие испражнения из верхних отделов кишечника).

В лабораторию материал доставляют не позже, чем через 3 часа от момента забора, положительный ответ можно получить через 18—48 часов.

Глава 10 Воздушно-капельные инфекции

§ 1. Род *Mycobacterium*

В состав рода включены тонкие, ветвящиеся палочки; спирто-кислото-щелочеустойчивые,

аэробные, грам+ бактерии. В род микобактерий входят возбудители туберкулеза и лепры, а также сапрофитов, распространенных в окружающей среде. Из патогенных микобактерий выделено 5 групп: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. leprae*, *M. lepraemirium*.

M. tuberculosis — Микобактерий туберкулеза человека были открыты Р. Кохом в 1882 г. В честь этого открытия возбудитель туберкулеза до сих пор называют палочкой Коха. Это заболевание известно людям с древних времен. Легочная форма была описана древнегреческим врачом Гиппократом. Тогда эта болезнь не считалась инфекционной, а врач арабского Востока Авиценна считал ее наследственной. Первым связь легочных бугорков с чахоткой увидел Сильвий.

В XVIII—XIX вв. туберкулез унес многие жизни, в том числе и выдающихся деятелей того времени — А.П. Чехова, Н.А. Некрасова, Моцарта, Шопена. Инфекционная природа туберкулеза впервые была доказана Вильмёном (1865 г.), а Р. Кохом был выделен возбудитель в чистом виде.

Морфологические и культуральные свойства. Микобактерии туберкулеза характеризуются полиморфизмом. Это тонкие, длинные, слегка изогнутые палочки. Иногда имеют небольшие вздутия на концах. В молодых культурах палочки более длинные, а в старых склонны к простому ветвлению. Иногда образуются короткие, толстые палочки. Неподвижны, грамположительны, не образуют спор и капсул. Микобактерии в связи с высоким содержанием миколовой кислоты и липидов в клеточной стенке плохо окрашиваются обычными методами, поэтому для их выявления применяют окраску по Цилю—Нильсену: палочки окрашиваются в ярко-красный цвет на голубом фоне.

На поверхности клеток имеются микрокапсулы. Электронной микроскопией на концах клеток выявлено наличие гранул и вакуолей. Цитоплазма молодых культур гомогенная, старых — зернистая. Кислотоустойчивость объясняется наличием у туберкулезных микобактерий большого количества миколовой кислоты и липидов.

Туберкулезная палочка — это очень медленно растущий микроорганизм; требовательна к питательным средам, глицеринзависима. Аэробы, но способны расти и в факультативно анаэробных условиях. Крайние температурные пределы 25—40°C, opt — 37°C. Реакция среды почти нейтральная (рН 6,4—7,0), но может расти в пределах рН 4,5—8,0. Для лучшего роста микобактерий в среды добавляют витамины (биотин, никотиновая кислота, рибофлавин), а также ионы (Mg^{2+} , K^{+} , Na^{+} , Fe^{2+}). Для выращивания часто используют плотные яичные среды, глицериново-картофельный агар, а также синтетические и полусинтетические жидкие среды (например, жидкая среда Сотона). На жидких средах туберкулезная палочка образует через 5—7 суток сухую морщинистую пленку, поднимающуюся на края пробирки. Среда при этом остается прозрачной. На плотных средах туберкулезная палочка образует колонии кремового цвета, напоминающие цветную капусту, крошковатые, плохо снимаются бактериологической петлей. Этот рост наблюдают на 14—40-е сутки.

Антигенная структура. Реакциями агглютинации и связывания комплемента установлено несколько видов микобактерий: млекопитающих, птиц, холоднокровных, сапрофитов.

Человеческий вид серологически не отличается от бычьего и птичьего видов. Антиген микобактерий туберкулеза содержит протеины, липиды, фосфатиды и полисахариды. Туберкулин считают антигеном, который при действии на инфицированный туберкулезом организм вызывает местную, очаговую аллергическую реакцию (проба Манту).

Резистентность. По сравнению с другими неспорообразующими палочками микобактерий туберкулеза очень устойчивы во внешней среде. В проточной воде они могут сохранять жизнеспособность до 1 года, в почве и навозе — 6 мес., на различных предметах — до 3 мес., в библиотечной пыли — 18 мес., в высушенном гное и мокроте — до 10 мес. При кипячении палочка Коха погибает через 5 мин, в желудочном соке — через 6ч, при пастеризации — через 30 мин. Микобактерии чувствительны к солнечному свету и активированным растворам хлорамина и хлорной извести.

Эпидемиология. Заболевание туберкулезом носит пандемический характер и распространено повсеместно. Источником инфекции *M. tuberculosis* является больной человек, основной путь заражения — аэрогенный. Человек очень восприимчив к этому заболеванию.

Подавляющее большинство населения рано или поздно заражается туберкулезом, но в большинстве случаев заражение вызывает небольшие изменения без склонности к прогрессирующему развитию болезни. Они даже ведут к повышению устойчивости организма—к специфическому иммунитету. Несмотря на это, во всем мире растет заболеваемость туберкулезом. Ежегодно в мире заболевают туберкулезом более 8 млн человек, 95% из них — жители развивающихся стран. В 1991 г. Генеральная Ассамблея Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) была вынуждена констатировать, что туберкулез является международной и национальной проблемой здравоохранения не только в развивающихся, но и в экономически развитых странах. Ежегодно от туберкулеза умирают 3 млн человек, в ближайшие 10 лет могут умереть 30 млн больных. Поэтому сложившаяся ситуация была охарактеризована ВОЗ как кризис глобальной политики в области туберкулеза.

Наблюдаемое в настоящее время в РФ прогрессирование заболеваемости связано с ухудшением социально-экономических условий жизни населения, резко обозначившееся в период 1991—1992 гг., — и сопутствующим дисбалансом в питании (уменьшение потребления белковых продуктов), а также с многочисленными стрессовыми ситуациями, связанными с военными действиями; наплывом беженцев из других республик бывшего СССР. Особую роль в инфицировании туберкулезом играет скученность населения — следственные изоляторы, лагеря беженцев, лица «без определенного места жительства». Растет заболеваемость среди «благополучных» слоев населения, имеющих контактные специальности: врачи, учителя, студенты, школьники. Заболеваемости способствует сокращение объема работы по профилактике и раннему выявлению туберкулеза, ухудшение качества и охвата профилактическими осмотрами. В связи с сокращением объемов ранней выявляемое™ туберкулеза, стал расти резервуар туберкулезной инфекции в обществе — запущенные, трудно поддающиеся лечению формы заболевания, особенно вызванные лекарственно устойчивыми мико-бактериями.

Патогенез поражений. Туберкулез у человека вызывается двумя основными видами микобактерий — человеческим (*M. tuberculosis*) и бычьим (*M. bo vis*), реже микобактериями птичьего типа (*M. avium*). Заражение происходит воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем, иногда через рот, при употреблении пищевых продуктов, инфицированных туберкулезными микобактериями, через кожу и слизистые.

Возможно внутриутробное инфицирование плода через плаценту.

При аэрогенном заражении первичный инфекционный очаг развивается в легких, а при алиментарном — в мезентеральных лимфатических узлах. В развитии болезни выделяют первичный, диссеминированный и вторичный туберкулез, который является эндогенной реактивацией старых очагов. При низкой сопротивляемости организма и неблагоприятных социальных условиях из места первичной локализации возбудитель может распространиться по всему организму и вызвать генерализованную инфекцию.

В месте проникновения микобактерий или участках, наиболее благоприятных для размножения бактерий, возникает первичный туберкулезный комплекс, состоящий из воспалительного очага (в легких это пневматический очаг под плеврой), пораженных регионарных лимфатических узлов и «дорожки» измененных лимфатических сосудов между ними. Диссеминация микробов может происходить бронхо-, лим-фо- и гематогенно.

Образование первичного комплекса характеризуется развитием гранул в виде бугорков (бугорчатка или туберкулез). Образование гранул не имеет характерных особенностей и представляет собой клеточную реакцию. Микобактерий окружают лейкоциты и все это скопление окружено эпителиоидными и гигантскими (многоядерными) клетками. Наиболее часто первичный очаг наблюдают в легких (очаг Гона). При хорошей сопротивляемости организма, микобактерий могут находиться в бугорке несколько лет или всю жизнь. В большинстве случаев первичные очаги заживают с полной деградацией содержимого, его кальцификацией и фиброзом паренхимы. При снижении иммунитета первичные очаги активизируются и прогрессируют с развитием вторичного процесса. Такая реактивация обычно происходит через 20—25 лет после первичного инфицирования; обычно ее провоцируют стрессы, нарушение питания и общее ослабление организма. По статистике,

80% людей заболевают леточной формой туберкулеза, остальные 20% — туберкулезом других органов и тканей (диссеминированный туберкулез). Встречаются поражения туберкулезом гениталий, костей и суставов, кожи и др.

Клинические проявления. Инкубационный период при туберкулезе сравнительно продолжительный — от нескольких недель до 5 лет. Заболевание может развиваться остро: резкая одышка, боли в грудной области. Реактивный туберкулез проявляется кашлем, иногда с кровохарканьем; снижением массы тела; ночным потоотделением; субфебрильной температурой тела. Симптомов, специфичных только для туберкулеза, нет, так как туберкулез характеризуется многообразием клинических форм, анатомических изменений.

Иммунитет. Иммунитет при туберкулезе нестерильный, обусловлен наличием в организме Z-форм микобактерий. Приобретенный иммунитет является следствием активации Т-клеток с помощью антигенов микобактерий туберкулеза. Поэтому исход болезни определяется активностью клеточных факторов иммунитета.

Одним из факторов защиты являются бактериофаги, оказывающие действие как на вирулентные, так и на авирулентные штаммы туберкулезных палочек.

Методы диагностики туберкулеза:

1. Микроскопирование. Этот метод прост, доступен, позволяет быстро дать ответ. В мазках, окрашенных по Цилю— Нильсену, можно выявить красные палочки на голубом фоне. Недостатком этого метода является его небольшая чувствительность (ввиду очень медленного роста микобактерий могут не попасть в мазок, их можно выявить при содержании 100 000—500 000 микобактерий в 1 мл материала).

2. При отрицательном микроскопировании применяют микробиологический метод: высевают исследуемого материала на питательные среды (обычно Левенштайна—Йенсена).

Для простоты выделения в среды добавляют антибиотики, подавляющие рост сопутствующих микроорганизмов. Достоинство этого метода заключается в возможности получения чистой культуры, что позволяет ее идентифицировать и определить чувствительность к лекарственным препаратам. Недостаток — медленный рост палочки Коха (от 4 до 14 недель).

3. Обязательным методом обследования является туберку-линодиагностика, основанная на определении чувствительности организма к туберкулину. Микобактерий содержат эндотоксины, которые освобождаются при распаде клеток. Р. Кох в 1890 г. выделил этот токсин и назвал «туберкулином». Имеется несколько препаратов туберкулина. «Старый» туберкулин Коха представляет собой 5—6-недельную культуру в глицериновом бульоне, стерилизованную текучим паром (100°C) в течение 30 с, выпаренную при 70°C до 1/10 первоначального объема и профильтрованную через фарфоровые свечи. «Новый» туберкулин Коха — высушенные микобактерий туберкулеза, растертые в 50% глицерине до получения гомогенной массы. Туберкулин из микобактерий бычьего типа (*M. bo vis*) содержит белки, жирные кислоты, липиды. Для постановки реакции Манту (предложена французским ученым в 1908 г.) применяется «новый» туберкулин Коха. Эта реакция ставится внутрикожно. При положительной реакции через 48 часов (у пожилых лиц — через 72 ч) в месте введения образуется папула диаметром 10 мм с гиперемическими краями. Следует знать, что не всегда положительный результат является признаком активного процесса туберкулеза, равно как и отрицательная реакция Манту не всегда указывает на отсутствие процесса, так как у больных с иммунодефицитами реакция обычно отрицательна.

4. Для раннего выявления больных туберкулезом используется рентгенологический (флюорографический с 15 лет) метод диагностики. По действующим директивным документам периодичность его проведения определяется эпидемиологической ситуацией по туберкулезу и группами населения, подлежащего осмотру.

Профилактика туберкулеза обеспечивается путем ранней диагностики, своевременного выявления больных и их диспансеризации, обезвреживания молока и мяса больных животных. Профилактика заключается в проведении социальных мероприятий (улучшение условий труда и быта населения, повышение его материального и культурного уровня).

Для иммунопрофилактики используется вакцина БЦЖ — аттенуированные микобактерии бычьего типа. В России вакцинацию проводят всем новорожденным. В США — только в

группах повышенного риска. Иммунизация, как средство профилактики туберкулеза, не оптимальна, и чем более серьезнее складывается эпидситуация по туберкулезу, тем она менее эффективна. Введение последующих ревакцинаций БЦЖ в более старшем возрасте не оказывает влияния на заболеваемость. Поэтому самое главное в специфической иммунизации — это защитить детей. После вакцинации на некоторое время отказываются от постановки кожных проб для предупреждения гиперреактивных осложнений (некротические реакции и т. д.).

M. bovis — вызывает туберкулез у крупного рогатого скота и в 5% случаях у человека. Крупный рогатый скот заражается туберкулезом аспирационно, при вдыхании инфицированной пыли, а также алиментарно — через зараженные корм и воду. Бацилловыделение с молоком часто происходит даже у животных, у которых нет клинически выраженных изменений. В связи с этим большое значение имеет инфицирование человека молоком или молочными продуктами, полученных от больных животных.

Особую опасность туберкулез крупного рогатого скота и птиц представляет для работников животноводства и птицеводства, мясокомбинатов, убойных пунктов, среди которых туберкулез носит выраженный профессиональный характер.

Поражения у людей отличает склонность к осложнениям, генерализации, экссудативным реакциям и бронхогенному метастазированию. Морфологически не отличается от *M. tuberculosis*. Методы выделения возбудителя также аналогичны микобактериям человеческого типа. *M. bovis* выделяют у 60 видов млекопитающих, но эпидемиологическую опасность представляют крупный рогатый скот, верблюды, козы, овцы, свиньи, собаки и кошки.

Схема выделения микобактерий туберкулеза

Люми-л 'несцентная'4 микроскопия

Бактериологический метод

M. leprae — возбудитель проказы (лепры или болезни Хансена).

Проказа известна с древности. В средние века она поражала целые селения. К проказе относились с мистическим ужасом, она всегда была окутана покровом тайны. Проказа становилась основой многих литературных сюжетов. О прокаженных писали Стивенсон, Конан-Дойль, Джек Лондон. В средневековой Европе прокаженные отсекались от мира здоровых людей. Необходимость изоляции и сейчас остается основным условием борьбы с проказой. При диагнозе «проказа» человек вынужден порвать с прежней жизнью и поселиться в лепрозории. Начиная с XIV в. заболеваемость проказой в Европе резко снизилась, и сейчас проказа встречается в нескольких странах в виде спорадических случаев. В настоящее время в мире насчитывается около 2 млн больных проказой. Возбудитель открыт норвежским ученым Хансеном (1873 г.).

Морфологические и культуральные свойства. Палочки лепры прямые или изогнутые, концы могут быть заостренными или утолщенными, неподвижные, спор и капсул не образуют, спирте-, кислотоустойчивые, грамположительные.

M. leprae трудно выращивать на питательных средах. Культуры развиваются очень медленно (6—8 недель), образуют колонии в виде сухого морщинистого налета.

Эпидемиология проказы до конца не изучена. Избирательность заражения не поддается логике. В медицинской литературе описывают случай, когда за больным проказой отцом ухаживала старшая дочь, а заболели средняя и младшая, которые меньше всех контактировали с больным. Поэтому в каждом конкретном случае невозможно выявить путь заражения.

Резервуар инфекции — больной человек. Предположительно заражение происходит контактным путем или воздушно-капельным. Основным способом борьбы с проказой остается изоляция больных. Ведущая роль в распространении инфекции принадлежит социально-экономическим факторам, о чем свидетельствует высокая заболеваемость в странах третьего мира. В России уровень заболеваемости невысокий. В Липецкой, Иркутской, Ленинградской областях — по 1 больному, в Ростовской области — 70 человек (Дон является эндемичной по проказе территорией — еще с тех времен, когда казаки отправлялись в дальние походы).

Патогенез поражений. Проказой болеют только люди, поэтому источник болезни — больной человек. Патогенез обусловлен образованием бугорков (по типу туберкулезных) в различных органах и тканях, куда возбудитель попадает с током крови и лимфы. При хорошей сопротивляемости организма болезнь протекает латентно и может не проявляться в течение жизни. Вероятность заболевания зависит от иммунного статуса организма человека. Тяжелой формой заболевания считается лепро-матозная.

Клинические проявления. Инкубационный период — от 3 до 5 лет, иногда затягивается до 20 лет. В начале заболевания общие симптомы интоксикации: лихорадка, слабость, боли в костях и др. Появляются поражения кожи в виде высыпаний, которые представляют четко ограниченные пятна (леприды) разной окраски и размеров. Потом возникают другие симптомы: отсутствие чувствительности к высокой или низкой температуре, к боли.

Если поражения локализуются на лице, то у больных отмечают выпадение бровей и ресниц, а сплошные инфильтраты придают вид «львиного лица», у больного пропадает голос.

Лабораторная диагностика. Материал от больного получают энергичным соскобом слизистой носа, пункции увеличенных лимфатических узлов. Диагностика осуществляется микроскопированием. Мазки окрашивают по Цилю—Нильсену. Также для диагностики применяют ложную пробу с аллергеном *M. leprae* (лепроминовая проба), которая всегда отрицательна при поражениях лица. Это связано с отсутствием клеточных иммунных реакций.

Схема выделения возбудителя лепры ЛЕПРА

Экспресс-метод

'Соскоб со слизи-4* ^стой оболочки носа, 1 пунктах или гистологический срез лепрозных узлов, к отделяемое язв, и др.

Окр. по Цилю—л Нильсену

Метод выявления гиперчувствительности

Проба с лепромином

Лечение. В медицинских кругах бытуют легенды об ученых, прививавших себе лепру, чтобы опробовать испытываемые средства спасения. Однако эксперименты не увенчались успехом: препарата, победившего проказу, нет до сих пор. Часто интенсивная химиотерапия проводится на протяжении всей жизни больного проказой. Основные препараты — сульфоны, рифампицин, клофазилин.

§ 2. Род *Corinebacterium*

К роду *Corinebacterium* относятся бактерии, имеющие булавовидные утолщения на концах, патогенные для человека и животных, растений и непатогенные коринебактерии (дифтероиды).

Морфологические и культуральные свойства. *Corinebacterium diphtheriae* (от лат. *corina* — булава, *diphthera* — кожа) — это прямые или слегка изогнутые палочки, полиморфные, хорошо окрашиваются по полюсам. Спор не образуют, жгутиков не имеют, имеют микрокапсулу. У дифтерийных бактерий имеются булавовидные утолщения по концам. По консистенции это желеобразная масса. Впервые был выделен у спириллы. В мазках палочки располагаются под углом, напоминая вид растопыренных пальцев. Грамположительные. Аэробы или факультативные анаэробы. Opt t роста — 37°C, pH среды 7,2—7,6. Хорошо растут на средах, содержащих белок (кровяной агар, свернутая сыворотка, сывороточный агар). На кровяном агаре образует небольшие, круглые колонии с ровными краями, сероватого цвета. На теллуритовом агаре образуют крупные, шероховатые (R-формы) розеткообразные колонии черного или серого цвета.

По культуральным и биологическим свойствам корине-бактерии дифтерии подразделяются на три биовара: *gravis*, *mitis* и *intermedius*.

Ферментативные свойства. Дифтерийные палочки не свертывают молоко, не разлагают мочевины, не выделяют индол, сероводород выделяют слабо. Ферментируют глюкозу и мальтозу.

Токсинообразование. Коринебактерии дифтерии вырабатывают очень сильный экзотоксин. Нетоксигенные штаммы не вызывают заболевания. Токсигенность коринебактерий дифтерии связана с лизогенностью (наличие в токсигенных штаммах умеренных фагов —

профагов). Дифтерийный экзотоксин — это сложный комплекс, который проявляет все свойства экзотоксина — термолабильный, высокотоксичный, обладает специфическим действием на организм (поражает сердечную мышцу, надпочечники и нервную ткань). При действии 0,4% формалина, в течение месяца, при 40°C токсин переводится в анатоксин, который затем используют для иммунопрофилактики дифтерии (АДС, АКДС). Токсин не устойчив во внешней среде, разрушается под действием света, O₂, при нагревании до 60°C. Активность токсина выражают в единицах Dim (Dosis letalis minima — минимальная смертельная доза). 1 ED Dim дифтерийного токсина равна наименьшей концентрации, убивающей морскую свинку массой 250 г на 4—5-е сутки.

Антигенная структура. На основании строения О- и К-антигенов различают 11 сероваров возбудителя дифтерии, которые установлены путем реакции агглютинации.

Резистентность. Возбудители дифтерии достаточно устойчивы к различным факторам внешней среды. При комнатной температуре на различных предметах могут сохраняться от 1 до 2 месяцев. При нагревании до 60°C и действии 1% раствора фенола погибают через 10 мин. Коринебактерии устойчивы к низким температурам и высушиванию.

Патогенез поражений. Входные ворота дифтерии — слизистые оболочки носоглотки, глаз и реже кожа. На месте внедрения возбудителя образуется дифтеритическая пленка серовато-желтого цвета, которая с трудом отделяется от подлежащих тканей. Этот процесс сопровождают регионарные лимфадениты. Если дифтеритическая пленка разрастается, воспалительный процесс со слизистой глотки распространяется на гортань и бронхи, это может привести к асфиксии. Дифтерийные бактерии вырабатывают очень сильный экзотоксин, при попадании его в кровь развивается токсинемия. Токсин поражает сердечную мышцу, надпочечники, почки. Человек может умереть от паралича сердца.

Клинические проявления дифтерии зависят от места внедрения возбудителя. Различают дифтерию зева (80—90% случаев), дифтерию носа, кожи, глаз, половых органов и др. Инкубационный период составляет от 2 до 10 дней. Наиболее восприимчивы к дифтерии дети от 1 до 7 лет. Заболевание начинается с повышения температуры тела, боли при глотании, появлении пленки на миндалинах, увеличения лимфатических узлов.

После перенесения дифтерии у человека вырабатывается длительный иммунитет.

Профилактика. Профилактика этого заболевания заключается в ранней диагностике и госпитализации больных, выявлении бактерионосителей.

Специфическую профилактику проводят путем введения в организм дифтерийного анатоксина, который входит в состав комбинированных вакцин: АКДС, АДС и АДС-М. Иммунизацию проводят начиная с 3-месячного возраста, далее повторную ревакцинацию как детям, так и взрослым (см. календарь прививок).

Классификация дифтерии по анатомической локализации

I. Дифтерия ротоглотки:

1. Локализованная — 75%:

а) островчатая; б) пленчатая.

2. Распространенная — 7—10%. Клинические 3. Токсическая 20%:

формы: а) субтоксическая; б) токсическая I ст. тяжести; в) токсическая II ст. тяжести; г) токсическая III ст. тяжести; д) гипертоксическая.

II. Дифтерия дыхательных путей:

1. Дифтерия гортани (круп локализованный);

2. Дифтерия гортани и трахеи (круп распространенный);

3. Дифтерия гортани, трахеи и бронхов (нисходящий круп);

4. Дифтерия носа:

а) катаральная форма; б) пленчатая форма; в) токсическая форма.

III. Другие локализации дифтерии:

1. Дифтерия глаза (конъюнктивальная форма):

а) катаральная; б) пленчатая; в) токсическая.

2. Дифтерия слизистой оболочки рта:

а) дифтерия щёк; б) подъязычной области; в) языка; г) губы.

3. Дифтерия половых органов (анально-генитальная).

4. Дифтерия пищевода.

5. Дифтерия кожи.

Схема выделения возбудителя дифтерии метиленовым (по Леффлеру), кристалл — фиолетом по Граму

Пленка, отделяемое носоглотки, глаз, ушей, уретры, раны и др

Бактериологический метод

Кровяно-теллуритовые среды, среда Бунина, среда Клауберга и др.

Среда накопления

Чистая культура метиленовым

(по Леффлеру), кристалл — фиолетом по Граму

Ферментативные свойства

§ 3. Род *Bordetella*

Bordetella pertussis — возбудитель коклюша, был выделен от больных коклюшем в 1906 г. Т. Борде и О. Жангу.

Морфологические и культуральные свойства., Возбудители коклюша — мелкие палочки овоидной формы (кокко-бациллы), грам~, слабо окрашиваются анилиновыми красителями. Имеют капсулоподобную оболочку и включения во-лютина. Спор и жгутиков не имеют. Аэробы. Opt t — 37°C. На простых средах растут плохо. Для первичного выделения бордетелл используют агар Борде—Жангу и КУА. Повышенное содержание CO₂ способствует ускорению роста этих возбудителей. На агаре Борде—Жангу с добавлением крови бор-детеллы образуют колонии, напоминающие капельки ртути. Колонии бактерий коклюша бывают зернистыми и гладкими. В кровяном бульоне они образуют муть и дают небольшой осадок.

Резистентность. Во внешней среде бордетеллы не устойчивы. На солнечном свете погибают через 1 час. Чувствительны к дезрастворам.

Антигенная структура. У бордетелл выделяют общие (родовые) и специфические (видовые) антигены. К общему антигену относится термостабильный соматический О-анти-ген. Видовые антигены обозначают как факторы. Их у бордетелл выявлено 14. Фактор 7 является родовым, общим для всех бордетелл; фактор 1 — свойственен *B. pertussis*, фактор 1 — *B. paraptussis*. Остальные встречаются в различных комбинациях — в зависимости от их сочетания различают 6 сероваров возбудителя.

Эпидемиология. Коклюшем болеют только люди, поэтому источником инфекции является больной человек. Бактерионосительство не выявлено. Путь передачи инфекции — воздушно-капельный, заражение происходит через дыхательный тракт. Наиболее подвержены этому заболеванию дети дошкольного возраста. Заболевание характеризуется сезонностью и чаще всего регистрируется в осенне-зимний период.

Патогенез заболевания. Проникнув в организм через верхние дыхательные пути, бактерии коклюша размножаются в слизистой оболочке дыхательных путей. В кровь они не попадают. Экзотоксины, выделяемые коклюшем, вызывают катаральное воспаление слизистой оболочки трахеи и бронхов, раздражают рецепторы слизистой оболочки и обуславливают непрерывный поток импульсов в центральную нервную систему, образуя стойкий паг возбуждения. Таким образом, приступы кашля развиваются под действием экзотоксина (это специфическое влияние), а также под действием неспецифических факторов (резкий звук, прикосновение, инъекции и т. д.). В возникновении приступов кашля имеет значение и сенсибилизация организма к токсинам *B. pertussis*.

Клинические проявления. Инкубационный период коклюша в среднем составляет 9 дней. Болезнь характеризуется цикличностью течения и протекает в 3 периода:

- 1) катаральный — длится 2 недели, характеризуется грипп-поподобным состоянием, кашлем, температура тела нормальная или субфебрильная;
- 2) конвульсивный (судорожный) период — длится 4—6 недель, сопровождается тяжелой клинической картиной. У больного появляются приступы спазматического кашля, доводящего до рвоты, цианоза, судорог и остановки дыхания. Таких приступов может быть 5—40 в сутки. Температура тела — нормальная;
- 3) период угасания — длится 2—3 недели. Постепенно уменьшаются частота и

выраженность приступов кашля.

В общей сложности болезнь длится долго — 10—11 недель. После перенесенного заболевания у человека вырабатывается стойкий, пожизненный иммунитет.

Профилактика осуществляется ранним выявлением и изоляцией больных коклюшем. Для профилактики контактными детям вводят у-глобулин, витамины. Специфическую профилактику проводят путем вакцинации коклюша — диф-терийно-столбнячной вакциной (АКДС), в 1 мл которой содержится 40 млрд убитых микробных клеток коклюша и 60 Ед очищенного дифтерийного анатоксина. Вакцину вводят детям начиная с 3-месячного возраста, трехкратно, подкожно в дозе 1 мл. До введения обязательной вакцинации детей случаи заболевания коклюшем часто заканчивались летально, особенно в возрасте до года. Правильно проведенная вакцинация снижает заболеваемость в 10 раз.

Bordetella parapertussis — возбудитель паракоклюша, сходен с *B. pertussis*, но клиническое течение заболевания протекает легче. Паракоклюш составляет примерно 20% от числа заболеваний с диагнозом коклюш. Перекрестного иммунитета при этих болезнях не возникает. Дифференцировку видов проводят определением подвижности и способности утилизировать цитрат, а также в реакции агглютинации со специфическими антисыворотками. Иммунопрофилактика паракоклюша не разработана.

Схема выделения коклюша и паракоклюша

Слизь из верхних дыха-

' тельных путей,!

секционный материал

Окр. , 'по Граму

Бактериологический метод

Мелочно-кровяной, казеиново-угольный, картофельно-глице-риновый агар, Борде— Жангу

Чистая культура

РА с видовыми и типовыми сыворотками

Серологический метод

ПГТГТГТГГП

РСК, РА, РИГА, ИФА r~lnr~LnnnJ

(хвост' кометы)

Глава 11 Зоонозные инфекции

§ 1. Возбудитель сибирской язвы

В России эта болезнь была названа сибирской язвой в связи с большой эпидемией, описанной на Урале в конце XVIII в. С. С. Андреевским. *Bacillus anthracis* — возбудитель сибирской язвы у человека и животных.

Морфологические и культуральные свойства. *B. anthracis* — крупные палочки, в мазках располагаются попарно или короткими цепочками. Неподвижны, вне организма образуют споры, очень устойчивые во внешней среде. Бациллы сибирской язвы в организме человека и животных образуют капсулы. Грам+, аэробы или факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых средах при pH 7,2—7,8. На мясопептон-ном агаре образуют шероховатые колонии с неровными краями, напоминающими львиную гриву. При росте на жидких средах не дают равномерного помутнения, а образуют осадок на дне пробирки, который напоминает комочек ваты.

Ферментативные свойства. Бациллы сибирской язвы обладают высокой биохимической активностью. Содержат ферменты: липазу, дегидразу, пероксидазу, каталазу. Гид-ролизуют крахмал. В отличие от сапрофитов, палочки сибирской язвы не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде. Молоко свертывают и пептонизируют за 3—

5 суток. С образованием кислоты бациллы ферментируют глюкозу, сахарозу, мальтозу.

Антигенная структура. *B. anthracis* имеет капсульный К-антиген (протеиновый) и соматический О-антиген (поли-сахаридный).

Резистентность. Вегетативные формы сибирезвенных бацилл быстро погибают при кипячении при температуре 60°C — погибают через 15 мин, в бульонной культуре в запаянных ампулах могут сохраняться до 40 лет. Споры сибирской язвы более устойчивы во внешней среде: в почве могут сохранять свою жизнеспособность до 100 лет; кипячение

выдерживают 15—20 мин, также устойчивы к дезрастворам — при действии 1 % раствора формалина разрушаются только через 2 часа.

Эпидемиология. Сибирская язва — антропозоонозная инфекция. Среди животных чаще всего болеют травоядные, которые заражаются при заглатывании спор во время выпаса или при поедании загрязненных кормов. У животных преобладают кишечная и септическая формы заболевания. С мочой и испражнениями животные выделяют бациллы сибирской язвы в окружающую среду. Летальность среди животных высокая. Клинические признаки болезни (судороги, диарея с кровью) проявляются перед гибелью животного.

Человек заражается при контакте с инфицированным материалом (уход за больными животными); при употреблении плохо проваренного мяса от больных животных, а также заражение может произойти через кожные покровы (порезы, ссадины), куда могут попасть споры сибирской язвы. Ежегодно в мире регистрируют до 100 тыс. случаев заражения сибирской язвы. Большую эпидемическую опасность представляют скотомогильники, особенно если трупы животных, погибших от сибирской язвы, были зарыты без достаточных предосторожностей.

Патогенез поражений. Сибирская язва проявляется в трех основных клинических формах: кожной, легочной и кишечной. Патогенность возбудителя сибирской язвы зависит от капсуло- и токсинообразования. Капсула защищает возбудителя от клеток фагоцитов, а токсин опосредует проявление признаков и симптомов сибирской язвы. Токсин действует на ЦНС и может приводить к летальному исходу.

Клинические проявления зависят от места проникновения возбудителя. Инкубационный период при всех формах болезни составляет 2—6 суток.

При кожной форме местом проникновения возбудителя являются поврежденные кожные покровы, главным образом открытые части тела (лицо, шея, кисти рук). В участке локализации возбудителя образуется сибиреязвенный карбункул: сначала появляется везикула диаметром до 5 мм, ее содержимое имеет серозный характер, затем становится темным и кровянистым. Из-за сильного зуда больные часто расчесывают везикулу или она лопается сама, и на ее месте образуется струп, который быстро увеличивается в размерах и чернеет (от греч. anthrax — уголь, отсюда название возбудителя). Струп окружает инфильтрат в виде багрового вала.

При легочной форме заражение происходит аэрогенным путем при ингаляции спор возбудителя. Это происходит во время работы с материалами, инфицированными спорами сибиреязвенных бацилл. Болезнь протекает по типу тяжелой бронхопневмонии: у больных появляются чувство стеснения в груди, насморк, слезотечение, повышается температура до 40°C, позднее развивается пневмония, часто протекающая по типу отека легких. Бациллы в большом количестве выделяются с мокротой. Поскольку в начале заболевания практически невозможно поставить диагноз, дальнейшее развитие болезни приводит к летальному исходу.

Кишечная форма возникает в результате употребления в пищу мяса больных животных. При этой форме заболевания отмечается тяжелейшее поражение слизистой оболочки кишечника с кровоизменениями и очагами некроза. Общие клинические проявления: повышение температуры, рвота, диарея с кровью, боли внизу живота, на коже появляются вторичные пастулы. Смерть наступает через 3—4 дня после начала заболевания при явлениях сердечной недостаточности.

В настоящее время в РФ кожная форма сибирской язвы регистрируется спорадически, кишечная — крайне редко, а легочная форма почти не встречается.

Лабораторная диагностика. При кожной форме исследуют экссудат карбункула, при легочной — мокроту, при кишечной — испражнения и мочу. Выделение возбудителя проводят по стандартной схеме с посевом на питательные среды, определением подвижности, окраски по Граму и изучением биохимических свойств возбудителя. Кожная проба проводится внутрикожным введением бактериального аллергена (антраксина). Эту пробу применяют для диагностики сибирской язвы при эпидемиологических исследованиях.

Лечение. Проводится комплексное лечение больных сибирской язвой, направленное против токсина и бацилл. Больным вводится противосибиреязвенный глобулин (30—50 мл) и

проводится антибиотикотерапия (пенициллин, эритромицин, антибиотики тетрациклинового ряда и стрептомицин). Предпочтение отдается пенициллину — при введении больших доз наблюдается хороший терапевтический эффект.

Профилактика. Мероприятия по предупреждению сибирской язвы обеспечивают совместно с ветеринарной службой. Они должны включать своевременное выявление, изоляцию и лечение больных животных, а также иммунизацию животных живой вакциной, приготовленной из некапсулированного штамма *B. anthracis*. Профилактика сибиреязвенной болезни включает тщательную дезинфекцию помещений, территории и всех предметов, где находились больные животные. Трупы животных, погибших от сибирской язвы, сжигают или закапывают в специально отведенном месте (скотомогильник) на глубину не менее 2 м и засыпают хлорной известью. Кроме того, ветеринарная служба обеспечивает надзор за предприятиями, занимающимися переработкой мяса, а также осуществляет контроль за выпуском и реализацией кожевенных и меховых изделий из животного сырья.

Схема выделения возбудителя сибирской язвы

Экспресс-метод

РИГА, РП по Асколи

См.: Окр. по Граму, Романовскому, ме-тиленовым спиртом

Бактериологический метод

Содержимое везикул, пустил, карбункула, язв; кровь, мокрота, испражнения, объекты внешней среды и др

МПА, МОБ, среды Хоттингера, сывороточные среды, казеиновые среды ГКИ и др.

Колония, чистая культура

Анти-биотико-грамма

Дифференциация от антропоидов (тест жемчужного ожерелья», капсулообразование и др.)

Биологический метод

Метод выявления гиперчувствительности

Проба с антроксином

§ 8. Возбудитель бруцеллеза

Возбудители этого заболевания относятся к роду *Brucella*. Впервые палочки бруцеллеза открыл Д. Брюс в 1887 г.

Морфологические и культуральные свойства. Бруцеллы — мелкие неподвижные палочки или коккобактерии. В мазках располагаются отдельно, парами или беспорядочно. Грам-, спор и капсул не образуют. Аэробы. Относятся к медленно растущим микроорганизмам, рост на питательных средах появляется через 4—30 суток, рН среды — 6,5—7,2, оптимальная температура — 37°C. Хорошо растут на простых средах, но более подходящими являются сывороточно-декстрозный агар, агар из картофельного настоя с сывороткой. Бруцеллы образуют мелкие, выпуклые и гладкие, мутноватые, с перламутровым оттенком колонии. На печеночном бульоне бруцеллы образуют помутнение среды в результате выпадения слизистого осадка. Для выделения бруцеллы используют селективные среды, содержащие определенные красители и антибиотики (полимиксин В, бацитрацин и

Ферментативные свойства. Бруцеллы не разжижают желатин, не расщепляют белков. Ферментируют углеводы, хотя образование кислоты недостаточно для идентификации. Для дифференциации бруцелл используют их чувствительность к бактериостатическому действию красителей — основного фуксина и тионина.

Резистентность. Бруцеллы очень устойчивы в окружающей среде. В почве, испражнениях животных, навозе бруцеллы сохраняются от 4 до 5 мес.; в пищевых продуктах — до 4 мес.; в пыли — 1 мес. Хорошо переносят низкие температуры. Чувствительны бруцеллы к высокой температуре и действию дезинфицирующих веществ. При кипячении палочки бруцелл погибают мгновенно. Быстро погибают при действии дезрастворов группы хлора и карболовой кислоты.

Эпидемиология. Источником инфекции бруцеллеза являются домашние животные. Заболевания у людей возникают редко на фоне эпизоотии. Возбудители передаются человеку через контакт с зараженными фекалиями, молоком, мочой и мясом. А заразными также являются выделения больных животных — околоплодная жидкость и влагалищная

слизь. Бруцеллы обладают способностью к миграции — переходу от своих обычных хозяев к животным других видов. Например, коровы, зараженные *Br. melitensis*, становятся источником заражения людей. В РФ заболеваемость людей бруцеллезом носит профессиональный характер. Заражаются главным образом ветеринарный и зоотехнический персонал, работники молочных ферм и мясокомбинатов и др. Возбудитель попадает в организм человека через поврежденную кожу, слизистую оболочку дыхательных путей и ЖКТ, конъюнктиву глаз.

В условиях сельского хозяйства отмечается сезонность заболеваний бруцеллезом в период окота овец и коз (март— май).

Клинические проявления. Инкубационный период длится 1—3 недели, иногда больше. В первые 10 суток бактерии размножаются в лимфатических узлах (миндалины, заглоточные, язычные, подчелюстные, шейные узлы). Через 3 недели начинается процесс формирования гранулем. Из лимфатических узлов бруцеллы попадают в кровоток, с током крови они попадают в печень, селезенку, костный мозг. Таким образом, болезнь имеет остросептический характер. У больного часто отмечается поражение опорно-двигательного аппарата, кроветворной, нервной и половой систем. Бруцеллез нередко дает рецидивы, продолжаясь месяцами и годами. Летальный исход наблюдается редко. Бруцеллез у человека имеет много общих признаков с туберкулезом, брюшным тифом, малярией. Поэтому лабораторная диагностика бруцеллеза имеет большое значение.

После перенесенного заболевания у человека вырабатывается устойчивый иммунитет.

Профилактика заболеваний человека обеспечивается путем проведения совместно с ветеринарными организациями комплекса общих и специфических мероприятий. Снижению заболеваемости способствует элементарное соблюдение правил личной гигиены и режима обработки сельскохозяйственной продукции.

Схема выделения возбудителя бруцеллеза Экспресс-метод

Экспресс-метод

Бактериологический метод

Кровь, костный мозг, моча, испражнения, околоплодные воды, пунктаты, объекты внешней среды и др

Печеночные среды, среды с глюкозой и глицерином, сыворотно-декстрозный агар и др.

Чистая культура

Окр. по

Граму—

Козловскому

Среды с фуксином

Биологический метод

Чистая культура

Белая MbiuibV

Серологический метод

РА (р. Райта, р. Хеддельсона), РИГА

Метод выявления гиперчувствительности

Реакция Бюрне с бруцеллином

Глава 12

СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

§ 1. Возбудитель ботулизма

Относится к роду *Clostridium*, был открыт в Голландии Э. ван Эрменгемом в 1896 г. Возбудитель был выделен из ветчины, послужившей источником отравления 34 человек.

Морфологические и культуральные свойства. *C. botulinum* — это палочки с закругленными концами, имеют жгутики, хотя считаются слабоподвижным микроорганизмом. При попадании в неблагоприятные условия образуют споры. Строгие анаэробы. Молодые культуры окрашиваются грамположительно, 5-суточные — грамотрицательно. Выращиваются в обычных средах pH 7,3—7,5. На глюкозо-кровяном агаре образуют мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии неправильной формы. На желатине возбудители образуют круглые прозрачные колонии, на кровяном агаре — зоны гемолиза. В печеночном

бульоне клостридии ботулизма образуют равномерное помутнение, затем появляется осадок на дне и бульон просветляется.

Ферментативные свойства. Клостридии ботулизма образуют желатиназу, лецитиназу, сероводород и аммиак, а также летучие амины, алкоголи, уксусную, молочную и масляную кислоты. Ферментируют с образованием кислоты глюкозу и мальтозу.

Антигенная структура. Установлено наличие 8 сероваров возбудителя ботулизма — А, В, С, С2, D, E, F и L. Каждый серовар характеризуется специфической иммуногенностью. Имеют O-антиген, который является общим для всех сероваров.

Резистентность. Вегетативные формы возбудителя ботулизма погибают при 80°C за 30 мин. Споры выдерживают кипячение от 1,5 до 6 часов, при t - 115°C они погибают через 30—40 мин, при 120°C — через 3—20 мин. В больших кусках мяса и банках большой емкости они могут оставаться живыми и после их автоклавирования при 120°C в течение 15 мин. В 5% растворе фенола споры сохраняются сутки. Ботулинический экзотоксин при кипячении разрушается в течение 10 мин, устойчив к действию солнечного света.

Эпидемиология. *S. botulinum* широко распространен в почве. Заболевание регистрируют повсеместно. Человек заражается ботулизмом при употреблении в пищу мясных и рыбных продуктов, овощных консервов, кур, уток и других продуктов, инфицированных возбудителями ботулизма.

Клинические проявления. При ботулизме инкубационный период варьирует от 2 часов до 10 суток, чаще всего 18—24 ч. Проявления зависят от природы продукта, ставшего причиной отравления, количества токсина, поступившего в организм. Патологический процесс обуславливается экзотоксином, который всасывается через кишечник, поступает в кровь, поражает ядра продолговатого мозга, сердечно-сосудистую систему и мышцы. Первыми признаками заболевания являются расстройства ЖКТ (тошнота, рвота, боли в животе), часто больные жалуются на сухость во рту. На фоне этого развивается головная боль, нарушение глотания, расширение зрачков, двоение предметов, глухота. Очень часто (40—60%) болезнь заканчивается летальным исходом.

После перенесенного заболевания остается непродолжительный иммунитет.

Профилактика. Для экстренной профилактики используется поливалентная лошадиная сыворотка, выпускаемая в сухом и жидком виде. Для предупреждения ботулизма большое значение имеет правильная технология обработки продуктов, консервов (особенно в домашних условиях). Опасны продукты домашнего копчения и соления, а также консервированные грибы. Необходимо помнить, что клостридии ботулизма, сохранившиеся после стерилизации, вызывают вздутие банок (бомбаж). Содержимое их издает запах прогорклого масла. Такие консервы нельзя выпускать в продажу, они подлежат изъятию и тщательному исследованию.

Лабораторная диагностика ботулизма проводится по общепринятой схеме (см. рис.).

Схема выделения возбудителя ботулизма

Проба минервина, РНFAN, биологический тест на простейших

Биологический метод

Остатки пищи, кровь, промывные воды желудка, моча, испражнения, отделяемое раны; печень

РНАг на белых мышах I-----^-----J \

Бактериологический метод

Электрические среды для анаэробов: Тароцци, Клодницкого, Цесслера, Вильсона—Елер и др.

8. Зак 361

Глава 13

ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ

§ 1. Общие понятия о вирусах

Вирусология — одна из основных биологических наук. Занимается изучением вирусов. Вирусы — это организмы, не способные существовать и размножаться самостоятельно. В определении вируса подчеркивается особая природа их паразитизма, который можно назвать паразитизмом на генетическом уровне. Тот факт, что вирусы способны выживать и

размножаться только внутри других клеток, объясняется не отсутствием собственной клеточной организации, а их потребностью в поступлении готовых источников питания. Если бактерии обладают способностью расти и размножаться на искусственных питательных средах, то вирусы, напротив, как настоящие клеточные паразиты, полностью зависят от обмена веществ в клетке-хозяине. Сейчас уже доказано, что отношение вирус—хозяин не ограничивается лишь питанием, а носит более сложный характер.

Когда стали возможны современные методы исследования, с помощью электронного микроскопа удалось выявить детали структуры вирусов.

От бактерий вирусы отличаются простотой строения. Они состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, которая называется «капсид». Нуклеиновые кислоты представляют собой необходимый элемент живой материи, главное назначение которого — сохранять и переносить наследственную, или генетическую, информацию. Нуклеиновая кислота состоит из большого числа структурных единиц — нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из трех основных частей: молекулы фосфорной кислоты, молекулы сахара и молекулы органического основания. Органические основания представлены следующими веществами: цитозином, тиминном, урацилом, аденином и гуанином. По типу сахара, содержащегося в нуклеиновых кислотах, различают два вида кислот. В одной из них нуклеотиды содержат рибозу, и тогда кислота называется рибонуклеиновой (РНК), а в другой — дезоксирибозу и кислота называется дезоксирибонуклеиновой (ДНК). Вирусы всегда содержат лишь одну из двух кислот: либо РНК, либо ДНК. В бактериях и других живых клетках ДНК в основном содержится в ядре, а РНК локализуется в цитоплазме и ядрышке клетки. Нуклеиновые кислоты вирусов состоят из одной или двух спиралей.

Вирусы способны поражать многие живые организмы: бактерии, растения, человека и животных. Например, цветковые растения являются хозяевами для многих типов вирусов. Наука — фитопатология занимается в том числе изучением вирусных болезней картофеля, бобов, свеклы, сахарного тростника и других сельскохозяйственных культур.

Среди беспозвоночных вирусные болезни обнаружены только у насекомых. Среди позвоночных известны вирусные заболевания у рыб, амфибий (опухоль почки у леопардовой лягушки). Многие вирусные заболевания известны у птиц (саркома и лейкозы служат излюбленной моделью при изучении вирусной природы опухолей). К вирусным заболеваниям человека относятся: грипп, корь, полиомиелит, бешенство, краснуха и многие другие.

§ 2. Вич-инфекция

Возбудителем ВИЧ-инфекции является вирус иммунодефицита человека: ВИЧ — может быть двух типов (1 и 2) (по-английски HIV).

Возбудитель ВИЧ-инфекции относится к семейству *Retroviridae*. Представители этого семейства поражают самых различных животных — грызунов, птиц, млекопитающих, а также человека. Вирусы, входящие в это семейство, являются РНК-ми, они способны с помощью обратной транс-криптазы образовывать ДНК на матрице вирусной РНК. ДНК затем способна встраиваться в хромосому клетки и существовать там. Этим обусловлены особенности эпидемиологии ретровирусных инфекций — наличие как горизонтального, так и вертикального пути передачи. Вертикальный путь передачи — это путь передачи потомству в составе хромосомы (не в процессе родов, а по наследству во время формирования зиготы).

Возбудитель ВИЧ-инфекции относится к роду *Lentovirus*, который включает в себя тех представителей семейства рет-ровирусов, которые вызывают медленные вирусные инфекции.

ВИЧ-1 был открыт в 1982 г. Галло и параллельно Мор-танье, ВИЧ-2 в 1985 г., впервые описан в Западной Африке. Структурно ВИЧ-1 отличается от ВИЧ-2 по строению гликопротеидов мембраны. Чаще всего встречается ВИЧ-1. Клиника, патогенез заболеваний, вызываемых вирусами, одинаковы.

Строение вируса. В центре вирусной частицы находится две зигзагообразные молекулы РНК. Вместе с молекулами РНК находятся две молекулы обратной транскриптазы (или

ревертазы). Они упакованы с помощью белков: р-15, р-24. Вирус имеет внешнюю оболочку, представленную белком р-18, и липопротеидную оболочку — суперкапсид. Липопротеид имеет антигенные детерминанты — молекулы глико-протеидов, напоминающие грибок, ножка которого погружена в мембрану суперкапсида, а шляпка обращена наружу. Шляпка образована так называемым гликопротеидом р-120, а ножка представлена gp-41. Весь гликопротеидный рецептор, включающий в себя и шляпку и ножку, называется gp-160.

Вирус имеет округлую форму, средние размеры 100—140 нм. Вирус является сложным, т. е. окружен суперкапсидом и белковыми оболочками. Геном вируса содержит 9 генов, из них 3 структурных и 6 регуляторных. Геном является очень изменчивым: постоянно идет процесс антигенного дрейфа. Существует несколько серологических рас вируса: 8 уже сформированных антигенных вариантов: А, В, С, D, Е, F, G, H. Значение варианта вируса позволяет предположить источник заражения. Так, например, в Африке чаще всего встречаются антигенные варианты F, G, H. Вариант В чаще всего передается среди гомосексуалистов.

Высокая изменчивость, текучесть антигенного состава крайне затрудняет разработку специфической профилактики — разработку вакцины.

Устойчивость вируса. Вирус обладает средней для сложных вирусов устойчивостью. Он мгновенно погибает при кипячении, но для того чтобы гарантировать, что вирус погиб, нужно кипятить 20—30 мин. Очень быстро погибает под действием различных дезинфектантов — перекись водорода, глутаральдегид, хлор-, фенол-содержащих препаратов. Для обработки рук и антисептических процедур рекомендуют применять хлоргексидин, спирт не очень быстро убивает вирус (70% за 10 мин). При нагревании до 180°C вирус в течение часа погибает — на 100%, при автоклавировании на 100%. В настоящее время методы, которые реально могут гарантировать уничтожение ВИЧ, — это автоклавирование и воздушная стерилизация. Все остальные методы являются методами интенсивной дезинфекции, но не стерилизации, поскольку никто не знает, чем покрыты вирионы в том материале, который обрабатывается. Вирионы могут находиться внутри комка биологической жидкости и пережить обработку дезинфектантами.

Взаимодействие вируса с клетками организма. В организме вирусы взаимодействуют с CD-4 рецепторами, которые располагаются на поверхности иммунокомпетентных клеток — лимфоцитов, макрофагов. Взаимодействие вируса с клеткой-мишенью включает 6 стадий: адсорбция к CD-4 рецепторам, прокол клетки, затем эндоцитоз, депротенинизация с участием протеинкиназы клетки хозяина, синтез ДНК на матрице (—) РНК с участием обратной транскриптазы, на матрице ДНК затем может происходить синтез вирусной РНК. ДНК вируса включается в геном клетки, затем происходит синтез вирусных компонентов — белков, следом — самосборка вириона и его отпочкование, в ходе которого вирус приобретает суперкапсид. Процесс взаимодействия вируса с чувствительной клеткой происходит с различной скоростью: вирус может персистировать в клетке, ничем себя не проявляя, у него может отсутствовать синтез нуклеиновых кислот и белков. Второй тип взаимодействия соответствует медленному размножению и отпочкованию вируса и инфицированию новых клеток. Третий вариант — быстрое размножение вируса в клетке, гибель ее и выход вируса. Обычно в одной клетке образуется 10 тыс. новых вирусов.

На использовании этих этапов взаимодействия вирусов и клеток основаны методы лечения и профилактики.

Эпидемиология ВИЧ-инфекции. Предполагают, что вирус существовал в человеческой популяции до того, как началась пандемия. Уже после открытия вируса по сохранившимся сывороткам было установлено, что вирус был в 1976 г. в Англии, в 1966 г. в Африке, в 1952 г. — в Африке. Однако групповых вспышек не было зарегистрировано.

ВИЧ присутствует у больного человека во всех клетках, где есть CD-4 рецепторы — это Т-хелперы, тканевые макрофаги, в клетках кишечника, слизистых и т. д. У инфицированного человека вирус выделяется со всеми биологическими жидкостями: максимальное количество его находится в крови, в семенной жидкости. Среднее количество вируса — в лимфе, ликворе, влагалищном отделяемом (100—1000 вирионов на 1 мл). Еще меньше вируса в молоке кормящей матери, слюне, слезах, поте. Содержание вируса в них таково, что его

недостаточно, чтобы вызвать инфекцию.

Механизм, пути передачи вируса. Аэрозольный, фекаль-но-оральный пути передачи вируса отсутствуют, трансмиссивный не был установлен, хотя было зарегистрировано присутствие вируса в клопах. Контактно-бытовым путем вирус также не передается. Таким образом, вирус передается только половым путем — гомо- и гетеросексуальным способом.

Описан искусственный механизм передачи ВИЧ, т. е. искусственный путь передачи через хирургическое или искусственное воздействие, с повреждением кожных покровов или слизистых. В медицине — это хирургические вмешательства, уколы и т. д. Кроме того, искусственный путь возможен в парикмахерских, а также при пользовании зубными щетками, при нанесении татуировок.

Во всем мире зарегистрировано 19,5 млн ВИЧ-инфицированных (на самом деле их в 5 раз больше), из них 18 млн взрослых и 1,5 млн детей; 6 млн больных СПИДом. В России — около 1000 ВИЧ-инфицированных. Пандемия развивается не так интенсивно, как предполагали. На 1995 г. прогнозировали 500 млн ВИЧ-инфицированных. В Америке основным путем распространения (70%) является гомосексуальный, 20% больных — наркоманы. В Японии, Китае заражение происходит через переливание крови. В России 30% больных составляют гомосексуалисты, в 30% заражение произошло гетеросексуальным путем, 10% — через переливание крови, остальное через общий шприц и другими путями.

Существуют профессиональные заражения среди медицинских работников. Риск заражения у медработников, имеющих дело со специальными манипуляциями, связанными с повреждением пациента, составляет 0,5—1 %. В основном, это врачи-хирурги, акушеры, стоматологи. При переливании крови инфицированного ВИЧ риск заболеть составляет почти 100%. Если человек пользуется общим шприцом с больным ВИЧ-инфекцией, риск составляет 10%. Гетеросексуальные контакты, с точки зрения эпидемиологии, более безопасны, при единственном контакте с инфицированным ВИЧ риск заболевания составляет 0,1%, при гомосексуальном контакте — 10—50% при единственном контакте.

Патогенез. Инфекция начинается с внедрения вируса в организм человека. Патогенез ВИЧ-инфекции включает в себя 5 основных периодов. Инкубационный период продолжается от инфицирования до появления антител и составляет от 7 до 90 дней. Вирус размножается экспоненциально. Никаких симптомов не наблюдается. Человек становится заразным через неделю. Стадия первичных проявлений характеризуется взрывообразным размножением вируса в различных клетках, содержащих CD-4 рецептор. В этот период начинается сероконверсия. Клинически эта стадия напоминает любую острую инфекцию: наблюдается головная боль, лихорадка, утомляемость, может быть диарея. Единственным настораживающим симптомом является увеличение шейных и подмышечных лимфоузлов. Эта стадия продолжается 2—4 недели, затем начинается латентный период. В этот период вирус замедляет свою репликацию и переходит в состояние персистенции. Латентный период длится достаточно долго — 5—10 лет, у женщин — до 10 лет, у мужчин в среднем 5 лет. В этот период единственным клиническим симптомом является лимфаденопатия — длительная, генерализованная и необратимая, т.е. увеличение практически всех лимфоузлов. Уменьшается количество Т-хелперов по отношению к Т-супрессорам, исчезают реакции гиперчувствительности замедленного типа (например, реакция Манту). Четвертый период включает в себя СПИД-ассоциированный комплекс (или пре-СПИД). Вирус начинает интенсивно размножаться во всех тканях и органах, взрывообразно реплицироваться с повреждением клеток. Наиболее сильно повреждаются Т-хелперы, происходит полная деструкция, что приводит к дерегуляции всей иммунной системы, резко снижается иммунитет как гуморальный, так и клеточный. На этом фоне развиваются инфекционные и неинфекционные проявления: а) саркома Калози — это злокачественная опухоль нижних конечностей, которая встречается крайне редко, а у больных ВИЧ-инфекцией она поражает 80% больных; б) лим-фома, инфекции и инвазии крайне разнообразны и представляют непосредственную угрозу жизни больного; в) вирусные инфекции — вирус герпеса. Из бактерий активизируются микобактерии туберкулеза, стафилококки, стрептококки, легионеллы. Грибковые инфекции: кандидоз, из заболеваний, вызванных простейшими, — пневмоцидоз, криптоспоридиоз, и один гельминтоз — стронгилоидоз.

На пятом этапе — собственно СПИД — наблюдается полное отсутствие иммунного ответа. Длительность заболевания примерно 1—2 года, непосредственной причиной смерти являются вторичные инфекции.

Лечение и профилактика. Разработано три направления в лечении ВИЧ-инфекции:

1. Этиотропная терапия. Используют следующие препараты: 1) Азидотимизин (АЗТ), инактивирующий обратную транскриптазу вируса. Этот препарат токсичный и дорогой, но он продлевает жизнь больному; 2) Альфа-интерферон вместе с АЗТ удлиняет латентный период, подавляя репликацию.

2. Иммуностимуляция. Вводят интерлейкин-2, интерфероны и иммуноглобулины.

3. Лечение опухолей, вторичных инфекций и инвазий (применяют ацикловир и др.).

Профилактика. Только неспецифическая. Кровь для переливания должна обязательно тестироваться на содержание ВИЧ. Попытки создать вакцины, в том числе генноинженерия, производящиеся во всем мире, пока успеха не имеют.

§ 3. Вирусы гепатита а, в и с

Этиология. Термин «вирусный гепатит» объединяет две болезни: инфекционный гепатит (болезнь Боткина) — гепатит А и сывороточный гепатит — гепатит В. Возбудитель заболевания — фильтрующийся вирус. Предполагают существование двух его разновидностей: вирусов типа А и В. Вирус А — возбудитель инфекционного гепатита, попадает в организм через пищеварительный аппарат и парентеральным путем. Инкубационный период колеблется от 14 до 50 дней. Вирус В вызывает сывороточный гепатит, при этом заражение происходит парентерально, инкубационный период более длительный — от 40 до 180 дней. Если путь передачи вируса неизвестен или сомнителен, то заболевание принято называть вирусным гепатитом. Вирус гепатита стоек к замораживанию, высушиванию, нагреванию до 56°C в течение 30 мин. Выделить вирус пока не удалось.

Эпидемиология. Источником инфекции является больной в острой и хронической формах и в период обострения. Больной может заражать окружающих, начиная с конца инкубационного периода и в течение всей болезни; наиболее заразителен больной в преджелтушном периоде и в первые три недели желтухи. Особенно большую эпидемиологическую опасность представляют больные со стертыми, легкими и безжелтушными формами. После перенесенной болезни возможно длительное носительство вируса: при инфекционном гепатите — до 5—7 месяцев, сывороточном — до 5 лет. Возбудитель заболевания передается контактно-бытовым путем, через инфицированные пищевые продукты и воду. Парентеральное заражение происходит при переливании человеческой крови, плазмы, сыворотки, содержащих вирус, а также при различных медицинских манипуляциях недостаточно простерилизованными инструментами. Есть указания на воздушно-капельный путь передачи. Возможна трансплацентарная передача вируса (от матери плоду через плаценту). Восприимчивость к гепатиту не абсолютна, она составляет 30—40%. Наиболее часто вирусным гепатитом болеют дети: удельный вес детей до 15 лет в общей заболеваемости составляет 60% и более. Среди детей максимальная заболеваемость приходится на возраст от 3 до 7—9 лет. У детей в возрасте до 1 года чаще наблюдается сывороточный гепатит. Повторные случаи заболевания редки (2—3%).

Основные патолого-анатомические изменения при вирусном гепатите происходят в печени. В ранней стадии болезни одновременно отмечаются пролиферация ретикулярных клеток и дистрофические изменения гепатоцитов (печеночных клеток). Отдельные клетки некротизируются и рассасываются. Явления некроза начинаются с 3-го дня и наиболее выражены с 5-го по 15-й день болезни. Уже с 3—4-го дня болезни одновременно происходит регенерация гепатоцитов. В следующей стадии (3—4-я неделя) преобладают процессы регенерации и воспалительной инфильтрации. Затем следует стадия обратного развития патологического процесса, в течение которой строение печени восстанавливается. Исходом гепатита изредка может быть цирроз печени, развивающийся у детей быстрее, чем у взрослых.

Помимо поражения печени отмечается ряд изменений других органов и систем (селезенка, сердце, почки, ЦНС).

Патогенез. Изучен недостаточно. Входными воротами инфекции является обычно

пищеварительный аппарат, а для вируса типа В — место инъекции, при которой возбудитель вводится непосредственно в кровяное русло, мышцу, подкожную клетчатку.

Вирус, проникший в организм любым путем, наводняет кровь и избирательно поражает печень. Патологический процесс в печени сопровождается нарушением ее функции, что ведет к изменениям обмена. Страдают все виды обмена: белковый, жировой, углеводный, пигментный, водно-солевой. У больного развивается гипопротеинемия, значительно повышается содержание билирубина в крови. Печень теряет способность образовывать и фиксировать гликоген. Создается дефицит витаминов, нарушается усвоение фоллохинонов (в результате этого — развитие геморрагических явлений). Резко нарушается также антитоксическая функция печени. В возникновении и течении вирусного гепатита определенную роль играет аллергический фактор. Волнообразность течения, обострения заболевания (с 15—20-го дня) служат, очевидно, проявлениями аллергии.

Клиническая картина. Течение желтушной формы вирусного гепатита характеризуется определенной последовательностью развития клинических симптомов со сменой 3 периодов: преджелтушного, желтушного, постжелтушного (период выздоровления, или реконвалесценции).

Преджелтушный период занимает 5—7 дней, иногда удлиняется до 10 дней, при тяжелых формах у грудных детей может быть короче — 2—3 дня. Для этого периода характерны: общее недомогание, вялость, слабость, апатия, снижение аппетита, тошнота, рвота, изредка понос, чаще запор, боль и тяжесть в подложечной области. Могут отмечаться боли в суставах, острое респираторное заболевание. Часто наблюдается небольшое кратковременное повышение температуры тела. Моча имеет темный цвет, а кал — более светлую окраску. Печень увеличивается. К концу этого периода нарастает содержание билирубина в крови, в моче появляются желчные пигменты.

Болезнь переходит в желтушный период довольно быстро. С появлением желтухи самочувствие больного обычно улучшается. Появляется желтушная окраска слизистой оболочки мягкого нёба, затем кожных покровов. При интенсивной желтухе может быть зуд кожи, в более тяжелых случаях — геморрагическая сыпь. Печень еще больше увеличивается, часто увеличивается и селезенка. Моча окрашивается желчными пигментами в цвет пива, кал обесцвечивается (ахо-личный стул). Повышается содержание общего и прямого билирубина в крови. В крови отмечается склонность к лейкопении с лимфо- и моноцитозом, СОЭ не увеличена. Интенсивность желтухи постепенно нарастает, затем она начинает медленно уменьшаться. В среднем длительность желтушного периода — 2—3 недели; он сменяется постжелтушным периодом. Одновременно с уменьшением желтухи улучшается общее состояние больных, уменьшается слабость, появляется аппетит, исчезают диспепсические явления, кал становится более темным, а моча — более светлой. Исчезают клинические симптомы заболевания.

В настоящее время установлены определенные различия клинических признаков инфекционного и сывороточного гепатитов. Сывороточный гепатит характеризуется постепенным началом заболевания без выраженного повышения температуры тела, а также катаральных явлений; значительной продолжительностью продромального периода — до 10—12 дней (исключение составляют случаи, связанные с переливанием крови или плазмы); наличием болей в суставах. Может отмечаться крапивница на коже. Эти симптомы не встречаются при инфекционном гепатите. Желтушный период сывороточного гепатита характеризуется большей длительностью, выраженностью и стойкостью клинических симптомов болезни, имеющих тенденцию к постепенному нарастанию. Желтуха достигает максимума лишь на 2—3 неделе. Отличительной особенностью является медленное исчезновение клинических признаков и значительно более продолжительный период выздоровления. Сывороточный гепатит отличается от инфекционного большей степенью тяжести и возможностью развития токсической дистрофии печени.

Инфекционный гепатит характеризуется коротким (5—7 дней) продромальным периодом, острым началом заболевания с быстрым (1—4-дневным) повышением температуры тела, которое нередко сопровождается головной болью, разбитостью, катаральными явлениями (кашель, насморк, боли в горле). Диспепсические явления (анорексия, тошнота, боли в

животе, рвота) часто выступают на первый план с 3—5-го дня болезни и непосредственно предшествуют появлению желтухи. В желтушный период желтуха развивается остро — уже в ближайшие дни достигает своего максимума и затем довольно быстро снижается, сохраняясь в среднем 10—15 дней. Заболевание протекает легко. Летальные исходы при инфекционном гепатите, как правило, не регистрируются.

Вирусный гепатит может протекать в виде различных клинических форм: острой, затяжной и хронической. Гепатит принято считать затяжным при продолжительности болезни в течение 3 месяцев, хроническим — более 6 месяцев. По тяжести острый гепатит бывает легкий, среднетяжелый, тяжелый и тягчайший, протекающий в форме токсической дистрофии печени (чаще развивается у детей раннего возраста).

Течение вирусного гепатита может быть гладкое (без обострений и рецидивов), с обострениями и рецидивами, осложнениями (токсическая дистрофия печени, холецистит, холангит и др.), интеркуррентными заболеваниями.

Хронические формы гепатита формируются в 6—8 % случаев (длятся месяцы и годы). Этому способствуют частые обострения, рецидивы болезни, поздняя госпитализация. Течение хронического гепатита может быть доброкачественным и тяжелым с переходом в цирроз. При развитии цирроза печени болезнь может закончиться летально. Летальный исход при вирусном гепатите бывает редко, в среднем в 0,3—0,4% случаев, и наступает при явлениях печеночной комы. В подавляющем большинстве случаев вирусный гепатит заканчивается полным выздоровлением.

Особенности вирусного гепатита у детей раннего возраста заключаются в следующем:

- 1) чаще происходит парентеральное заражение вирусом типа В. В отдельных случаях возможен трансплацентарный путь заражения;
- 2) преджелтушный период болезни более короткий — обычно он составляет 3—5, иногда 2—3 дня, и характеризуется вялостью, сонливостью, отказом от груди, прекращением прибавки массы тела, появляются срыгивание, рвота, понос; температура тела — 38—39°C;
- 3) желтуха выражена интенсивно, держится более продолжительное время;
- 4) высокий уровень билирубина в крови, большие отклонения от нормы всех показателей функции печени;
- 5) увеличение печени более выражено, но часто нет параллелизма между интенсивностью желтухи и увеличением печени;
- 6) чаще увеличена селезенка;
- 7) осложнения бывают чаще (токсическая дистрофия печени);
- 8) клиническое выздоровление наступает позднее;
- 9) летальность выше по сравнению с таковой у детей более старшего возраста.

Лечение. Больной вирусным гепатитом подлежит обязательной госпитализации. В течение всего периода болезни назначают постельный режим. При легкой форме гепатита постельный режим отменяют после исчезновения основных клинических симптомов; при среднетяжелой форме такой режим продолжается не менее 1 месяца; при тяжелой форме — дольше (в зависимости от состояния больного).

Большое внимание следует уделять питанию больного. Назначают пищу с преимущественным содержанием углеводов и достаточным содержанием полноценных животных белков. В меню следует включить кисломолочные продукты (творог, кефир, простокваша), овощи, фрукты, компот, кисель, сахар, варенье, мед, каши. Необходимо ограничить содержание в пище жиров и поваренной соли и исключить острые приправы, какао, шоколад. Не рекомендуются также мясные супы, жирные сорта мяса, мясо и рыба в жареном виде. Важно, чтобы больной ребенок получал достаточное количество жидкости (из расчета 120—150 млкг в сутки).

Профилактика. Профилактикой гепатита А является своевременная изоляция больных, соблюдение личной гигиены. Для профилактики гепатита В разработаны рекомбинантные вакцины, полученные на культурах *Saccharomyces cerevisiae*. Иммунизация показана всем группам риска, включая новорожденных.

Вирус гепатита С

После того как в 70-х гг. XX в. были выделены возбудители гепатитов А и В, стало

очевидным существование еще нескольких вирусных гепатитов, которые стали называть гепатитами ни А, ни В. В 1989 г. удалось идентифицировать возбудитель гепатита ни А, ни В с парентеральным (через кровь) механизмом передачи. Его назвали вирусом гепатита С (ВГС).

Липидная оболочка

Оболочечные белки

Капсид

Как устроен этот чрезвычайно опасный вирус и что делает его таким? По внешним параметрам — это обычный мелкий сферический вирус, имеющий оболочку. Как известно, свойства живых существ кодируются в генах, совокупность которых составляет геном. У вируса гепатита С очень маленький геном, в нем всего 1 ген, в котором зашифрована структура 9 белков. Эти белки участвуют в проникновении вируса в клетку, в создании и сборке вирусных частиц и в переключении на себя некоторых функций клетки. Три белка вируса, участвующие в формировании вирусной частицы, называются структурными, остальные 6 белков выполняют разные ферментативные функции и называются «неструктурными». Геном вируса гепатита С представлен 1 нитью рибонуклеиновой кислоты (РНК), которая заключена в капсулу. Эту капсулу называют «капсидом», а образующий ее белок — «нуклеокапсидным белком». Этот белок играет очень важную функцию в сборке вируса, регуляции синтеза вирусной РНК и, что самое неприятное, он может нарушать иммунный ответ инфицированного человека. Капсид с РНК, в свою очередь, заключен в оболочку из липидов (жироподобных веществ) и белков. Эти белки имеют свое название — «оболочечный белок 1» (краткое обозначение Е1) и «оболочечный белок 2» (Е2). Белки Е1 и Е2 образуют комплекс, главными функциями которого являются обеспечение связывания вируса с клеткой и проникновения в нее. Если бы удалось создать лекарственный препарат, нарушающий эти процессы, можно было бы победить гепатит С. Но, к сожалению, до сих пор нет возможности детально изучить связывание вируса с клеткой и проникновение в нее. Вирус, попав в кровь, разносится по всему организму. В печени он присоединяется к поверхностным структурам гепатоцита (клетка печени) и проникает в него. Жизнедеятельность гепатоцита нарушается, основные структуры клетки теперь работают на вирус, синтезируя вирусные белки и РНК. Новые собранные вирусные частицы выходят из клетки и начинают заражать здоровые гепатоциты. Длительное присутствие вируса в печени приводит к гибели ее клеток и даже к их перерождению в злокачественные (раковые) клетки.

Но существует еще одна важная особенность ВГС, которая заключается в способности вируса существовать в человеке в виде набора близкородственных, но не совсем идентичных вирусных частиц, называемых «квазивидами». Среди вирусов такая способность встречается редко. В каждом квазивидовом наборе есть главный, преобладающий вариант, который чаще инфицирует клетки, и есть редкие вирусные варианты. Когда иммунной системе удастся уничтожить преобладающий вирус, один из редких занимает его место. Предпочтение всегда получает недоступный для существующих антител вариант. Таким образом, происходит своеобразное состязание между ВГС, который стремится создать много разных вариантов, и иммунной системой, которая уничтожает доступные варианты, способствуя распространению менее доступных.

Из всего вышесказанного можно заключить, что быстрая изменчивость некоторых белков ВГС и его квазивидовая природа играют важную роль в развитии хронического гепатита С.

Однако иммунная система может, хотя и редко, уничтожить вирус. Известно, что около 15% больных острым гепатитом С выздоравливают. К сожалению, нет четких представлений об особенностях иммунного ответа выздоравливающих людей. Но строго доказано, что ослабление иммунной системы сопутствующими заболеваниями или нездоровым образом жизни, способствует развитию хронического гепатита С.

Изучая РНК вируса, выделенного от разных больных в разных странах, ученые пришли к необходимости разделить ВГС на 6 генотипов и несколько десятков субтипов. Генотипы обозначают арабскими цифрами, а субтипы латинскими буквами. Субтипы различаются по чувствительности к лечению интерфероном, по виремии (содержанию вируса в крови), по

географическому распространению.

Клиническая картина. Для гепатитов характерны:

диспепсические явления;

«J» желтуха (бывает не во всех случаях); умеренное увеличение и уплотнение печени и селезенки; нарушения функций печени, определяемые лабораторными методами и методом радиогепатографии. Больных беспокоят чувство тяжести или тупые боли в области правого подреберья, снижение аппетита, горечь во рту, тошнота, отрыжка, слабость, похудание, лихорадка, кожный зуд. Нередки кровотечения из носа. При пальпации поверхность печени гладкая, край умеренно плотный, слегка болезненный.

^"Инкубационный период

Хроническая фаза

Выздоровление

Рак печени

Течение доброкачественного гепатита может быть очень длительным — до 20 лет. Обострения возникают очень редко и только под воздействием сильных провоцирующих факторов. Развитие цирроза наблюдается редко.

Агрессивный гепатит характеризуется рецидивами, частота которых может быть различной. Частые рецидивы приводят к более быстрому прогрессированию дистрофических и воспалительно-рубцовых изменений печени и развитию цирроза. Прогноз при этой форме — более тяжелый.

Вирусный гепатит — профессиональное заболевание медицинского персонала!!!

Медицинский персонал лечебно-профилактических учреждений относится к категории повышенного риска заражения и заболевания вирусными гемоконтактными гепатитами.

По частоте выявления маркеров инфицирования вирусом гепатита медицинский персонал следует распределить на 3 группы:

— 1-ю (наивысшие показатели) составляют сотрудники ге-модиализного и гематологических отделений;

— 2-я — работники лабораторного, реанимационных и хирургических отделений;

— 3-я (наименьшие показатели) — сотрудники терапевтических отделений.

Эпидемиология. Распространенность. Вирус гепатита С (ВГС), как предполагается, проник в человеческую популяцию около 300 лет назад и в настоящее время представляет серьезную угрозу здоровью людей. Число инфицированных вирусом превышает 200 млн человек, т.е. около 3% населения земного шара. Большинство из них являются скрытыми носителями. У 85% заболевших острым гепатитом С развивается хроническая (персистирующая) ВГС-инфекция, при которой вирус размножается в организме в течение десятков лет.

ВГС широко распространен в человеческом обществе. Природный резервуар вируса не известен. Известно, что кроме человека гепатитом С болеют только шимпанзе. Данные о частоте встречаемости гепатита С неоднородны и колеблются от 0,5—3% от общей численности населения (США, Западная Европа) до 4—20% (Африка, Азия, Восточная Европа). Столь большие различия в результатах выборочных эпидемиологических исследований в разных странах и регионах объясняются как различной доступностью диагностических систем последнего поколения, так и чрезвычайной неоднородностью ВГС.

На территории бывшего Советского Союза чаще всего гепатит С встречается в республиках Средней Азии и в Молдове (5—10%). Имеется некоторая связь между высоким уровнем распространенности ВГС и низким уровнем жизни. Вместе с тем, даже в экономически развитых странах количество ВГС-инфицированных часто превышает число носителей HBsAg (маркер гепатита В) в несколько раз и еще более ВИЧ-инфицированных. Самым распространенным субтипом ВГС в России является 1ь (более 70% от общего числа случаев), считающийся наиболее опасным и плохо поддающимся лечению интерфероном. Следующими по частоте обнаружения являются подтипы 1а и 3а, значительно реже обнаруживается подтип 2а.

Пути передачи. Основной механизм заражения гепатитом С — парентеральный, т. е. преимущественно через кровь. Хотя возможно заражение и через другие биологические жидкости: через сперму, вагинальный секрет, слюну, мочу (в последних двух случаях очень

редко).

В эпидемиологии вирусных гепатитов принято различать «горизонтальный» и «вертикальный» путь передачи. «Вертикальный» путь передачи ВГС (от инфицированной матери новорожденному ребенку) в настоящее время рассматривается как менее вероятный по сравнению с вирусом гепатита В. Действительно, большинство детей, рожденных от матерей, инфицированных ВГС, имеют материнские антитела к ВГС, которые исчезают через 6—8 месяцев. При обследовании новорожденных на РНК ВГС удалось доказать, что вероятность передачи вируса от матери к ребенку все же имеет место (по разным данным, до 5% случаев). Риск инфицирования существенно повышается при высокой концентрации вируса в крови и при сопутствующей ВИЧ-инфекции, а также при родовых травмах и кормлении грудью.

Подавляющее большинство случаев инфицирования ВГС происходит при «горизонтальном» пути передачи (от индивидуума к индивидууму). В недалеком прошлом наиболее распространенным способом инфицирования являлся пост-трансфузионный, т. е. при переливании крови. В основной группе риска находились больные гемофилией, талассемией и другими заболеваниями крови. Среди гемофиликов доля инфицированных ВГС была очень высока (до 90%). Известны случаи инфицирования больших групп беременных женщин с резус-конфликтом, получавших внутривенные инъекции иммуноглобулина Д.

Благодаря установленным сейчас нормативам обследования доноров, переливание крови, внутривенный прием ге-моконцентратов и других продуктов крови стали более безопасными. В настоящее время крупнейшей и постоянно растущей группой повышенного риска являются не больные гемофилией, а наркоманы, использующие наркотики внутривенно. Это так называемый «инъекционный» путь заражения. Передача вируса происходит при использовании общего шприца или иглы. Бывают случаи, когда зараженным оказывается сам наркотик. Доля инфицированных вирусом среди наркоманов высока, но значительно колеблется в разных странах и достигает до 50% в некоторых регионах России. Дополнительными факторами риска для этой группы служат сопутствующая ВИЧ-инфекция и увлечение татуировками.

Небольшую часть заразившихся «инъекционным» путем составляют пациенты, инфицированные в медицинских центрах, где не используются одноразовые шприцы и нарушаются правила стерилизации медицинских инструментов. Также не исключена возможность инфицирования в центрах гемодиализа, и даже в стоматологических и гинекологических кабинетах при несоблюдении всех требований безопасности. Определенное значение имеет инфицирование медперсонала из-за возможности случайных травм при медицинских манипуляциях.

Наряду с этим существуют и менее очевидные способы передачи вируса. Например, в Японии, где ВГС-инфекция является гиперэндемичной (выявление антител у 20% населения), основной причиной столь высокой распространенности является использование нестерильных иглолок в практике народной медицины (включая акупунктуру и подобные методики). Таким образом, как традиционная, так и нетрадиционная медицина может быть повинна в инфицировании гепатитом С некоторой части пациентов и медперсонала.

Возможна половая передача вируса. Вероятность инфицирования половым путем велика при сопутствующей ВИЧ-инфекции, при большом количестве сексуальных партнеров и, возможно, при большой продолжительности брака. Есть данные о более частом инфицировании женщин, контактировавших с больными гепатитом С мужчинами, чем мужчин-партнеров больных женщин. У гомосексуалистов, не принимавших внутривенно лекарственные препараты или наркотики, антитела к ВГС (маркеры инфицирования) обнаруживаются в 1—18% случаев, и тем чаще, чем больше было в жизни обследованных сексуальных партнеров.

В исследованиях, посвященных бытовому способу передачи ВГС, его маркеры обнаруживаются у 0—11 % лиц, контактировавших с больными гепатитом С. Определение идентичных субтипов ВГС в семьях подтверждает малую вероятность его бытовой передачи. Однако у 40—50% больных гепатитом С не удается выявить никаких парентеральных факторов риска, и эти случаи рассматриваются как контактно-приобретенный гепатит С, при

котором заражение происходит через случайную травму кожи.

Итак, основные факторы риска инфицирования гепатитом С:

— внутривенное введение лекарств и наркотиков;

— переливание крови и ее препаратов;

— гемодиализ;

— татуировка;

— сексуальное поведение с высоким риском заражения; - пересадка органов от ВГС-положительных доноров;

— несоблюдение санитарно-гигиенических норм в медицинских учреждениях.

В современных условиях, когда вакцины не существует, а лечение является дорогостоящим и часто неэффективным, своевременная диагностика ВГС имеет важнейшее значение для ограничения и выявления групп эпидемиологического риска.

Профилактика. Механизмы иммунного ответа при гепатите С-инфекции до сих пор остаются не вполне ясными. Эксперименты на животных показали, что перенесенная гепатит-инфекция не исключает заражения другими штаммами вируса С, что является одной из причин отсутствия вакцины для профилактики этой инфекции. В связи с этим основными методами профилактики гепатита С остаются тщательный контроль препаратов крови и всех биологических препаратов, применяемых в медицине, использование одноразовых медицинских инструментов для инвазивных процедур, активная просветительская деятельность.

§ 4. Вирус полиомиелита

Полиомиелит (polios — серый, myelos — спинной мозг) (детский спинномозговой паралич, спинальный детский паралич, болезнь Гейна—Медина) — острое вирусное заболевание, характеризующееся поражением нервной системы (преимущественно серого вещества спинного мозга), а также воспалительными изменениями слизистой оболочки кишечника и носоглотки. Острая инфекционная болезнь, вызываемая вирусом из группы энтеровирусов, которая передается фекально-оральным (контактно-бытовым путем — через воду, продукты питания, грязную посуду и пр.) и воздушно-капельным путем. Вызывается тремя штаммами вирусов.

Инкубационный период длится от 3 до 14 дней. Пожизненный иммунитет формируется только против того типа возбудителя, который вызвал болезнь.

Началу болезни предшествует ослабление защитных сил организма вследствие поноса, простуды, кори, операций, спортивных перегрузок.

Возбудитель (poliovirus hominis) относится к группе пикорнавирусов, к семейству энтеровирусов, куда также входят Коксаки- и ЕСНО-вирусы. Различают три серотипа вируса (I, II, III). Наиболее часто встречается I тип. Размеры вируса — 8—12 нм, содержит РНК. Устойчив во внешней среде (в воде сохраняется до 100 сут., в испражнениях — до 6 месяцев), хорошо переносит замораживание, высушивание. Не разрушается пищеварительными соками и антибиотиками. Культивируется на клеточных культурах, обладает цитопатогенным действием. Погибает при кипячении, под воздействием ультрафиолетового облучения и дезинфицирующих средств.

Единственным источником инфекции является человек, особенно больные легкими и стертыми формами заболевания. Число последних значительно превышает число больных клинически выраженными формами полиомиелита. Заболевают преимущественно дети до 10 лет (60—80% заболеваний приходится на детей в возрасте до 4 лет). Заболевание чаще наблюдается в летне-осенние месяцы (максимум в августе—октябре). Характерен фекально-оральный механизм передачи, возможна также передача инфекции воздушно-капельным путем. Во внешнюю среду вирус полиомиелита попадает вместе с испражнениями больных; он содержится также в слизи носоглотки примерно за 3 дня до повышения температуры и в течение 3—7 дней после начала болезни. В последние годы в большинстве стран, в том числе и в России, заболеваемость резко снизилась в связи с широким применением эффективной иммунизации живой вакциной.

Патогенез. Входными воротами инфекции является слизистая оболочка носоглотки или кишечника. Во время инкубационного периода вирус размножается в лимфоидных

образованиях глотки и кишечника, затем проникает в кровь и достигает нервных клеток. Наиболее выраженные морфологические изменения обнаруживаются в нервных клетках передних рогов спинного мозга. Нервные клетки подвергаются дистрофическим-некротическим изменениям, распадаются и гибнут.

С меньшим постоянством подобным же, но менее выраженным изменениям подвергаются клетки мозгового ствола, подкорковых ядер мозжечка и еще в меньшей степени — клетки двигательных областей коры головного мозга и задних рогов спинного мозга. Часто отмечается гиперемия и клеточная инфильтрация мягкой мозговой оболочки. Гибель 14—13 нервных клеток в утолщениях спинного мозга ведет к развитию пареза. Полные параличи возникают при гибели не менее 14 клеточного состава.

После окончания острых явлений погибшие клетки замещаются глиозной тканью с исходом в рубцевание. Размеры спинного мозга (особенно передних рогов) уменьшаются: при одностороннем поражении отмечается асимметрия. В мышцах, иннервация которых пострадала, развивается атрофия. Изменения внутренних органов незначительные — в первую неделю отмечается картина интерстициального миокардита. Перенесенное заболевание оставляет после себя стойкий, типоспецифический иммунитет.

Симптомы. Инкубационный период продолжается в среднем 5—12 дней, возможны колебания от 2 до 35 дней. Различают непаралитическую и паралитическую формы полиомиелита.

Непаралитическая форма протекает чаще в виде так называемой «малой болезни» (абортивная или висцеральная форма), которая проявляется кратковременной лихорадкой, катаральными (кашель, насморк, боли в горле) и диспепсическими явлениями (тошнота, рвота, жидкий стул). Все клинические проявления обычно исчезают в течение нескольких дней. Другим вариантом непаралитической формы является легко протекающий серозный менингит.

В развитии паралитического полиомиелита выделяют 4 стадии: препаралитическую, паралитическую, восстановительную и стадию остаточных явлений. Заболевание начинается остро со значительным повышением температуры тела. В течение первых 3 дней отмечается головная боль, недомогание, насморк, фарингит, возможны желудочно-кишечные расстройства (рвота, жидкий стул или запор). Затем после 2—4 дней апиреksии появляется вторичная лихорадочная волна с резким ухудшением общего состояния. У некоторых больных период апиреksии может отсутствовать. Температура тела повышается до 39—40°C, усиливается головная боль, появляются боли в спине и конечностях, выраженная гиперестезия, спутанность сознания и менингеальные явления. В ликворе — от 10 до 200 лимфоцитов в 1 мкл. Могут наблюдаться снижение мышечной силы и сухожильных рефлексов, судорожные вздрагивания, подергивание отдельных мышц, тремор конечностей, болезненность при натяжении периферических нервов, вегетативные расстройства (гипергидроз, красные пятна на коже, «гусиная кожа» и другие явления). Препаралитическая стадия длится 3—5 дней.

Начальная стадия длится несколько дней с неопределенными симптомами: оглушенность, умеренное повышение температуры, насморк, боли в горле, затруднение глотания, боли в конечностях, головные боли. Позже присоединяются тошнота, рвота, боли в животе, запоры или поносы. Настораживает обильное потоотделение. При так называемой абортивной форме полиомиелита (когда заболевание протекает в легкой форме) болезнь может завершиться уже на этой стадии.

В остальных случаях после «светлого промежутка» в течение нескольких дней, когда температура нормализуется и жалобы исчезают, заболевание прогрессирует. В препаралитическую стадию, которая длится от 2 до 7 дней, в патологический процесс вовлекаются мозговые оболочки, что проявляется новым подъемом температуры, головной болью, рвотой, повышенной чувствительностью к прикосновению, ригидностью затылочных мышц, позже присоединяется мышечная слабость.

В некоторых случаях наступает паралитическая стадия. На фоне повышения температуры развиваются одно- и двусторонние вялые параличи, преимущественно конечностей. Они поражают некоторые группы мышц или распространяются в тяжелых случаях на

дыхательную мускулатуру.

Бульбарная форма полиомиелита, при которой поражаются дыхательный и сосудодвигательный центры, расположенные в продолговатом мозгу, является наиболее опасной. После снижения температуры наступает период, во время которого происходит восстановление функции пораженных мышц в течение нескольких дней. В тяжелых случаях выздоровление может длиться несколько месяцев или даже лет. Полное восстановление возможно не всегда.

Осложнения: пневмония, ателектазы легких, интерстициальный миокардит; при бульбарных формах иногда развиваются острое расширение желудка, тяжелые желудочно-кишечные расстройства с кровотечением, язвами, прободением, илеусом.

Вероятности развития «сценариев» болезни: 80—90% — это легкое заболевание, в остальных 10% оно вызывает паралич. В случае паралича около 25% получают серьезные нарушения, около 25% получают средний паралич и 50% излечиваются. Смертность составляет от 1 до 4%.

Диагноз и дифференциальный диагноз. При типичных проявлениях у больного паралитической формы ее распознавание не представляет затруднений. Для полиомиелита характерны острое лихорадочное начало, быстрое развитие вялых параличей, их асимметричность, преимущественное поражение проксимальных отделов конечностей, своеобразная динамика изменений ликвора. Значительные трудности представляет распознавание полиомиелита в ранней препаралитической стадии и его непаралитических форм.

Диагноз устанавливается на основании клинической симптоматики (менингеальные симптомы, слабость отдельных мышечных групп, ослабление сухожильных рефлексов), эпидемиологических предпосылок (наличие полиомиелита в окружении пациента, летнее время) и данных лабораторного исследования (выделение вируса на культурах тканей, РСК и реакция преципитации со специфическим антигеном в парных сыворотках).

Дифференциальный диагноз проводится с острым миелитом, полирадикулоневритом, ботулизмом, клещевым энцефалитом, серозными менингитами, дифтерийными параличами, полиомиелитоподобными заболеваниями, вызываемыми вирусами ЕСНО и Коксаки.

Вакцинация — основная составляющая профилактики полиомиелита. Широкое применение вакцинации в развитых странах привело практически к полному исчезновению заболевания.

Эффективность вакцины. Однократное применение оральной полиомиелитной вакцины дает эффект 50%. Трехкратная вакцинация вызывает иммунитет у 95% вакцинированных. Сниженная эффективность наблюдается, как правило, в странах третьего мира, особенно там, где жарко (вакцина чувствительна к теплу).

Длительность действия. Пожизненный иммунитет.

Живая и мертвая вакцина:

Живая аттенуированная вакцина Сейбина — оральная живая вакцина (ОПВ) дает лучший иммунитет, эта форма обычно рекомендуется, однако она несет риск паралича.

Инактивированная поливалентная вакцина Солка (ИПВ). Лица, вакцинированные этой вакциной, менее иммунны против дикого штамма полиовируса, хотя и защищены от паралитической стадии болезни.

Побочные эффекты. ОПВ является одной из самых безопасных вакцин. В редчайших случаях (1 на несколько миллионов доз вакцины) были описаны случаи вакцино-ассоциированного паралитического полиомиелита (все случаи поствакцинального паралича вызывались первой или второй вакцинацией оральной полиомиелитной вакциной). Ассоциированный с вакциной паралитический полиомиелит (АВПП) с большей вероятностью может возникать у людей, страдающих иммунодефицитом, и при введении первой дозы вакцины. Чаще встречается у лиц старше 18 лет. В настоящее время для выявления лиц, у которых могут возникать такие неблагоприятные реакции, не существует других методов, кроме активной работы по выявлению лиц с иммунодефицитными состояниями.

Для предупреждения даже такого ничтожного числа осложнений в США до настоящего времени была рекомендована так называемая секвенциальная схема вакцинации против полиомиелита, при которой курс прививок начинают с введения ИПВ (первые 2 дозы), а

затем продолжают вакцинацию живой оральной вакциной. С 1 января 2000 г. в США не употребляют живую вакцину. Начиная с 1979 г. в США было зарегистрировано 144 случая полиомиелита, и все они были результатом применения ОПВ. До недавнего времени преимущества ОПВ (кишечный иммунитет, вторичное распространение) перевешивали риск возникновения вакцино-ассоциированного полиомиелита. Сегодня риск заражения диким полиомиелитом в США ничтожен и поэтому было принято решение перейти на вакцинацию инактивированной вакциной. На настоящий момент в литературе не описано случаев серьезных поствакцинальных осложнений в ответ на введение ИПВ. Среди легких реакций бывают незначительная болезненность или припухлость в месте введения вакцины.

Противопоказания:

Для ОПВ: иммунодефицитное состояние (врожденное или приобретенное).

Для ОПВ: контакт с больными иммунодефицитами. В этих условиях ОПВ может быть заменена на ИПВ.

Для ОПВ: онкологические заболевания.

Для ОПВ — неврологические осложнения на предыдущее введение вакцины.

Для ИПВ: анафилактические реакции на неомицин и стрептомицин.

Наличие среднетяжелого или тяжелого заболевания является временным противопоказанием для ИПВ и ОПВ. Однако нетяжелое заболевание, включая умеренную диарею, не является противопоказанием.

В целом ни ОПВ, ни ИПВ не следует давать беременным женщинам, если только нет необходимости в немедленной защите (в этом случае следует использовать ОПВ).

1985 1986 1987 1988 1989 1990 1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997

Рис. 3. Заболеваемость населения полиомиелитом (абсолютное число случаев)

Эпидемиологи считают, что фактически заболеваемость гораздо выше регистрируемой, так как многие случаи заболевания проходят под другими диагнозами и в официальную статистику не попадают. В 1995 г. в Чеченской республике наблюдалась вспышка полиомиелита — заболело 143 человека и еще 3 человека заболели в соседней Ингушетии.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) разработала расширенную программу иммунизации, ставящую своей целью ликвидировать полиомиелит в мире к 2000 г. Ликвидация полиомиелита, по мнению экспертов ВОЗ, возможна только после достижения 90% охвата прививками всех подлежащих вакцинации на всей территории страны или региона и наличия антител более чем у 80% привитых.

В России в 1996 г. проведена большая работа по профилактике полиомиелита. В результате проведенных Национальных дней иммунизации было двукратно привито около 99% детей в возрасте до 3 лет. В апреле и мае 1997 г. также проведены два тура иммунизации против полиомиелита. Благодаря беспрецедентной прививочной кампании удалось взять под контроль и снизить заболеваемость полиомиелитом в стране до единичных случаев. В 1996 г. зарегистрировано только 3 случая заболевания полиомиелитом в районах Чеченской республики, где не были произведены массовые прививки. В 1997 г. в России зарегистрирован всего 1 случай заболевания.

Вакцина полиомиелитная пероральная 1, 2, 3-го типов

Живая вакцина против полиомиелита (Россия).

Состав: трехвалентный препарат содержит: ослабленные вирусы полиомиелита, тип 1 — не менее 1 тыс.; тип 2 — не менее 100 тыс.; тип 3 — не менее 300 тыс. Монопрепараты содержат на менее 10⁷ инфекционных единиц в 1 мл.

Противопоказания:

острые заболевания, сопровождающиеся лихорадкой или системными расстройствами; иммунодефицитные состояния, злокачественные заболевания крови и новообразования; неврологические расстройства, сопровождавшие предыдущую вакцинацию полиомиелитной вакциной. Побочные реакции:

чрезвычайно редко могут наблюдаться аллергические осложнения в виде сыпи или отека Квинке; крайнюю редкость представляют вакцино-ассоциированные заболевания как у привитых, так и у лиц, контактных с привитыми, которые наблюдаются не чаще, чем 1—3 случая на 3 млн привитых.

Тетракокк 05

Вакцина для профилактики коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита Aventis Pasteur (Франция). Состав:

Очищенный дифтерийный анатоксин — 30 МЕ.

Очищенный столбнячный анатоксин — 60 МЕ.

Bordetella pertussis — минимум 4 МЕ.

Инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита, вызываемого вирусом 1-го, 2-го и 3-го типов — по 1-й вакцинной дозе.

Противопоказания:

прогрессирующая энцефалопатия, сопровождающаяся судорогами или без таковых; выраженная реакция на предыдущее введение вакцины, содержащей коклюшный компонент; повышение температуры тела до 40°C и выше, синдром длительного плача, судороги, шок (в случае возникновения в течение 48 часов после введения препарата). Побочные реакции: возможны эритема или появление уплотнения в месте инъекции; повышение температуры тела (до 38—39°C);

9. Зак. 361 как правило, побочные реакции протекают легко и являются преходящими, особенно, если превентивно назначаются салицилаты, барбитураты или антигистаминные препараты; в очень редких случаях коклюшный компонент может вызвать неврологические реакции (судороги, энцефалит, энцефалопатия). Вместе с тем, эти поствакцинальные осложнения наблюдаются в 100—1000 раз реже, чем осложнения в результате заболевания коклюшем.

Имовакс полис

Инактивированная вакцина против полиомиелита. (Aventis Pasteur, Франция).

Состав: Инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита, вызываемого вирусом 1-го, 2-го и 3-го типов — по 1-й вакцинной дозе.

Противопоказания:

острые инфекционные заболевания; подтвержденные аллергические реакции на стрептомицин.

Побочные реакции:

местные реакции: незначительная эритема в месте инъекции; общие реакции: редко — повышение температуры тела.

Полно Сэбин Веро

Живая вакцина против полиомиелита (Aventis Pasteur, Франция).

Состав: живой вирус полиомиелита 1-го, 2-го и 3-го типов — 1 доза.

Противопоказания:

врожденный или приобретенный иммунодефицит. Побочные реакции:

крайне редко — аллергические реакции; возможно развитие вакцино-ассоциированного заболевания у привитых или контактировавших с ними лиц с частотой 1 на 3 млн привитых.

§ 5. Вирус бешенства

Возбудитель бешенства относится к семейству Рабдови-руссы. Семейство это включает вирусы бешенства, везикулярного стоматита и другие вирусы, вызывающие заболевания у животных и насекомых.

На протяжении тысячелетий все человечество страдало от этой страшной болезни — бешенства. Упоминание об этом заболевании встречается в «Илиаде» Гомера, трудах Аристотеля и Авиценны. В I в. до н.э. римский ученый Цельский предложил выжигать укушенные места каленым железом. Это болезненное мероприятие спасало только в том случае, если рана была невелика и прижигание производилось немедленно после укуса. Существовали и другие средства, но все они оказывались малоэффективными.

Впервые бешенство изучил Л. Пастер в 1880 г.

В 1886 г. группа одесских врачей на свои средства командировала Н. Ф. Гамалея к Пастеру в Париж для ознакомления с методом приготовления вакцины против бешенства. После его возвращения в Одессе была открыта лаборатория, где изготовлялась антирабическая вакцина.

Морфологическая структура. Возбудитель бешенства имеет палочковидную (пулевидную)

форму, один конец которой плоский, другой— вытянутый. Размер 80—180 нм. Вирион содержит одонитчатую РНК, окруженную капси-дом. Снаружи капсид покрыт оболочкой, в состав которой входят гликопротеиды и гликолипиды. В оболочке имеются шиловидные образования (пепломеры).

В цитоплазме пораженных вирусом клеток образуются специфические включения, описанные Бабешем (1892) и Не-гри (1903). Поэтому их называют тельца Бабеша—Негри. Величина этих телец от 3—4 до 20 мкм. Они разной формы, чаще сферической, но бывают овальной и многоугольной. Кислые красители окрашивают их в рубиново-крас-ный цвет.

Тельца Бабеша—Негри располагаются в цитоплазме нервных клеток головного мозга. Обнаружение этих телец имеет диагностическое значение.

Культивирование. Вирус бешенства культивируется в мозговой ткани мышей, цыплят, кроликов, в куриных эмбрионах, эмбрионах телят, овец и культурах клеток разного вида животных.

Антигенная структура. Вирусы бешенства не имеют антигенных разновидностей. Существуют два вируса бешенства: дикий, циркулирующий среди животных, вирулентный и для человека, названный «уличным вирусом». Другой вирус бешенства Л. Пастер получил в лабораторных условиях путем последовательных, длительных пассажей (133 раза) уличного вируса через мозг кролика. При этом сократилась продолжительность инкубационного периода при заражении кролика с 21 до 7 дней. Дальнейшие пассажи уже не меняли время инкубации, оно зафиксировалось на 7 дней, и вирус был назван фиксированным (*virus fixe*). В процессе пассажей вирус адаптировался к мозгу кролика и потерял способность вызывать заболевания у человека, собак и других животных. Однако свои антигенные свойства он полностью сохранил, поэтому его используют для приготовления анти-рабической (против бешенства) вакцины.

Резистентность. Вирус бешенства хорошо устойчив к низким температурам. Долго сохраняется в нервной ткани, иногда и после смерти животного. Инактивируется при кипячении в течение 2 минут. Погибает под действием солнечного света и ультрафиолетовых лучей. Чувствителен к дезинфицирующим растворам и эфиру.

Источники инфекции. Дикие и домашние больные животные.

Пути передачи. Вирус бешенства передается прямым контактным путем от больных животных (укусы) либо при попадании слюны больного животного на поврежденную поверхность кожи или слизистых оболочек.

Патогенез. От момента укуса или ослюнения до заболевания человека проходит от 15—45 дней до 3—6 месяцев (описаны случаи инкубации свыше года). Длительность инкубации зависит от ворот инфекции, характера повреждения ткани. Наиболее короткий период инкубации при укусах в лицо и голову.

Из места внедрения вирусы распространяются по нервным стволам и попадают в клетки центральной нервной системы. Наибольшее количество вируса концентрируется в гип-покампе, продолговатом мозгу, черепных ядрах и в поясничной части спинного мозга. В нервных клетках вирус репродуцируется (размножается). В результате поражения нервной системы появляется повышенная рефлекторная возбудимость: судороги, особенно дыхательных и глотательных мышц. Возникает одышка и водобоязнь (гидрофобия). Одно представление о питье вызывает у больных сильные болезненные судороги. Смерть наступает через 4—5 дней. Летальность 100%.

Клиническая картина бешенства у собак. Животное становится угрюмым, появляется слюнотечение. Собака начинает пожирать несъедобные вещи — камни, щепки и прочие. Затем наступает период возбуждения. Собака бежит по прямой линии, низко наклонив голову. Нападает на встречающихся людей, животных без лая и кусает их. Период возбуждения сменяется параличами и гибелью животного.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет изучен не достаточно. Механизм иммунитета, возникающего после прививки, связан с вируснейтрализующими антителами, которые появляются через 2 недели после вакцинации, а также с интерференцией вакцинного и уличного вирусов. Феномен интерференции состоит в том, что фиксированный вирус значительно быстрее достигает клеток нервной системы, размножается в них и препятствует

внедрению уличного вируса. Иммунитет сохраняется в течение 6 месяцев.

Профилактика. Уничтожение бешеных животных, бродячих собак. Регистрация собак и обязательная их вакцинация. В случае укуса немедленная обработка ран.

Специфическая профилактика. Введение антирабической вакцины предложил Л. Пастер. В настоящее время для лечебно-профилактической иммунизации бешенства используют следующие вакцины:

- 1) вакцина антирабическая культуральная из штамма Вну-кова-32;
- 2) вакцина антирабическая культуральная очищенная инактивированная «Рабивак».

Используют с 1993 г.

Вводят внутримышечно по 1 мл, это разовая доза. Сразу же после укуса на 3, 7, 14, 30-й день. Ревакцинация на 90-й день.

Противопоказания к прививкам

- 1) острые инфекционные и неинфекционные заболевания и хронические заболевания в стадии обострения;
- 2) системные аллергические реакции на предшествующие введения препаратов;
- 3) аллергические реакции на аминокислоты;
- 4) беременность.

В вышеперечисленных ситуациях применяют иммуноглобулин гетерологичный (лошадиный) или гомологичный (человеческий).

Особенности проведения антирабической иммунизации I. Если нет глубоких повреждений и произошло ослонение кожных покровов или одиночные укусы или царапины, туловища, верхних и нижних конечностей кроме головы, лица, шеи, кисти.

1. Животное в момент укуса и в течение 10 суток наблюдения — здорово, вакцинация не назначается.

2. Животное в момент укуса здорово, в течение 10 суток заболело, погибло или исчезло — лечение начинают от момента появления признаков болезни у животного или от момента исчезновения.

3. Животное с подозрением на бешенство. Лечение проводить немедленно, если в течение 10 суток животное здорово — лечение прекращают.

II. Если произошел укус головы, шеи, лица, кисти, гениталии.

1. Животное в момент укуса здорово или с подозрением на бешенство. Проводят комбинированное лечение: вакцина + иммуноглобулин — немедленно. В течение 10 суток животное здорово — лечение прекращается.

2. Наблюдение за животным невозможно. Проводят комбинированное лечение полным курсом.

§ 6. Цитомегаловирусная инфекция

Несмотря на то, что прошло более столетия после первого описания цитомегалии и треть века после открытия цито-мегаловируса, только недавно выяснилось широкое распространение этой инфекции и ее значение в акушерстве, неонатологии, педиатрии, клинической вирусологии, трансфузиологии и трансплантологии. Отмечается тот факт, что цито-мегаловирусная инфекция (ЦМВ) является одной из наиболее частых причин внутриутробной и перинатальной инфекции.

Этиология. Цитомегаловирус относится к семейству герпетических вирусов. Для них характерна способность персистировать в организме с нерегулярной продукцией вирусных частиц и обострениями хронической инфекции. Особенности ЦМВ по сравнению с другими вирусами является необычайно крупный ДНК-геном, возможность репликации без повреждения клетки, меньшая цитопатогенность в культуре тканей, медленная репликация вируса, сравнительно низкая вирулентность и более узкий спектр хозяев, меньшая чувствительность к аналогам нуклеозидов и резкое подавление клеточного иммунитета со снижением соотношения CD4/CD8.

Специфическая лабораторная диагностика ЦМВ приобретает особое значение. Для обнаружения вируса и его антигенов существует ряд методик. Изоляция ЦМВ на клеточной культуре основана на характерном цитопатическом эффекте, который при ЦМВ развивается медленно — в традиционном исполнении 2—3 недели. Тем не менее, культивирование ЦМВ

считается самым достоверным и надежным методом диагностики. В последнее время это исследование значительно усовершенствовано и доведено до уровня экспресс-метода, позволяющего с помощью центрифугирования и последующего применения моноклональных антител выявить в культуре тканей ранние антигены ЦМВ. Материалом для заражения культуры тканей могут служить слюна, моча, кровь, цервикальное отделяемое, амниотическая жидкость, сперма, образцы тканей при биопсии и аутопсии. Следует учитывать малую устойчивость ЦМВ во внешней среде и потому в вирусологическую лабораторию следует направлять свежий материал.

Дальнейшим шагом к рационализации обнаружения антигенов ЦМВ является применение молекулярной гибридизации, которая позволяет без применения культуры тканей обнаруживать вирусную ДНК непосредственно в исследуемых образцах.

Цитоскопический анализ осадков слюны и мочи основан на способности ЦМВ проникать в клетку с помощью виро-пексиса. При этом в одной клетке накапливается до 10 тыс. вирусных частиц, формирующих крупные внутриядерные включения, значительно увеличивающие размеры инфицированной клетки. Так возникает цитомегалическая клетка, которую называют «совиным глазом».

Выявление цитомегалической клетки при гистоисследовании материалов аутопсии имеет бесспорное диагностическое значение, так же как и обнаружение антител к ЦМВ. Значительные преимущества имеет метод иммунофлюоресцентного анализа, позволяющий определять антитела М и G к ЦМВ, а также конкурирующий с ним по чувствительности ИФА. Первый метод более доступен, но в то же время второй более точен и чувствителен. В ряде лабораторий успешно применяется твердофазный иммуноанализ. Наиболее современным методом является иммуноблоттинг, позволяющий с помощью полиакриламидного гель-электрофореза определять весь спектр антител к ЦМВ.

Эпидемиология. Источниками инфекции могут являться хронические носители ЦМВ или больные с различными вариантами цитомегаловирусной инфекции, а точнее — их биологические жидкости и выделения: кровь, моча, слюна, вагинальное отделяемое, слезы, грудное молоко, спинномозговая и амниотическая жидкости, отделяемое носоглотки, сперма, фекалии и др. Особенно велик риск инфицирования новорожденных при замененных переливаниях крови или повторных гемотрансфузиях от эпидемиологически опасных доноров. В то же время обнаружено, что донорская кровь при хранении в течение 2 дней при температуре 4°C реже сохраняет ЦМВ, чем свежая. В трансплантологии источником ЦМВ являются донорские ткани и органы. Особенно велик риск при пересадке костного мозга и почек.

Давно было известно, что женщина может быть источником передачи ЦМВ новорожденному, но в последнее время также установлено, что возможна передача ЦМВ от детей взрослым и прежде всего родителям.

Механизм передачи ЦМВ предполагает в первую очередь тесный контакт между беременной (родильницей) и плодом (новорожденным), между сексуальными партнерами, между детьми в закрытых детских коллективах. В настоящее время установлено, что интранатальная или ранняя постнатальная передача ЦМВ происходит в 10 раз чаще, чем трансплацентарная. В послеродовом периоде эпидемиологическая опасность матери для новорожденного также сохраняется. Это связано с нарушением женщиной гигиенических норм, а также с возможностью передачи вируса через грудное молоко (20% серопозитивных матерей имеют ЦМВ в грудном молоке и 76% их детей оказываются инфицированными).

ЦМВ является полигистиотропным, но особый тропизм он проявляет к слюнным железам. Отсюда реальна возможность передачи вируса при поцелуях, в отношении матери с ребенком.

Следует отметить, что первичная ЦМВ-инфекция у беременных возникает значительно реже, чем обострения хронической, но в то же время представляет большую опасность для плода и новорожденного. Генетическая предрасположенность также определяет восприимчивость к ЦМВ-инфекции. Что же касается суперинфекции при ЦМВ, то возможность ее возникновения недостаточно изучена, хотя с учетом вариантов ЦМВ-инфекции у человека она является теоретически возможной.

Клинико-патогенетические варианты ЦМВ-инфекции. Обнаружение ЦМВ не означает развития заболевания. В большинстве случаев формируется вирусоносительство или субклиническая, инаппарантная хроническая форма инфекции, не вызывающая вне иммунодепрессии никаких субъективных нарушений или объективных клинических проявлений. Состоянию длительной (нередко пожизненной) латенции ЦМВ способствует его внутриклеточное сохранение в лимфоцитах, где он надежно защищен от действия специфических антител и интерферона. По-видимому, надежным пристанищем для ЦМВ могут явиться и моноциты, реже — по-лиморфноядерные лейкоциты.

Многообразие клинико-патогенетических форм ЦМВ-инфекции связано в большинстве случаев с бессимптомной латенцией и с полиморфизмом ее клинических проявлений. Диапазон клинических вариантов необычайно широк — от едва выраженного сиалоаденита, благоприятно текущего мо-нонуклеозоподобного заболевания, до тяжелых поражений печени, легких и мозга, а также шока, который вызван деструкцией надпочечников при диссеминированной ЦМВ-инфекции. Последние формы особенно часто возникают при СПИДе. Появление ЦМВ-вирусемии при СПИДе расценивается как прогностически неблагоприятный признак.

ЦМВ и иммунодепрессия — наиболее важная особенность патогенеза цитомегалии. Это связано с тем, что для ЦМВ характерна реактивация в условиях так или иначе возникшего иммунодефицита. Наиболее ярким проявлением этой закономерности является присоединение ЦМВ к ВИЧ-инфекции.

Теоретически у беременной женщины возможно развитие любого из множества клинико-патогенетических вариантов ЦМВИ. В то же время многолетний опыт убеждает, что в этих случаях речь почти всегда идет об обострении хронической или латентной ЦМВИ, которая, как правило, не имеет ярких клинических проявлений у матери. При этом у женщины в анамнезе имеются указания на привычное невынашивание беременности, неразвивающуюся беременность, мертворождение, рождение нежизнеспособных детей, а также детей-инвалидов с врожденными пороками развития.

Первичная ЦМВИ у беременных возникает в 1—4% случаев и сопровождается 50% риском внутриутробного заражения плода. Обострение хронической или латентной ЦМВИ чаще (10—20%) возникают у серопозитивных беременных. Несмотря на то, что ЦМВ выявляется у 1—2% всех новорожденных, только 0,05—0,1% из них страдают от цитоме-галовирусных заболеваний. Даже при развитии во время беременности первичной ЦМВИ 90—95 % женщин имеют шанс родить здорового ребенка.

У женщины с доказанной ЦМВИ и отягощенным акушерским анамнезом наиболее вероятной и частой причиной внутриутробной гибели плода является ЦМВИ. Подобная ситуация может потребовать принятия неотложных практических решений: сохранять беременность у инфицированной ЦМВ женщины или считать ее противопоказанной. Трудности в решении этого вопроса возникают на поздних сроках беременности. При решении вопроса о сохранении беременности при ЦМВИ приходится учитывать не только ближайшие возможные отрицательные последствия, но и отдаленные исходы для ребенка. В 10% наблюдений у внутриутробно инфицированных детей в последующем возникают нарушения слуха и интеллекта, а также другие неврологические нарушения.

Лечение. Надежной противовирусной терапии при ЦМВИ до настоящего времени нет, хотя ведутся интенсивные поиски в этом направлении. Не оправдались надежды на противовирусные препараты широкого спектра действия, такие как видарабин или аденин-арабинозид, виразол, а также ацикловир. К перспективным противовирусным препаратам при ЦМВИ относятся новые лекарственные средства — ганцикловир и фоскарнет, которые в нашей стране не изучены. Использование с лечебной целью интерферо-нов при ЦМВИ малорезультативно, но их изучение продолжается.

§ 7. Клещевой энцефалит

Переносчики — клещи *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*.

Резервуарами и переносчиками инфекции в природе являются иксодовые клещи, распространенные почти во всех странах Европы, на европейской части России и в Сибири. После кровососания на больном животном, через 5—6 дней вирус проникает во все органы

клеща, концентрируясь в половом аппарате, кишечнике и слюнных железах (что объясняет передачу вируса человеку при укусе этого насекомого). Заражение человека может произойти также при раздавливании и втирании присосавшегося клеща, при употреблении в пищу инфицированного сырого козьего и коровьего молока. Вирус сохраняется в течение всей жизни клеща, т. е. в течение 2—4 лет, что делает клещей «ценным» природным резервуаром инфекции. Показатель зараженности клещей неоднороден от региона к региону и от сезона к сезону, колеблясь в пределах от 1 до 20% (максимальный зарегистрированный показатель составляет 70%). Вирус передается между поколениями клеща. Насекомое способно паразитировать на 100 видах животных.

Период наибольшей активности клещей падает на весну и первую половину лета, что отражено в названии инфекции, которую они переносят, — «весенне-летний энцефалит». По всей видимости, это связано с климатическими условиями в естественном ареале клещей, в лесу — умеренная влажность, относительная прохлада, тень, обилие удобной для охоты зелени.

Сидя на травинках или на деревьях, клещи терпеливо ждут, пока мимо них пройдет животное или человек. Клещи не могут летать или прыгать, они могут только зацепиться за проходящую мимо и задевающую их жертву или же упасть на нее. Как и в случае других кровососущих насекомых, укус клеща может остаться незамеченным довольно долгое время, благодаря присутствию в его слюне особых разжижающих кровь (антикоагулянтов) и обезболивающих веществ. Именно по этой причине, простой, но очень эффективной мерой по обнаружению присосавшегося клеща являются само- и взаимоосмотры по выходе из леса и на привалах. Самцы клеща, в отличие от самок, присасываются на очень короткое время, что является еще одной причиной того, что многие заболевшие не помнят факта укуса.

Не исключено и заражение людей, не посещавших лес. Это может произойти при заносе клещей животными (собаками, кошками) или людьми — на одежде, с цветами, ветками и т. д.

Помимо вируса весенне-летнего энцефалита, клещ может нести в себе возбудителей других инфекций — клещевого боррелиоза (болезни Лайма), клещевого сыпного тифа, Кулихорадки, лептоспироза.

Возбудитель и распространенность инфекции. Возбудитель инфекции — это вирусы семейства *Flaviviridae*. Вирус в целом довольно чувствителен к факторам внешней среды — он быстро погибает при комнатной температуре, нагревании до 60°C в течение 10—20 минут, при кипячении — через 2 минуты. Быстро разрушается под действием дезинфектантов. Однако в высушенном состоянии может сохраняться годами, в молоке и молочных продуктах — до 2 месяцев.

Выделяют два принципиально важных географических, клинических и биологических варианта вируса и заболевания.

Дальневосточный, самый тяжелый вариант клещевого энцефалита, впервые описанный экспедицией известного русского иммунолога Л. Зильбера, был выявлен в Приморском и Хабаровском крае в 1931 г. и назван «таежным весенне-летним энцефалитом». В это же время, в 1931 г., в Австрии, Шнайдером была описана сезонная вспышка менингитов, позднее идентифицированных как европейский вариант клещевого энцефалита.

В 1939 г. клещевой энцефалит был выявлен на европейской части территории России (было установлено его широкое распространение от восточных до западных границ России — от Приморья до Карелии) и в большинстве европейских стран. Сам вирус клещевого энцефалита был впервые выделен в 1949 г.

До начала массовых кампаний вакцинации в Европе клещевой энцефалит представлял около половины от всех инфекций центральной нервной системы. Собственно, со времени регистрации крупной вспышки в 1956 г. в лесистой части Австрии, и началась история создания вакцины для профилактики клещевого энцефалита.

В настоящее время инфекция регистрируется в Австрии, Германии, Польше, Чехословакии, Финляндии, Прибалтийских государствах, европейской и дальневосточной части России, Италии, Швейцарии. Максимальные показатели заболеваемости отмечаются в России и Австрии. За неполный

1999 г. в России было зарегистрировано более 1 тыс. случаев заболевания, что на 30% выше показателей 1998 г.

Наибольшему риску подвержены лица, деятельность которых связана с пребыванием в лесу: работники леспромпхозов, геологоразведочных партий, строители автомобильных и железных дорог, нефте- и газопроводов, линии электропередач, топографы, охотники, туристы. В последние годы в числе больных до 75% составляют жители города, заразившиеся в пригородных лесах, на садовых и огородных участках.

Заболевание. Клещевой энцефалит (син.: таежный энцефалит, дальневосточный менингоэнцефалит, клещевой энцефаломиелит, русский весенне-летний менингоэнцефалит, tick-borne encephalitis) — вирусное, природно-очаговое (то есть характерное только для определенных территорий) заболевание с преимущественным поражением ЦНС. Инфекция также поражает и животных — грызунов, домашний скот, обезьян, некоторых лесных птиц (последние являются дополнительным резервуаром инфекции в природе).

Если заражение происходит через молоко (некоторые специалисты даже выделяют такой путь инфицирования и форму заболевания в отдельную инфекцию), вирус сначала проникает во все внутренние органы, вызывая первую волну лихорадки, затем, когда вирус достигает своей конечной цели, ЦНС — вторую волну лихорадки. Если же заражение произошло не с пищей (не через рот), развивается другая форма заболевания, характеризующаяся одной волной лихорадки, обусловленной проникновением вируса в головной и спинной мозг и воспалением в этих органах (собственно энцефалит от греч. энкефалон — головной мозг).

Инкубационный период в среднем составляет 1,5—2 недели, иногда затягиваясь до 3 недель. Разную длительность инкубационного периода можно объяснить характером укуса — чем дольше присасывался клещ, тем больше вирусов проникло в организм и тем быстрее будет развиваться заболевание.

Заболевание развивается остро, в течение нескольких дней. Вирус поражает мягкую мозговую оболочку, серое вещество (кору) головного мозга, двигательные нейроны спинного мозга и периферические нервы, что клинически выражается в судорогах, параличах отдельных групп мышц или целых конечностей и нарушении чувствительности кожи.

Позже, когда вирусное воспаление охватывает весь головной мозг, отмечаются общемозговые симптомы — постоянные головные боли, упорная рвота, потеря сознания, вплоть до коматозного состояния или, наоборот, развивается психомоторное возбуждение с утратой ориентации во времени и пространстве.

Могут отмечаться нарушения сердечно-сосудистой системы (миокардит, сердечно-сосудистая недостаточность, аритмия), пищеварительной системы — задержка стула, увеличение печени и селезенки.

Все перечисленные симптомы отмечаются на фоне токсического поражения организма — повышение температуры тела до 39—40°C.

В небольшом проценте случаев, при поражении спинномозговых нервов, заболевание может протекать по типу «радикулита» (полирадикулоневрита).

Тяжесть заболевания зависит от возраста — вероятность выраженного поражения головного мозга резко повышается с возраста 40 лет, при возрасте старше 60 регистрируется максимальная летальность.

Осложнения клещевого энцефалита отмечаются у 30—80% переболевших клинически выраженной формой и в основном представлены вялыми параличами преимущественно верхних конечностей.

Летальность колеблется в пределах от 2% при европейской форме до 20% при дальневосточной (более тяжелой и опасной) форме. Смерть наступает в течение 1 недели от начала заболевания.

Реже встречаются нетипичные варианты заболевания — стертые, гриппо-подобные формы; полиомиелито-подобная форма. Возможно длительное хроническое носительство вируса.

Профилактика. Общие меры по профилактике укусов клещей включают:

ношение в лесу специальной одежды — сапоги, куртки с плотно застегнутыми рукавами; платок или сетка, закрывающая шею; головной убор, закрывающий волосы; само- и взаимоосмотры на выходе из леса и на привалах; скашивание травы и низкорослого

кустарника, рубка сухостоя, освобождение от завалов и пней; применение жидких и аэрозольных репеллентов (специальных химических веществ для борьбы с насекомыми); кипячение сырого козьего и коровьего молока на территориях, где регистрируется клещевой энцефалит.

Специфическая (для клещевого энцефалита) профилактика осуществляется с помощью инактивированных вакцин. Быструю (через 24 часа от момента введения) профилактику также можно осуществлять с помощью однократного введения иммуноглобулина, который защищает на срок до 1 месяца.

Первая помощь при укусе клеща. Для удаления присосавшегося клеща его предварительно смазывают каким-нибудь жиром (вазелином, кремом, подсолнечным маслом), а через 15—20 минут осторожно вытягивают нитяной петлей или пинцетом, покачивая из стороны в сторону. Следует избегать разрушения клеща. Снятое насекомое следует сжечь или залить кипятком, однако его также можно принести с собой в медицинский пункт для установления инфицированности клеща вирусом. Место укуса рекомендуется обработать йодом, перекисью водорода или спирт-содержащим препаратом и тщательно вымыть руки.

Ни в коем случае не следует раздавливать клеща, поскольку в этом случае также может произойти заражение вирусом, содержащимся во внутренних органах клеща.

Вакцины. Принципиально все вакцины для профилактики клещевого энцефалита представляют собой выращенные на куриных эмбрионах, инактивированные формалином вирусы, сорбированные на адьюванте (вещество для усиления иммунного ответа) — гидроокиси алюминия. В качестве дополнительных, стабилизирующих компонентов применяют желатин или альбумин.

На настоящий момент в России доступны четыре вакцины:

Культуральная вакцина

(пр-во НПО Вирион, Томск). Показана для вакцинации детей с 4 лет и взрослых до 65 лет. Курс вакцинации состоит из трех доз по схеме: 0—1—4. Альтернативная схема для быстрой защиты состоит из двух доз с интервалом 1—2 месяца, причем последняя доза вводится не позднее, чем за 2 недели до входа в природный очаг инфекции. Объем вводимой дозы для детей до 6 лет составляет 0,5 мл, для всех остальных — 1 мл. Выпускается в ампулах по 2 мл. Вакцина обладает самым обширным списком противопоказаний, включающим: острый туберкулез и ревматизм, заболевания ЦНС, сердечно-сосудистой системы, почек, печени; аллергические расстройства, эндокринные заболевания (сахарный диабет и др.), онкологические заболевания, болезни крови, беременность.

Концентрированная культуральная вакцина

(пр-во Института полиомиелита и вирусных энцефалитов, Москва, Россия; штамм Софьин).

От первой отличается тем, что может применяться с 18 лет. Курс вакцинации состоит из двух доз с интервалом 5—7 месяцев. Первую ревакцинацию делают одной дозой вакцины через 1—2 года, вторую и последующие — через три года. Противопоказания: активный туберкулез, перенесенная в предыдущие 6 месяцев менингококковая инфекция и вирусный гепатит; наследственные и активные заболевания нервной системы, эпилепсия, пищевая аллергия, бронхиальная астма, заболевания соединительной ткани (напр., ревматизм), болезни крови, перенесенный инфаркт и инсульт, болезни эндокринной системы, злокачественные новообразования, беременность.

«FSME-Immun-Inject» (пр-ва Immuno AG, Австрия в составе компании Baxter, США).

Выпускается в виде шприц-доз, объем дозы — 0,5 мл для всех возрастов. Очень короткий список противопоказаний: острые (или обострения хронических) заболевания, аллергия на компоненты вакцины. Беременность и лактация не являются противопоказанием. Защищает от обоих вариантов инфекции — европейского и дальневосточного. Курс вакцинации состоит из 2 доз, которые вводятся с интервалом от 2 недель до 1 месяца (после такой вакцинации защищенными являются 95% привитых). Первая ревакцинация проводится через 9—13 месяцев после введения второй дозы; повторная ревакцинация — 3 года от момента введения третьей дозы. Может вводиться одновременно с иммуноглобулином. Не имеет возрастных ограничений. Из двух импортных вакцин, доступных в России, наиболее распространена и имеет широкий опыт применения.

«Энцепур»

(пр-ва Chiron Behring, Германия, вирусный штамм К23).

От предыдущей отличается наличием дополнительной схемы вакцинации — три дозы по схеме 0—1—3 недель. Второе отличие — несколько большее число побочных реакций в связи с присутствием в составе вакцины желатина.

Все перечисленные вакцины обладают высокой иммуно-генной активностью. Через две недели после введения последней дозы первичного курса вакцинации иммунитетом обладают от 90 до 97% привитых. Среди побочных реакций преобладают реакции в месте инъекции (покраснение, уплотнение, болезненность). Их отмечают около 8% привитых первой дозой вакцины, с последующими дозами вакцины число побочных реакций снижается. Температурные реакции встречаются у 5% вакцинированных.

Иммуноглобулины. Экстренная профилактика, т.е. профилактика после укуса клеща, может быть проведена с помощью иммуноглобулинов. Срок для проведения такой профилактики ограничен тремя днями, после этого срока она теряет смысл.

В России доступны два отечественных препарата (из лошадиной и человеческой сыворотки) и один импортный — FSME-Bulin (пр-ва Baxter Immuno, Австрия):

Иммуноглобулин против клещевого энцефалита человеческий жидкий (пр-во Биомед-Пермь, Россия).

Вводят внутримышечно, однократно в возрасте до 12 лет — 1 мл, 12—16 лет — 2 мл, 16 лет и старше — 3 мл.

Иммуноглобулин против клещевого энцефалита (из лошадиной сыворотки), пр-во Россия.

FSME-Bulin (Immuno AG, Австрия).

Выпускают во флаконах по 1, 2, 5 и 10 мл. В целях профилактики (до укуса клеща) вводят в дозе 0,05 мл на кг массы тела. Действие начинается через 24 часа и продолжается в течение 1 месяца. Возможно повторное введение для более длительной защиты. После укуса клеща вводят однократно — в течение 48 часов после укуса клеща в дозе — 0,1 млкг; на 3—4 сутки — 0,2 млкг (до 16 мл на введение). Дозы более 5 мл распределяют в разные участки тела.

§ 8. Вирус краснухи

Краснуха (устар. — германская корь, коревая краснуха) — острозаразное вирусное заболевание, характеризующееся слабо выраженными явлениями общей интоксикации, неяркой мелкопятнистой сыпью по всему телу, проявляющееся быстро распространяющейся сыпью на коже, увеличением лимфоузлов (особенно затылочных), обычно незначительным повышением температуры. У детей до 90% случаев заболевания протекает без видимых симптомов. Инфекция имеет осенне-весеннюю сезонность, увеличением затылочных и заднешейных лимфатических узлов и поражением плода у беременных. Нередко краснуха проявляется только небольшим повышением температуры тела и увеличением лимфатических узлов без появления сыпи.

Краснуха — не тяжелая инфекционная болезнь, которая однако при инфицировании беременных может вызвать серьезную фетопатию (синдром врожденной краснухи — СВК), заканчивающуюся нередко выкидышем или рождением ребенка с различными тяжелыми пороками развития, такими как слепота, глухота, врожденные пороки сердца. При инфицировании в первые 3 месяца беременности инфекция плода наступает в 90% случаев.

Источником инфекции является человек, больной выраженной или стертой формой краснухи, протекающей без сыпи. Вирус выделяется во внешнюю среду за неделю до заболевания и в течение недели после высыпания.

Процесс развития болезни. Вирус краснухи проникает в организм через слизистую оболочку дыхательных путей и кровью разносится по всему организму.

У беременных вирус краснухи попадает в плод и приводит к замедлению его роста, а также к формированию различных уродств. Заболевание краснухой на 3—4-й неделе беременности обуславливает врожденные уродства в 60% случаев, на 13—16-й неделе и позже — в 7%.

После перенесенного заболевания развивается стойкая пожизненная невосприимчивость к нему.

Передается воздушно-капельным путем. Инкубационный период составляет 1—2 недели. Заболевший человек заразен за 7 дней до появления сыпи и до 7—10 дня после высыпания.

Заболевание начинается остро. Появляются увеличение и болезненность заднешейных и затылочных лимфоузлов, небольшая слабость, недомогание, умеренная головная боль, температура тела повышается до 38°C.

Одновременно на лице, через несколько часов на теле наблюдаются обильная сыпь в виде бледно-розовых пятнышек до 1 см круглой или овальной формы, умеренно выраженный сухой кашель, першение, саднение, сухость в горле, небольшой насморк. Повышенная температура тела и сыпь сохраняются 1—3 дня, на несколько дней дольше — увеличение лимфатических узлов. Характерно появление сыпи вначале на коже лица, с последовательным охватом сыпью всего тела. Типичным является припухание затылочных лимфоузлов. Могут отмечаться симптомы острого респираторного заболевания. В целом, заболевание у детей протекает легко, осложнения наблюдаются редко. Наиболее грозным осложнением является краснушный (наподобие коревого) энцефалит (воспаление мозга), его частота составляет 1:5000 — 1:6000 случаев.

Большинство больных не нуждаются в специальном лечении. Применяются средства для лечения симптомов и осложнений, облегчающие общее состояние. После перенесенного заболевания развивается пожизненный иммунитет, однако его напряженность с возрастом и под воздействием различных обстоятельств может падать. Таким образом, перенесенное в детстве заболевание краснухой не может служить 100% гарантией от повторного заболевания.

У подростков и взрослых краснуха протекает значительно тяжелее. Более выражены лихорадка, явления интоксикации (недомогание, разбитость), отмечается поражение глаз (конъюнктивит). Характерным для взрослых (с большей частотой у женщин) является поражение мелких (фаланговые, пястно-фаланговые) и реже крупных (коленные, локтевые) суставов. В одну из эпидемий частыми были жалобы на боли в яичниках.

Заболевание беременной женщины приводит к инфицированию плода. В зависимости от срока беременности, на котором происходит заражение, у плода с различной вероятностью (в I триместре вероятность достигает 90%, во II — до 75%, в III — 50%) формируются множественные пороки развития. Наиболее характерными являются поражение органа зрения (катаракта, глаукома, помутнение роговицы), органа слуха (глухота), сердца (врожденные пороки). Также к СВК относят пороки формирования челюстно-лицевого аппарата, головного мозга (микроцефалия, умственная отсталость), внутренних органов (желтуха, увеличение печени, миокардит и др.) и костей (остеопороз в метаэпифизах длинных трубчатых костей). В 15% случаев краснуха приводит к выкидышу, мертворождению. При диагностике краснухи у беременной осуществляется искусственное прерывание беременности.

Лечение больных краснухой обычно проводится дома, так же, как больных острыми респираторными вирусными инфекциями.

Переболевшим краснухой в первые 16 недель беременности рекомендуется ее прерывание.

Профилактика. Для предупреждения краснухи применяется живая ослабленная вакцина, которая через 20 дней после введения создает невосприимчивость к заболеванию в течение 10 лет.

Для обеспечения стойкой невосприимчивости к краснухе достаточно одной прививки. Первичная вакцинация рекомендуется всем детям начиная с 12—15 мес. Ревакцинации следует проводить девочкам в возрасте 11—14 лет, а также женщинам не позднее, чем за 3 мес. до предполагаемой беременности.

Детями вакцинация переносится очень хорошо. У взрослых может отмечаться незначительное увеличение лимфатических узлов и кратковременное небольшое повышение температуры тела.

Беременных женщин вакцинировать нельзя. Кроме того, в течение 3 месяцев после прививки беременность нежелательна, так как имеется риск поражения плода вирусом вакцины.

Изоляция больного краснухой прекращается через 4 дня после появления сыпи.

Глава 14 Основы медицинской паразитологии

§ 1. Паразитология

Наука, изучающая паразитов и вызываемые ими заболевания, называется медицинской

паразитологией. Организмы, живущие за счет других организмов, называются паразитами. Паразитология делится на протозоологию (наука о простейших), гельминтологию (наука о гельминтах) и арах-ноэнтомологию (наука о членистоногих, вредящих здоровью человека). Из простейших известны тысячи видов, из которых несколько десятков видов могут паразитировать у человека. Они проникают в различные органы и ткани человека и вызывают заболевания. Так, например, в кишечнике человека паразитируют лямблии и амёбы, во внутренних органах — токсоплазмы, плазмодии. Очень распространены патогенные виды простейших. Так малярией (возбудители-плазмодии) ежегодно болеют свыше 100 млн человек, в основном в странах Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки. В РФ зарегистрированы единичные случаи.

Отечественные ученые, среди которых можно назвать Л.С. Ценковского, В. Я. Данилеевского, Д.Л. Романовского, Е.И. Марциновского, В. А. Догеля, внесли большой вклад в развитие протозоологии.

В организме человека могут обитать паразитические черви — гельминты. Существует более 250 видов гельминтов, из них около 100 зарегистрировано в нашей стране.

Гельминты, как и другие паразиты, нуждаются в смене своих хозяев. Хозяин — это организм, в котором обитает паразит. Хозяин может быть окончательным, когда в нем паразитирует половозрелая стадия паразита, и промежуточным, когда в нем паразитирует личиночная стадия. Например, бычий цепень во взрослой ленточной стадии паразитирует в кишечнике человека (окончательный хозяин), а в личиночной (в виде финн) — в мышцах крупного рогатого скота. Другой вид гельминтов — эхинококк, во взрослой стадии обитает в кишечнике собаки (окончательный хозяин), в личиночной стадии — в виде пузырей — во внутренних органах сельскохозяйственных животных и человека (промежуточные хозяева).

Гельминты, которые развиваются с участием промежуточного хозяина, называют «биогельминтами». Если же для развития (вне организма хозяина) необходимо только пребывание в почве, — их называют геогельминтами. Такое разделение в 1931 г. ввели Скрябин и Шульц. Гельминты могут поражать практически все органы и ткани человека. В кишечнике паразитируют аскариды, острицы, бычий цепень, широкий лентец; в желчных путях — печеночный и сибирский сосальщики; в мышцах — личинки трихинелл. Гельминты вызывают в организме аллергические реакции, механическое повреждение органов и тканей хозяина и нарушение их функций. Они ухудшают всасывание пищевых веществ и витаминов, у человека может развиваться анемия, отягощаются другие заболевания. Гельминты вызывают замедление физического развития у детей; снижают трудоспособность и ухудшают умственную деятельность.

Пути заражения человека гельминтами разнообразны,

Яйца гельминтов могут попасть в организм с овощами и ягодами, загрязненными фекалиями, а также с грязных рук. Личинки некоторых гельминтов человек проглатывает с сырым или полусырым мясом, рыбой, раками, водными растениями. Иногда можно заразиться при ходьбе босиком по загрязненной почве или купаясь в зараженном водоеме, откуда личинки активно проникают через кожу и слизистые оболочки.

Гельминтология, как наука, была создана в нашей стране в советский период. Огромный вклад в ее развитие внес русский ученый К.И. Скрябин. В 1944 г. им был выдвинут принцип девастации, который обозначает полную ликвидацию гельминта как вида на территории страны.

Тип членистоногих — это наибольшая группа животного мира. Многие членистоногие (клещи, насекомые) опасны для здоровья человека, так как могут паразитировать в органах и тканях, отравлять организм человека своими ядами. Они также являются переносчиками вирусов, риккет-сий, бактерий, простейших и гельминтов. При этом развитие и размножение возбудителя в организме насекомого не происходит. Например, мухи на своих лапках способны переносить возбудителей кишечных инфекций. Или слепни, кусая больных животных, а затем здоровых животных и человека, на своем хоботке могут перенести возбудителей сибирской язвы, туляремии. Клещи переносят энцефалит, геморрагическую лихорадку. Комары являются переносчиками малярии.

В отличие от простейших и гельминтов, которые паразитируют внутри организма хозяина

(эндопаразиты), членистоногие обычно находятся на наружной поверхности тела. Поэтому их называют эктопаразитами. Ряд насекомых является сожителями человека (тараканы, мухи).

Большой вклад в изучение членистоногих, вредящих здоровью человека, внесли: В.Н. Беклемишев, В.И. Исаев. В 1920г. Марциновский организовал Тропический институт (сейчас он называется — Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Марцинковского).

Простейшие (тип Protozoa)

Тело простейших состоит из цитоплазмы, ядра, различных органелл. Простейшие передвигаются с помощью жгутиков, подвижной мембраны и ресничек. Пищей одноклеточным служат органические частицы, в том числе и живые микроорганизмы.

Для простейших характерна способность к инцистированию. Она заключается в том, что простейшие округляются и покрываются плотной оболочкой. Циста более устойчива к воздействию неблагоприятных условий внешней среды. При попадании в благоприятные условия простейшие выходят из цисты и начинают размножаться. Размножение происходит бесполом (поперечное, продольное деление) и половым путем. Простейшие, которые обитают в организме человека, относятся к 4 классам: кл. Жгутиконосцы, кл. Саркодовые, кл. Споровики и кл. Ресничные. Классы соответственно подразделяются на отряды, семейства, роды.

§ 2. Основные виды простейших, вызывающих заболевания у человека

Кл. Жгутиконосцы

Основное отличие простейших этого класса — наличие на одной из стадий развития жгутика — одного или нескольких. Наиболее патогенное значение имеют трипаномы, лямблии, лейшмании, трихомонады.

Трипаномы — для животных патогенны все виды. У человека вызывают трипаномоз. Это заболевание встречается в Центральной и Восточной Африке. Переносчиком является муха цеце. Клинические проявления: инкубационный период — 2—3 недели. На месте укуса мухи цеце образуется изъязвляющаяся папула (трипаносомидный шанкр). Иногда клинические проявления отсутствуют, но паразит размножается в месте проникновения и диссеминирует по лимфатической системе в кровоток. Через 2—3 недели у больного развивается характерная симптоматика заболевания: болезненная лимфоденопатия, кожная сыпь, головная боль. Возможны психические расстройства. Болезнь может прогрессировать с поражением мозга и миокарда.

Лечение. В начальной стадии заболевания назначают су-рамин, пентадион.

Профилактика: прием лекарственных препаратов, уничтожение мест вылода мух Цеце.

Лямблии особенно часто обнаруживаются у детей. Возбудители распространены повсеместно. Основной механизм заражения — фекально-оральный, через грязные руки, пищу и воду. Развитие заболевания зависит от вирулентности возбудителя, инфекционной дозы. Попадание 10 цист в организм вызывает заболевание (лямблиоз). В организме лямблии размножаются в верхних отделах тонкого кишечника. В сутки человек может выделять с испражнениями от 10 до 15 млрд цист. В большом количестве лямблии вызывают механическое раздражение слизистой кишечника. Клинические проявления могут быть самые разнообразные: диарея, снижение аппетита, боли в животе, потеря массы тела, бледность кожных покровов.

Обнаружить возбудителя можно в фекалиях путем мик-роскопирования.

При лечении лямблиоза используют фуразолидон, хи-накрина гидрохлорид.

Профилактика — соблюдение правил личной гигиены.

Трихомонады. Возбудители этого семейства представлены несколькими видами: *T. hominis* обитает в толстом кишечнике, *T. elongata* выделяют из ротовой полости, *T. vaginalis* вызывает воспаление мочеполовой системы, передается половым путем. Это заболевание (трихомоноз) распространено повсеместно. Ежегодно в России заболевают около 5 млн человек. У женщин *T. vaginalis* вызывает острый или под острый вагинит. Для трихомоноза характерно: зуд и жжение во влагалище, боли при половых актах, серозно-гнойные выделения. У мужчин обычно поражаются мочеиспускательный канал и предстательная железа. У мужчин

клинические проявления трихомоноза имеют стертые формы. Это связано с удалением большого количества трихомонад при мочеиспускании, что приводит в большинстве случаев к развитию хронического простатита.

Лабораторная диагностика трихомоноза проводится с помощью микроскопирования.

Для лечения этого заболевания назначают химиопрепарат — метронидазол.

Кл. Саркодовые

В этот класс включены обитатели морей, водоемов и почвы. Они относятся к примитивным простейшим, которых называют амебами. Многие виды амеб обитают внутри организма животных. Для человека патогенным является вид *Entamoeba histolytica*, который вызывает амебную дизентерию. Основным хозяином этого возбудителя — человек. Дизентерийная амеба существует в виде вегетативной формы и цисты. Обычно они обитают в верхнем отделе толстого кишечника. При амебной дизентерии отмечаются боли внизу живота, частый жидкий стул цвета мясных помоев. Температура тела обычно нормальная. Заболевание может тянуться с периодическими обострениями несколько лет. Амебы из кишечных язв с кровью могут заноситься в печень, легкие, мозг и другие органы, вызывая там абсцессы.

Амебную дизентерию диагностируют по наличию *E. histolytica* в испражнениях. Подвижность вегетативных форм выявляют в нативных препаратах, а при выявлении цист проводят окраску раствором Люголя.

Для лечения амебной дизентерии используют химиопрепарат — метронидазол.

Кл. Споровики

В этот класс включены паразитические виды простейших. В процессе своего развития имеют стадию так называемой споры, которая образуется в результате слияния половой мужской и женской клетки. Из представителей этого класса для человека патогенное значение имеют плазмодии и токсоплазмы.

Плазмодии вызывают у человека малярию — повсеместно распространенное заболевание. В РФ зарегистрированы спорадические случаи заболевания. Отмечают смертельные исходы этого заболевания, особенно среди детей. Переносчиками малярии являются комары, заражение может также произойти при переливании крови или гемотерапии.

Инкубационный период варьирует от 10 до 14 дней. Для малярии типичны приступ лихорадки, анемия, нарушение кровообращения. Начало болезни острое. Температура поднимается до 40°C и выше, озноб сменяется сильным жаром. Через несколько часов температура резко падает до 35°C. После приступа больной чувствует сильную слабость и нередко засыпает. Число приступов достигает 10—15, затем они прекращаются, хотя паразиты в крови еще могут присутствовать в течение некоторого времени. Клинически малярию можно заподозрить на основании характерных приступов, которые повторяются через день или 2 дня. Печень обычно увеличена, гиперемирована, при хронических поражениях ее масса достигает 3—5 кг. Достоверный диагноз малярии можно поставить при микроскопическом исследовании крови больного.

Лечение малярии: используют химиопрепарат — хинга-мин, который активен в отношении всех видов плазмодий.

Профилактика малярии сводится к разрыву биоценоза плазмодий — комар — человек. Это достигается путем уничтожения возбудителя в организме человека и ликвидацией мест выноса комаров рода *Anopheles*.

Схема выделения возбудителя малярии и амебной дизентерии

Малярия

Окр. по Романовскому—Гимзе (толстая капля, мазок)

Серологический метод

Парные

[сыворотки

НМФА, РИГА

Амебиаз

Экспресс-метод

Испражнения (исследовать не позже 15—20 мин после взятия), гной из абсцессов, отделяемое язв, мокрот

Натив-ный
Раствором Люголя
Серологический метод
Парные
[сыворотки }
РИГА, ИД, НМФА

Токсоплазмы — простейшие, поражающие птиц, животных и человека. У человека вызывают токсоплазмоз — паразитарную инфекцию, характеризующуюся хроническим течением, поражением нервной системы, увеличением печени и селезенки. *Toxoplasma gondii* — внутриклеточный паразит, который попадает в организм следующим образом: 1) через рот — с плохо проваренным мясом, сырыми молочными продуктами и птичьими яйцами;

2) через кожу или слизистые оболочки — при разделке туш и мяса;

3) внутриутробно — от матери плоду через плаценту. Таким образом, токсоплазмоз может быть врожденным и приобретенным.

Схема выделения возбудителя токсоплазмоза

Пунктаты и биоптаты органов (мазки, гистологические срезы), СМЖ, экссудаты, кровь, костный мозг и др.

Окр. по Романовскому—Гимзе

Биологический метод

Нативный препарат

Белые мышцы, хомячки, линейные мышцы из мозга (выявление цист)

Окр. по Романовскому—Гимзе

Реакция Сабина—Фельдмана, НМФА, РСК

РСК, МФА, НМФА, РА, РП, РИГА, ИФА, РАЛат, реакция Сабина—Фельдмана

Метод выявления гиперчувствительности x'Внутрикожная проба с токсоплазмином^{^^ ^v} (тест Френкеля) ,

Клиническая картина токсоплазмоза: повышенная температура, увеличиваются лимфатические узлы, поражаются внутренние органы — глаза, мозг, на коже появляется сыпь. Поставить достоверный диагноз нельзя, так как для этого заболевания отсутствуют типичные симптомы. При подозрении на токсоплазмоз исследуют кровь, спинномозговую жидкость (ликвор). Достоверным способом обнаружения токсоплазм являются микроскопирование, биологическая проба и серологическая диагностика.

Для лечения токсоплазмоза используют сульфаниламидные препараты в сочетании с пириметамином.

§ 3. Основные виды гельминтов, вызывающих заболевания у человека

Гельминтозы — заболевания, вызываемые поселившимися в организме человека паразитическими червями — гельминтами и их личинками.

Альвеококкоз. Этиология. Возбудитель — личиночная стадия альвеококка. Заражение происходит при попадании онкосфер в рот после соприкосновения с загрязненными шкурками лисиц, песцов, собак, с водой непроточных водоемов и при употреблении в пищу лесных ягод, собранных в эндемичной местности.

Патогенез. Скопления личинок (обычно в печени) инфильтрируют и прорастают в ткани, нарушают кровоснабжение органов, вызывают дегенерацию и атрофию ткани, оказывают токсико-аллергизирующее влияние, способствуют инфицированию.

Симптомы, течение. Заболевание развивается медленно, долго остается бессимптомным. Отмечается прогрессирующее увеличение печени, появляются тяжесть и давление в правом подреберье, тупые ноющие боли. Через несколько лет печень становится бугристой и очень плотной. Может развиться желтуха. Нередко увеличивается селезенка. Возможен асцит. При распаде узлов повышается температура тела, наблюдаются потливость, лейкоцитоз, эозинофилия, повышение СОЭ. Характерны гиперпротеинемия, гипергаммаглобулинемия. Некротизация и прорастание в нижнюю полую вену могут привести к профузным кровотечениям. При метастазах в легкие могут возникнуть симптомы пневмонии, бронхита, кровохарканье. Метастаз в мозг имитирует клиническую картину опухоли мозга.

Диагноз основывается на клинических данных. Для уточнения локализации используют рентгенологическое исследование, сканирование печени, перитонеоскопию. Для подтверждения диагноза ставят реакцию Касони и серологические реакции с альвеококковым антигеном. Пробная пункция категорически запрещается из-за опасности обсеменения других органов.

Дифференцируют с опухолями, эхинококкозом и циррозом печени.

Лечение хирургическое и симптоматическое.

Профилактика — см. Эхинококкоз.

Анкилостомидозы. Этиология. Возбудители — анкилостома и некатор, паразитирующие в тонких кишках человека, чаще в двенадцатиперстной кишке. Заражение происходит при активном внедрении личинок через кожу или при проглатывании их с загрязненными овощами, фруктами, с водой. Личинки совершают миграцию по большому и малому кругам кровообращения, длящуюся 7—10 дней. В тонком кишечнике личинки превращаются в половозрелые особи и спустя 4—6 нед. начинают откладывать яйца. Продолжительность жизни анкилостомид от нескольких месяцев до 20 лет.

Патогенез. В период миграции личинки вызывают ток-сико-аллергические явления. Взрослые гельминты — гема-тофаги. При фиксации к слизистой оболочке кишки они травмируют ткани, приводят к образованию геморрагии, эрозий, вызывают кровотечения, анемизацию, поддерживают состояние аллергии, дискинезию желудочно-кишечного тракта и диспепсию.

Симптомы, течение. Вскоре после заражения возникают кожный зуд и жжение, уртикарные высыпания, астмо-идные явления, лихорадка, эозинофилия. В поздней стадии появляются тошнота, слюнотечение, рвота, боли в животе, расстройства функции кишечника (запор или понос), вздутие живота. Иногда возникает псевдоязвенный синдром (голодные боли в эпигастральной области, скрытые кровотечения). Характерно развитие гипохромной железодефицитной анемии; ее выраженность зависит от интенсивности инвазии, дефицита питания, индивидуальных особенностей организма. При слабой интенсивности инвазия может протекать субклинически, проявляясь эозинофилией. Диагноз подтверждается обнаружением яиц анкилостомид в кале и изредка в дуоденальном содержимом.

Лечение. При выраженной анемии (гемоглобин ниже 67 гл (6,7 г%)) лечение начинают с применения препаратов железа, гематогена, гемотрансфузий. Дегельминтизацию проводят нафтамоном, комбантрином или левамизолом. На-фтамон назначают натошак в течение 2—5 дней. Разовая доза для взрослых — 5г. Для устранения горького вкуса и тошноты препарат лучше давать в 50 мл теплого сахарного сиропа. Комбантрин (пирантел) назначают в суточной дозе 10 мгкг в 2 приема после еды, левамизол (декарис) в суточной дозе 2,5 мгкг в один прием. Лечение этими препаратами продолжается 3 дня. Эффективность около 80%. Прогноз в большинстве случаев благоприятный.

Профилактика. В очагах анкилостомидозов не следует ходить босиком и лежать на земле без подстилки. Необходимо тщательное мытье и обваривание кипятком фруктов, овощей, ягод перед их употреблением. Нельзя пить некипяченую воду.

Аскаридоз. Этиология. Возбудитель — аскарида, паразитирующая во взрослой стадии в тонких кишках. Продолжительность жизни аскарид около года.

Патогенез. В миграционной стадии (первые 6—8 нед. после заражения) личинки аскарид оказывают механическое и сенсибилизирующее воздействие, вызывая кровоизлияния, эозинофильные инфильтраты в тканях различных органов. В кишечной фазе (через 8 нед. после заражения) взрослые аскариды вызывают общие токсико-аллергические и нервно-рефлекторные реакции организма и оказывают разнообразные местные механические воздействия.

Симптомы, течение. Миграционная фаза часто протекает под маской острого респираторного заболевания, бронхита; возможны летучие эозинофильные инфильтраты в легких. В кишечной фазе различают желудочно-кишечную форму (слюнотечение, тошнота, понижение аппетита, схваткообразные боли вокруг пупка, иногда расстройство стула и желудочной секреции); гипотоническую (снижение АД, слабость) и неврологическую (головокружение, головная боль, утомляемость, рассеянность, нарушение сна, вегетативно-

сосудистые расстройства) формы. Осложнения: аскаридозная непроходимость кишечника, характерными особенностями которой являются выделение аскарид с рвотными массами и пальпация подвижной «опухоли» — клубка гельминтов; аскаридозный аппендицит; перфоративный перитонит; аскаридоз печени с развитием желтухи, гнойного ангиохо-лита, абсцесса печени, поддиафрагмального абсцесса; аскаридоз поджелудочной железы с симптомами острого панкреатита; заполнение аскарид в дыхательные пути с развитием асфиксии.

Диагноз ранней фазы аскаридоза основывается на обнаружении личинок нематод в мокроте и антител в крови, поздней кишечной фазы — яиц аскарид в фекалиях.

Лечение. В миграционной стадии аскаридоза назначают димедрол по 0,025—0,05 г 3 раза в день, хлорид кальция, глюконат кальция. Спустя 3—4 нед. назначают пиперазин или кислород, оказывающие действие на молодых особей. Для изгнания взрослых аскарид применяют пиперазин, левамизол, комбантрин, а в условиях стационара — кислород. Пиперазин назначают после еды 2 раза в день с интервалами между приемами 2—3 ч в течение 2 дней подряд в дозе 1,5—2 г на прием (3—4 г в сутки). Эффективность повышается при приеме пиперазина после ужина перед сном. Левамизол (декарис) назначают после еды в дозе 150 мг однократно. Комбантрин (пирантел) рекомендуется однократно после еды из расчета 10 мг/кг. Лечение кислородом проводят натошак или через 3—4 ч после завтрака, 2—3 дня подряд. Кислород вводят в желудок через тонкий зонд в количестве 1500 мл на сеанс. После введения кислорода больной должен лежать

2 часа. Прогноз при отсутствии осложнений, требующих хирургического вмешательства, благоприятный.

Профилактика. Массовое обследование населения и лечение всех инвазированных аскаридозом. Охрана почвы огородов, садов, ягодников от загрязнения фекалиями. Тщательное мытье и обваривание кипятком овощей, фруктов. Соблюдение личной гигиены.

Гименолепидоз. Этиология. Возбудитель — карликовый цепень. Заражение происходит при попадании яиц паразита на руки при контакте с больным и с загрязненными фекалиями предметами домашнего обихода (ночными горшками, стульчаками и пр.) и стенами уборных. Патогенез. Местное воздействие личинок и взрослых форм на слизистую оболочку кишечника выражается в разрушении ворсинок, пролиферативном воспалении (иногда с изъязвлением) слизистой оболочки с обильным выделением слизи. Наблюдается и токсико-аллергическое действие.

Симптомы, течение. Снижение аппетита, тошнота, боли в животе, понос или запор, головокружение, головная боль, раздражительность, повышенная утомляемость, беспокойный сон. Иногда отмечаются похудание, умеренная анемия, эозинофилия. Гименолепидоз может протекать бессимптомно. Диагноз устанавливается на основании обнаружения яиц карликового цепня в кале.

Лечение. Для дегельминтизации применяют фенасал, эфирный экстракт из корневищ мужского папоротника, семена тыквы. Лечение проводят циклами с промежутками 4—7 дней. Через месяц после основного курса проводят один цикл противорецидивного лечения. Экстракт мужского папоротника назначают в три цикла лечения с интервалами между ними 7 дней. Каждый цикл состоит из 2 дней подготовки и 1 дня приема препарата. Доза экстракта папоротника на каждый цикл лечения — 1,5 г. Лечение семенами тыквы может проводиться на дому; оно менее эффективно и применяется главным образом при наличии противопоказаний к применению экстракта мужского папоротника. Все лица, лечившиеся от гименолепидоза, при отсутствии яиц цепней в кале остаются на диспансерном учете в течение года.

Профилактика. Соблюдение гигиены тела, одежды, жилища, общественной гигиены. Обследование на гельминты всех членов семьи больного и одновременное лечение всех инвазированных.

Дифиллоботриоз. Этиология. Возбудитель — лентец широкий. Продолжительность его жизни составляет десятки лет. Заражение человека происходит при употреблении свежей, недостаточно просоленной икры и сырой рыбы (щука, окунь, омуль, хариус и др.).

Патогенез. Лентец, прикрепляясь к слизистой оболочке кишки своими ботриями, травмирует

ее. Большие скопления паразита могут закупорить просвет кишки. Продукты обмена гельминта сенсibiliзируют организм. Абсорбция широким лентецом витамина В12 из пищеварительного тракта ведет к гиповитаминозу В12 и развитию анемии.

Симптомы, течение. Характерны тошнота, неустойчивый стул, выделение при дефекации обрывков стробилы. Больные иногда жалуются на слабость, головокружение, боли в животе. Изредка развивается анемия пернициозного типа, близкая к анемии Аддисона—Бирмера. Диагноз устанавливается при обнаружении яиц лентеца и обрывков стробилы в фекалиях.

Лечение. При выраженной анемии до дегельминтизации назначают витамин В12 по 300—500 мкг в 2—3 раза в неделю в течение месяца, препараты железа, гемостимулин, гематоген. Для дегельминтизации применяют фенасал, экстракт мужского папоротника, акрихин. Прогноз при отсутствии осложнений благоприятный.

Профилактика. Нельзя употреблять в пищу сырую, непроваренную или недостаточно просоленную и провяленную рыбу, а также «живую» щуку и икру.

Клонорхоз — гельминтоз, вызываемый трематодой — двуусткой китайской. Встречается у населения, живущего в бассейне Амура. Патогенез, клиника, лечение и профилактика те же, что и при описторхозе.

Метагонимоз — гельминтоз, вызываемый мелкой трематодой. Возбудитель — метагонимус, паразитирует в тонком кишечнике человека, собаки, кошки, свиньи. Заражение человека происходит при употреблении сырой рыбы. Встречается в бассейне Амура. В кишечнике из метацеркариев метагонимуса вылупляются личинки, которые в толще слизистой оболочки через 2 нед. достигают половой зрелости и выходят в просвет кишки. В результате механического и токсико-аллергического воздействия развивается энтерит.

Симптомы, течение. Боли в животе, тошнота, слюнотечение, упорные поносы. Иногда протекает субклинически. Диагноз основывается на обнаружении в кале яиц метагонимуса.

Лечение. Экстракт мужского папоротника однократно или дважды с интервалом 2—3 нед. в дозе 3 г нафтамон в суточной дозе 2,5—5 г (как при анкилостомидозах).

Профилактика см. Дифиллоботриоз.

Описторхоз. Этиология. Возбудитель — двуустка кошачья, или сибирская, которая паразитирует в желчных протоках печени, желчном пузыре и протоках поджелудочной железы человека, кошек, собак и др. В организме человека паразит живет 20—40 лет. Заражение происходит при употреблении сырой (талой, мороженой), слабо просоленной, недостаточно прожаренной рыбы карповых пород (язь, чебак, елец и др.).

Патогенез. Описторхисы травмируют слизистые оболочки панкреатических и желчных протоков, создают препятствия оттоку желчи, способствуют развитию кистозных расширений и новообразований печени, оказывают токсическое и нервно-рефлекторное воздействия. В ранней стадии наблюдается выраженная аллергия организма (эозинофильно-лейкемоидные реакции крови).

Симптомы, течение. Инкубационный период около 2 нед. В раннем периоде могут быть повышение температуры тела, боли в мышцах и суставах, рвота, понос, болезненность и увеличение печени, режелезники, лейкоцитоз и высокая эозинофилия, аллергические высыпания на коже.

В хронической стадии наиболее часты жалобы на боли в подложечной области, правом подреберье, отдающие в спину и левое подреберье. Иногда отмечаются приступы болей типа желчепузырной колики. Часты головокружения, различные диспепсические явления. Выявляются резистентность мышц в правом подреберье, увеличение печени, изредка иктеричность склер, увеличение желчного пузыря, симптомы панкреатита. Наиболее часто при описторхозе развиваются явления ангиохолита, холецистита, дискинезии желчных путей, хронического гепатита и панкреатита, реже — симптомы гастродуоденита, энтероколита. В отдельных случаях возникает картина холангитического цирроза печени.

Заболевание может протекать бессимптомно. Диагноз основывается на обнаружении в кале и дуоденальном содержимом яиц гельминта.

Лечение. Назначают хлоксил в условиях дневного стационара и амбулатории при наблюдении за больным в течение 3 ч. В дни лечения и в течение 1—2 дней до и после лечения ограничивают употребление жиров и запрещают алкоголь. Цикл лечения

продолжается 2 дня. Хлоксил принимают внутрь в дозе 0,15 г/кг. Суточную дозу назначают в 3 приема: через полчаса после завтрака, обеда и ужина. Препарат лучше давать в молоке. Слабительное не назначают.

Профилактика. Разъяснение населению опасности употребления в пищу сырой талой и мороженой (строганины), слабо просоленной и недостаточно прожаренной рыбы.

Стронгилоидоз. Этиология. Возбудитель — угрица кишечная, паразитирующая в стенке кишки (преимущественно двенадцатиперстной), иногда в протоках печени и поджелудочной железы, в период миграции — в бронхах и легочной ткани. Проникновение личинок стронгилоидоза в тело человека может происходить активно через кожу (при ходьбе босиком и пр.) и через рот (при употреблении в пищу загрязненных фруктов, овощей, а также при питье воды).

Патогенез. Взрослые паразиты, локализуясь в стенке кишки, травмируют либеркюновы железы, соллитарные фолликулы и способствуют изъязвлениям слизистой оболочки, а личинки, совершая миграцию, — ткань печени, легких и других органов. Большое значение имеет токсико-аллергическое воздействие взрослых паразитов и их личинок на организм человека, а также вторичная инфекция.

Симптомы, течение. Часто возникают признаки аллергии — кожный зуд, жжение, крапивница, эозинофилия, иногда «летучие инфильтраты» в легких и др. В поздней стадии преобладают явления гастродуоденита, энтероколита, иногда холецистита. Характерна триада в виде хронической рецидивирующей крапивницы, упорного энтероколита и длительной высокой эозинофилии. Часты головокружение, головная боль, бессонница, повышенная эмотивность. Иногда заболевание проявляется лишь эозинофилией и кожным зудом. Течение длительное, многолетнее (до специфического лечения), так как при этом гельминтозе (особенно при запорах) возможна аутореинвазия. Имеются указания на связь гиперинвазии с применением кортикостероидов и иммуно-депрессивных средств. Диагноз основывается на клинических данных и обнаружении личинок угрицы в фекалиях при исследовании по методу Бермана и в дуоденальном содержимом; иногда их обнаруживают в мокроте и моче.

Лечение: тиабендазол (минтезол) в суточной дозе 25 мг/кг в течение 2—3 дней подряд.

Прогноз обычно удовлетворительный.

Профилактика — см. Анкилосто-мидозы.

Тенияринхоз. Этиология, патогенез. Возбудитель — бычий цепень. Человек заражается при употреблении сырого мяса крупного рогатого скота, содержащего финны (личинки бычьего цепня). В тонкой кишке из финны через 3 месяца развивается взрослый гельминт, который может прожить в организме много лет. Паразит оказывает механическое, ток-сико-аллергическое и рефлекторное воздействие на организм человека.

Симптомы, течение. Большинство больных отмечают самопроизвольное выползание члеников из ануса или выделение их с калом. Иногда могут быть тошнота, рвота, головокружение, боли в животе, раздражительность, ларингоспазм, синдром Меньера, эпилептиформные припадки, задержка стула и газов (как при динамическом илеусе). Диагноз устанавливается, если имеются указания на отхождение члеников и в перианальном соскобе и в кале обнаруживаются яйца паразита.

Лечение. Назначают фенасал натошак в дозе 2—3 г. Прогноз благоприятный.

Профилактика — не употреблять в пищу сырое мясо, не пробовать сырой мясной фарш.

Тениоз. Этиология. Возбудитель — свиной цепень, который может паразитировать у человека не только в половозрелой, но и в личиночной стадии, вызывая заболевание — цистицеркоз. Взрослый гельминт паразитирует в тонкой кишке в течение многих лет. Заражение происходит при употреблении сырого или полусырого свиного мяса, содержащего финны.

Патогенез — см. Тенияринхоз.

Симптомы, течение. Такие же, как при тенияринхозе, однако членики паразита активно из ануса не выходят (изредка с калом отходят нежные членики, которых больной обычно не замечает). Диагноз ставят на основании повторного исследования кала на наличие члеников гельминтов и слизи с перианальных складок (путем соскоба) на наличие яиц цепня.

Лечение. Назначают главным образом эфирный экстракт мужского папоротника. Прогноз серьезный из-за опасности осложнений.

Профилактика: нельзя употреблять в пищу непроваренную и непрожаренную свинину.

Трихинеллез (трихиноз). Этиология. Возбудитель — трихинелла. В личиночной стадии попадает в организм человека с мясом свиней или диких животных (кабан, медведь, барсук и др.). После переваривания мяса мышечные трихинеллы освобождаются из капсул, внедряются в ткань ворсинки, быстро растут, развиваются, и уже через 80—90 часов после заражения самки откладывают многочисленные личинки, которые разносятся по организму. Местом дальнейшего развития юных трихинелл служат поперечнополосатые мышцы, особенно межреберные, жевательные, мышцы диафрагмы, языка, глотки, глаз. Здесь трихинеллы через 2—3 нед. свертываются в спираль, инкапсулируются, некоторые из них обызвествляются. Длительность кишечной стадии трихинеллы около 2 месяцев.

Мышечные трихинеллы сохраняют жизнеспособность до 20 лет и более.

Патогенез. Продукты распада и обмена трихинелл сенсibiliзируют организм, вызывая эозинофилию, капилляропатию, инфильтраты в мышцах, отеки и другие болезненные явления. Имеет значение механическое воздействие взрослых трихинелл в кишечнике и их личинок в мышцах и других тканях, а также вторичная инфекция.

Симптомы, течение. Инкубационный период от 3 до 45 дней. Характерные ранние симптомы: одутловатость лица, сопровождающаяся конъюнктивитом, лихорадка, боли в мышцах, эозинофилия. Часты различные высыпания на коже, а также желудочно-кишечные расстройства, гипотония, глухость тонов сердца, сердцебиение, головные боли, бессонница. При легких формах отмечаются лишь отек век и эозинофилия. Продолжительность болезни от 2—3 дней до 8 нед. и более. Иногда наблюдается рецидивирующее течение трихинеллеза. Осложнения: миокардит, менингоэнцефалит, тромбозы артерий и вен, пневмония, нефрит и др.

Диагноз основывается на эпидемиологических (употребление непроваренной свинины и другого мяса, групповые заболевания), характерных клинических данных (эозинофилия, отек век, лихорадка, боли в пораженных мышцах). Подтверждением диагноза может быть обнаружение трихинелл и характерных инфильтратов в биопсированных кусочках мышц (трапециевидная, дельтовидная, икроножная) или в остатках мяса, вызвавшего заболевание. Биопсию делают с 9—10-го дня болезни.

Лечение. Больных госпитализируют. Назначают тиабендазол—2—4 дня (как при стронгилоидозе), симптоматические средства. Прогноз серьезный.

Профилактика. Нельзя употреблять в пищу сырую или недостаточно проваренную свинину, а также мясо кабана, медведя, барсука и др.

Трихостронгилодозы. Возбудители — мелкие гельминты из семейства трихостронгилид. Основным источником инвазии — овцы, козы, крупный рогатый скот. Человек заражается через загрязненную пищу или воду.

Симптомы, течение. Характерны тошнота, боли в животе, неустойчивый стул, головокружение, головная боль. Иногда развивается гипохромная или нормохромная анемия и упадок питания. Диагноз основывается на обнаружении в кале яиц трихостронгилид.

Лечение. Назначают нафтамон и комбантрин (см. Анкилостомидозы). Прогноз благоприятный.

Профилактика: соблюдение мер личной гигиены.

Трихоцефалез. Этиология, патогенез. Возбудитель — власоглав, паразитирующий в толстой кишке человека. Продолжительность жизни паразита около 5 лет. Власоглавы травмируют слизистую оболочку кишки, являются гематофагами и способствуют инокуляции микрофлоры, вызывают рефлекторные реакции в других органах брюшной полости. Продукты их обмена сенсibiliзируют организм.

Симптомы, течение. Беспокоят слюнотечение, понижение (реже повышение) аппетита, боли в правой половине живота и эпигастрии, тошнота, запор или понос. Могут быть воспалительные явления в кишечнике. Нередко отмечаются головные боли, головокружение, беспокойный сон, раздражительность; возможны умеренная гипохромная анемия и небольшой лейкоцитоз. При интенсивной инвазии у детей описаны случаи выпадения

прямой кишки (вследствие упорного поноса), эпилептиформных припадков, синдрома Ме-ньера. При слабой интенсивности инвазия власоглавами протекает бессимптомно. Диагноз устанавливается при обнаружении в кале яиц власоглава.

Лечение. Назначают дифезил, мебендазол, кислород или нафтамон. Дифезил назначают в суточной дозе 5 г (при двукратном приеме натощак) в течение 5 дней. Он оказывает легкое послабляющее действие. Профилактика — см. Аскаридоз.

Фасциолез. Этиология. Возбудители — печеночная и гигантская двуустки. Основной источник инвазии людей — различные сельскохозяйственные животные. Заражение происходит обычно в теплое время года при проглатывании личинок фасциолы с водой, щавелем, диким луком и другой зеленью. Продолжительность жизни гельминтов в организме человека составляет десятки лет.

Патогенез. Имеют значение травматизация и токсико-аллергическое повреждение гепатобилиарной системы. Возможен занос фасциол в другие органы и ткани.

Симптомы, течение. Заболевание характеризуется эозинофилией, аллергическими явлениями, расстройствами функции печени и желчного пузыря, напоминающими симптомы описторхоза (желтуха и приступы желчепузырной колики наблюдаются чаще). Диагноз ранней стадии фасциолеза труден, так как яйца гельминтов выделяются лишь спустя 3—4 месяца после заражения. Используют иммунологические методы. В поздней стадии можно обнаружить яйца в дуоденальном содержимом и кале.

Лечение. Назначают хлорксил, как при описторхозе. Используют также эметин в виде 2% раствора по 1,5 мл 2 раза в день. Цикл лечения — 3 дня подряд, проводят 4—5 таких циклов с интервалами между ними 4 дня. После дегельминтизации назначают желчегонные средства в течение 1—2 месяцев. Необходима длительная (не менее года) диспансеризация больных. Прогноз при лечении благоприятный.

Профилактика. Запрещение употребления воды из стоячих водоемов, тщательное мытье и обваривание кипятком зелени.

Цистицеркоз развивается в результате попадания в желудок яиц свиного цепня (загрязненные продукты, грязные руки; забрасывание зрелых члеников из кишечника в желудок, например, при рвоте у лиц, зараженных половозрелой формой цепня свиного). Возбудитель — личиночная стадия цепня свиного (цистицерк).

Главную роль в патогенезе играет механическое воздействие. Нарушение функций зависит от локализации цистицерка.

Симптомы, течение. При цистицеркозе ЦНС поражаются большие полушария, желудочки и основание мозга. При этом возникают эпилептиформные припадки, менингеальные явления, психические расстройства и др. Цистицеркоз глаза может вызвать различные нарушения зрения, вплоть до слепоты. Цистицеркоз мягких тканей протекает обычно бессимптомно. Для диагностики, помимо клинических данных, используют иммунологические реакции (РСК с антигенами из цистицерков), изучение клеточного состава спинномозговой жидкости. При цистицеркозе глаза используется офтальмоскопия. Обызвествленные цистидерки обнаруживают при рентгенографии. Поверхностно расположенные цистицерки выявляют при осмотре, пальпации, биопсии.

Лечение. При цистицеркозе мозга и глаза хирургическое лечение, при распространенном — симптоматическое. Для предотвращения новых очагов цистицеркоза проводят дегельминтизацию, как при кишечном тениозе. Прогноз при локализации цистицерков в мягких тканях благоприятный, при цистицеркозе мозга — очень серьезный.

Профилактика. Соблюдение правил личной гигиены, своевременное выявление и лечение больных тениозом.

Шистосомоз (бильгарциоз) — гельминтоз с поражением мочеполовой системы, кишечника, печени, селезенки, иногда легких и нервной системы, наблюдающийся в районах с тропическим и субтропическим климатом. Возбудители — 3 вида шистосом (относятся к разнополым трематодам), которые вызывают мочеполовой, кишечный и японский шистосомоз. Продолжительность жизни шистосом в организме человека достигает 40 лет.

Патогенез. Заражение человека происходит при контакте с инфицированной водой. Церкарии проникают через кожу или слизистые оболочки, с током лимфы попадают в

правый желудочек сердца и в легкие, из легких гематогенно мигрируют в вены печени. При созревании шистосомы переходят в вены мочевого пузыря, кишечника. Здесь самки откладывают яйца, которые через стенку сосуда и слизистую оболочку проникают в просвет кишечника или мочевого пузыря и выделяют во внешнюю среду. В патогенезе играет роль механическая травма, наносимая паразитами и их яйцами, а также интоксикация продуктами обмена. Яйца могут заноситься в различные органы (легкие, сердце, мозг, селезенка, матка и др.), вызывая там воспалительные очаги (псевдоабсцессы).

Симптомы, течение. Инкубационный период обычно 4—6 нед. У отдельных больных в период миграции паразитов развиваются аллергические симптомы (лихорадка, озноб, боли в суставах, уртикарная сыпь, общая интоксикация, эозинофилия). Через 2—6 месяцев появляются характерные изменения мочеполовых органов — терминальная гематурия, боли в нижних отделах живота, болезненное мочеиспускание; при сужении мочеточников возникают приступы болей, напоминающие почечную колику. У некоторых больных отмечаются слабость, снижение аппетита, недомогание. У трети больных заболевание протекает без выраженных субъективных ощущений и выявляется лишь при лабораторных исследованиях.

Кишечный и японский шистосомоз характеризуется более разнообразными клиническими симптомами, среди которых преобладают признаки поражения кишечника и печени. В период миграции паразитов наблюдаются аллергические симптомы, к моменту созревания шистосом возникают выраженные проявления болезни. Кишечный шистосомоз может привести к развитию цирроза печени, явлениям ги-перспленизма. В результате заноса яиц возможны тромбозы воротной вены, поражение легких, энцефалит. Для ранней диагностики имеют значение указание на пребывание в эндемичной по шистосомозу местности, увеличение числа эозинофилов в крови. При лапароскопии на поверхности печени выявляется большое число мелких (2—4 мм) узелков беловато-желтоватого цвета. В более поздние сроки с помощью внутрикожной пробы можно обнаружить яйца шистосом, выявить наличие антител или аллергической перестройки. При мочеполовом шистосомозе проводят цистоскопию, при которой выявляются своеобразная окраска слизистой оболочки пузыря, наличие «песчаных пятен», напоминающих скопление мочекишечного песка, деформация устьев мочеточников. При кишечном и японском шистосомозе исследуют на яйца паразита кал, соскобы слизистой оболочки кишки, делают ректороманоскопию.

Лечение: амбильгар внутрь в суточной дозе 25 мгкг, но не более 1,5 г для взрослого в сутки. Суточную дозу дают в 2 приема (утром и вечером). Курс лечения — 5—7 дней. Препарат токсичен (слабость, головная боль, миалгия, аллергические реакции и др.), вызывает потемнение мочи. Отменяют препарат при появлении изменений нервной системы (судороги, галлюцинации). Эффективен также фуадин, который представляет собой 6,3% раствор трехвалентной сурьмы. Препарат вводят в: первый раз — 1,5 мл, второй раз — 3,5 мл, на третьи и последующие введения — по 5 мл. Первые 3 инъекции делают ежедневно, последующие — через день. Общее число инъекций 10—15. Иногда используют винносурьянокалиевую соль (рвотный камень) и винносурьянонатриевую соль (антимонила-натрия тартрат) в виде 1% раствора, который вводят только вв (со скоростью не более 2 млмин). При ранней диагностике и лечении прогноз благоприятный. Эффективность после курса лечения 50—80%. Необходимо дальнейшее наблюдение и в ряде случаев продолжение лечения. При циррозе печени прогноз серьезный.

Профилактика: лечение всех больных шистосомозом, уничтожение моллюсков (промежуточных хозяев), охрана почвы и водоемов от загрязнения. Личная профилактика — не контактировать с водой, в которой могут находиться церкарии.

Энтеробиоз. Этиология. Возбудитель — острица, паразитирующая в нижнем отделе тонкого и толстого кишечника. Возможно заползание в червеобразный отросток, женские половые органы. Продолжительность жизни остриц — 28—56 дней.

Патогенез. Острицы оказывают механическое, токсическое и алергизирующее воздействие на организм, способствуют воспалительным процессам в кишечнике, перианальной области, половых органах (особенно у девочек), моче-выводящих путях.

Симптомы, течение. Основным симптомом — зуд в области заднего прохода по ночам,

продолжающийся несколько дней и повторяющийся через 3—4 нед. Нередки тошнота, потеря аппетита, сухость во рту, схваткообразные боли в животе, иногда понос со слизью, головная боль, головокружение, бессонница, ухудшение памяти, рассеянность, судорожные припадки (у детей). Острицы могут способствовать возникновению трещин, дерматита, абсцесса и экземы в области заднего прохода, промежности, половых органов, вульвовагинита, пиелостита, мастурбации и ночного недержания мочи. Диагноз устанавливается при отхождении остриц и обнаружении яиц в перианальном соскобе.

Лечение. Терапия эффективна при условии тщательного соблюдения личной профилактики и одновременного лечения всех инфицированных членов семьи, а в детском коллективе — всех инвазированных детей и обслуживающего персонала. Для предупреждения аутоинвазии рекомендуется ношение плотно облегающих трусов или рейтуз с резинкой, проглаживание их и постельного белья горячим утюгом в течение 1—1,5 мес. Для борьбы с перианальным зудом и с целью механического удаления остриц и слизи следует вставлять на ночь в задний проход вату, делать очистительные клизмы (взрослым из 5 стаканов, детям из 1—3 стаканов воды, в которую добавляется гидрокарбонат натрия по 12 чайной ложки на стакан) и по утрам обмывать теплой водой с мылом область заднего прохода. При упорном зуде — смазывание зудящих мест анестезиновой мазью (1 г анестезина на 25 г вазелина) и назначение внутрь димедрола.

С целью дегельминтизации назначают пиперазин, пирвиний памоат и комбантрин. Пирвиний памоат (ванквин) назначают в дозе 5 мг/кг, а комбантрин — в дозе 10 мг/кг однократно после еды. В случаях упорного течения энтеро-биоза рекомендуется назначать 3 дозы этих препаратов через 15—18 дней. Прогноз благоприятный.

Профилактика — см. Гименолепидоз.

Эхинококкоз. Этиология. Возбудитель — личиночная стадия эхинококка — паразитирует в печени, легких и других органах. Представляет собой однокамерный пузырь, окруженный двухслойной капсулой и наполненный жидкостью; размер пузырей — от просяного зерна до головы новорожденного ребенка. Пузырь растет медленно, его жизнеспособность сохраняется в течение многих лет. Человек заражается чаще всего от собак, на шерсти которых могут находиться яйца паразита.

Патогенез. Эхинококковый пузырь оказывает механическое и токсико-аллергическое воздействие на ткани. Крупные пузыри смещают и сдавливают ткани, нарушая их кровообращение, вызывают расстройства функций. При травмах и беременности рост пузыря ускоряется. Всасывание жидкости из неповрежденных пузырей ведет к сенсibilизации организма.

Симптомы, течение. Начальные стадии заболевания не диагностируются. При поражении печени ранними симптомами являются боли, иногда опухоль в правом подреберье, эозинофилия, крапивница и лихорадка. Определяются увеличение печени, неровность ее поверхности, изредка симптом «дрожания гидатид» и куполообразное выпячивание на поверхности печени. Могут быть желтуха, синдром сдавления портальной вены (асцит, отеки). Рентгенологически иногда выявляются обызвествленная оболочка кисты, высокое стояние правого купола диафрагмы. При поражении легких могут быть кровохарканье, сухой кашель, одышка, симптомы плеврита. Иногда киста выявляется только рентгенологически. При ее прорыве в бронх возникают мучительный кашель, внезапная одышка, рвота; из бронхов извергается содержимое эхинококкового пузыря в виде светлой водянистой или гнойной жидкости, в которой можно обнаружить фрагменты эхинококка (обрывки оболочек, сколексы, крючья). Течение многолетнее. Состояние больных длительное время остается вполне удовлетворительным. Опасны нагноения и разрывы пузыря, так как при этом возможны обсеменение других органов сколексами (головками) паразита и дочерними пузырями и резкие анафилактические реакции вплоть до коллапса и смерти.

При диагностике используются аллергические (ранняя положительная реакция Касони с нарастанием числа эозинофилов в крови на 2-е сутки; при повторной постановке реакции Касони может возникнуть анафилактическая реакция) и серологические реакции.

Лечение хирургическое и симптоматическое. Прогноз серьезный ввиду возможных осложнений и рецидивов.

Профилактика: соблюдение мер личной гигиены при уходе за собаками, при обработке и снятии шкурок с животных, сборе диких ягод.

Часть 3

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 15 Санитарно-микробиологические исследования

§ 1. Значение санитарной микробиологии и ее задачи

Микроорганизмы, и в первую очередь бактерии, распространены в природе гораздо шире, чем другие живые существа. Благодаря исключительному разнообразию усвоения питательных веществ, малым размерам и легкой приспособляемости к различным внешним условиям бактерии могут быть обнаружены там, где отсутствуют другие формы жизни.

Сложные взаимоотношения микроорганизмов со средой, которые обуславливают их размножение, развитие и выживание, изучает специальная биологическая наука — экология.

Но существует и медицинская наука — санитарная микробиология, которая также занимается изучением микроорганизмов и процессов, вызываемых ими в окружающей среде. Основной задачей санитарной микробиологии является предупреждение возникновения инфекционных заболеваний, т. е. осуществление постоянного контроля за водой, воздухом, почвой, пищевыми продуктами и т. д. с целью выявления патогенных микроорганизмов, либо выявление санитарно-показательных микроорганизмов, которые являются косвенными показателями зараженности окружающей среды. Санитарно-показательные микроорганизмы — это постоянные обитатели поверхностей и полостей тела человека и животных, выделяющихся из организма теми же путями, что и патогенные. Поэтому, чем больше выявлено санитарно-показательных микроорганизмов, тем большая вероятность попадания в объекты внешней среды патогенных микроорганизмов.

Для каждого объекта внешней среды имеются определенные санитарно-показательные микроорганизмы — критерии оценки по бактериологическим показателям. Например, в отношении кишечных инфекций роль таких индикаторов принадлежит кишечным палочкам — постоянным обитателям кишечника человека и животных.

Санитарно-бактериологические исследования проводятся в строгом соответствии со специальными государственными общесоюзными стандартами, приказами, методическими рекомендациями, правилами, которые позволяют дать оценку соответствия выявленной в окружающей среде микрофлоры гигиеническим требованиям. В нормативных документах отражены правила отбора проб, количество материала, условия транспортировки, методы и цель исследования, а также критерии оценки полученных результатов.

Распространение микроорганизмов в природе, роль в круговороте веществ

Все живое на Земле, происшедшее когда-то из неживой материи и качественно отличающееся от последней, находится в теснейшей связи с мертвой природой. Существует постоянное равновесие и взаимосвязь между живой и неживой природой, происходит непрерывная цепь превращений вещества и энергии на земной поверхности, непрерывный процесс созидания и разложения органического вещества.

Этот непрерывный процесс составляет малый биологический круговорот, составляющий часть большого, абиогенного (безжизненного) круговорота, который изучается геохимией и геологией.

В биологический круговорот вовлечены атомы всех химических элементов, составляющих живое вещество. Из них особенно важно рассмотреть круговорот углерода, азота, серы и фосфора.

Зеленые растения и автотрофные микроорганизмы строят органические соединения своего тела, пользуясь только минеральными формами углерода (углекислота атмосферы) и минеральными формами азота (аммиачные и азотно-кис-лые соли). Они осуществляют первичный синтез органических веществ на Земле из простых неорганических соединений.

Единственным источником углеродного питания для зеленых растений является углекислота. Зеленые растения благодаря солнечной энергии превращают углекислоту, не имеющую никакой энергетической ценности, в углеводы, белки и жиры, имеющие

исключительную энергетическую ценность. Все земное царство является огромным аккумулятором солнечной энергии, которую оно переводит в скрытую энергию своих сложных органических соединений.

Подсчитано, что зеленые растения ежегодно извлекают из атмосферы 150 часть всего количества углекислоты атмосферы. Следовательно, лет через пятьдесят вся углекислота могла бы быть переведена в органические соединения растительных и животных организмов. Исчезновение углекислоты сделало бы невозможной жизнь растений, а следовательно, и животных на Земле. Но в действительности этого не наблюдается. Общеизвестно, что содержание углекислоты в атмосфере постоянно и равняется 0,03%. Это постоянство обуславливается тем, что в природе одновременно происходят и обратные процессы — обогащения атмосферы углекислотой. Одновременно с синтезом органического вещества в природе идет разложение органического вещества до неорганических соединений, таких как CO₂, нр, NH₃, H₂S и др.

То же самое можно сказать и в отношении азота. Растения не могут усваивать свободный азот из атмосферы и азот, связанный в органических соединениях. Они усваивают только минерализованные азотные соединения — аммонийные и азотнокислые соли. В пахотном слое 1 га почвы содержится 600 кг азота, но усвояемые формы для растений составляют только 1 %. Такое количество усвояемого азота не обеспечило бы и одного хорошего урожая. Таким образом, жизнь на Земле возможна только при непрерывном разложении органического вещества, синтезированного растениями и животными. Эта грандиозная переработка всех отмерших остатков растительного и животного царства осуществляется микроорганизмами. В ходе своей жизнедеятельности они производят минерализацию органических веществ — белков, жиров, углеводов — с образованием в конечном итоге углекислоты, воды, аммиака, нитратов, неорганических соединений серы и фосфора, усвояемых растениями. Эти вещества вовлекаются в новый круговорот. Чем энергичнее протекают процессы разложения органических веществ, тем больше развивается органическая жизнь, быстрее осуществляется круговорот веществ в природе.

Такая колоссальная работа микроорганизмов обуславливается их чрезвычайно широким распространением в природе, чрезвычайной быстротой размножения, разнообразием типов их питания и ферментных систем.

§ 2. Микрофлора воздуха

Микрофлора воздуха зависит от микрофлоры воды и почвы, над которыми расположены слои воздуха. В почве и воде микробы могут размножаться, в воздухе они не размножаются, а только некоторое время сохраняются. Поднятые в воздух с пылью, они либо оседают с каплями обратно на поверхность земли, либо погибают в воздухе от недостатка питания и от действия ультрафиолетовых лучей. Однако некоторые из них более устойчивые, например, туберкулезная палочка, споры клостридий, грибов и др., могут длительно сохраняться в воздухе.

Наибольшее количество микробов содержится в воздухе промышленных городов. Наиболее чист воздух над лесами, горами, снежными просторами. Верхние слои воздуха содержат меньше микробов. Над Москвой на высоте 500 м в одном метре воздуха содержатся 2—3 бактерии, на высоте 1000 м — в 2 раза меньше. Весьма богат микробами воздух в закрытых помещениях, особенно в лечебно-профилактических, детских дошкольных учреждениях, школах и т.д. Вместе с безвредными сапрофитами в воздухе зачастую находятся и болезнетворные микробы.

При кашле, чихании в воздух выбрасываются мельчайшие капельки-аэрозоли, содержащие возбудителей заболеваний, таких как грипп, корь, коклюш, туберкулез и ряд других, передающихся воздушно-капельным путем от больного человека — здоровому, вызывая заболевание.

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха

Скопление и циркуляция возбудителей заболеваний в воздухе лечебно-профилактических учреждений является одной из причин возникновения госпитальных гнойно-септических инфекций, которые наносят колоссальный экономический ущерб, увеличивая стоимость лечения в 2 раза.

Вследствие этого в последнее время уделяют большое внимание санитарно-бактериологическому исследованию воздуха в больницах, операционных, родильных домах, детских учреждениях и др. Исследования проводят как в плановом порядке, так и по эпидемиологическим показаниям. Бактериологическое исследование воздушной среды предусматривает:

— определение общего содержания микробов в 1 м³ воздуха;

— определение содержания золотистого стафилококка в 1 м³ воздуха.

Отбор проб воздуха для бактериального исследования проводят в следующих помещениях:

* операционных блоках;

* перевязочных;

« послеоперационных палатах; « родильных залах;

* палатах для новорожденных;

* палатах для недоношенных детей;

* послеродовых палатах;

* отделениях и палатах интенсивной терапии и других помещениях, требующих асептических условий.

Методы отбора проб воздуха

Существуют два основных способа отбора проб воздуха для исследования:

1. седиментационный — основан на механическом оседании микроорганизмов;

2. аспирационный — основан на активном просасывании воздуха (этот метод дает возможность определить не только качественное, но и количественное содержание бактерий).

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппарата Кротова, который состоит из трех основных частей: основания, корпуса и крышки. В крышке укреплен диск из прозрачного органического стекла с клиновидной щелью для засасывания воздуха. Для определения количества воздуха, прошедшего через прибор, на наружной стенке корпуса помещен ротаметр. В верхней части корпуса расположен вращающийся диск, на который устанавливается чашка Петри. Засасывание воздуха в прибор осуществляется центробежным вентилятором, насаженным на ось электродвигателя. Поступающая в прибор струя воздуха ударяется о поверхность находящейся в чашке питательной среды, оставляя на ней микроорганизмы, и, обтекая электродвигатель, выходит через ротаметр наружу.

Скорость протягивания воздуха составляет 25 л в минуту. Количество пропущенного воздуха должно составлять 100 литров для определения общего содержания бактерий и 250 литров для определения наличия золотистого стафилококка.

При отборе проб в разных помещениях необходимо обрабатывать поверхность аппарата, столик, внутренние стенки дезинфицирующим раствором 70° спиртом.

Определение микробного числа, патогенных микроорганизмов

Для определения общего содержания бактерий в 1 м³ воздуха забор проб проводят на 2% питательный агар. Посевы инкубируют при температуре 37° С в течение 24 часов, затем оставляют на 24 часа при комнатной температуре, подсчитывают количество выросших колоний и производят перерасчет на 1 м³ воздуха. Если на чашках питательного агара выросли колонии плесневых грибов, их подсчитывают и делают перерасчет на 1 м³ воздуха. В протоколе количество плесневых грибов указывают отдельно.

Расчет. Например, за 10 минут пропущено 125 литров воздуха, на поверхности выросло 100 колоний.

100x1000 л Число микробов в 1 м³ воздуха = — Т -- = 800 л, т.е.

количество выросших колоний -1000 л количество пропущенного воздуха

Для определения наличия золотистого стафилококка забор проб проводят на желточно-солевой агар (ЖСА). Чашки помещают в термостат при температуре 37° С на 24 часа и выдерживают еще 24 часа при комнатной температуре, можно на 48 часов при температуре 37°С. Колонии, подозрительные на стафилококк, подлежат обязательной микроскопии и дальнейшей идентификации.

С желточно-солевого агара снимают в первую очередь колонии стафилококков, которые образуют радужный венчик вокруг колонии (положительная лецитовителлазная реакция).

Дальнейшему изучению подвергают также пигментированные колонии и с отрицательной лецитовителлазной реакцией не менее двух колоний различного вида. Подозрительные колонии пересевают на чашки с кровавым или молочным агаром. Дальнейшее изучение их проводят по схеме.

Бактериологическое исследование на стафилококк

1-й день.

Посев на элективные среды (желточно-солевой, мол очно-солевой или молочно-желточно-солевой агар). Засеянные среды выдерживают в термостате при 37° С в течение 2 суток, либо одни сутки в термостате и дополнительно 24 часа на свету при комнатной температуре.

2—3-й день.

Просмотр чашек, фиксация в журнале характера и массивности роста. На вышеуказанных средах стафилококк растет в виде круглых блестящих, малянистых, выпуклых пигментированных колоний. На средах, содержащих желток, золотистый стафилококк, выделенный от человека, в 60—70% случаев образует радужный венчик вокруг колонии (положительная лецитовителлазная реакция).

Отбивка на скошенный агар для дальнейшего исследования не менее 2 колоний, подозрительных на стафилококк. Для исследования отбивают прежде всего колонии, дающие положительную лецитовителлазную реакцию.

Пробирки с посевом помещают в термостат при 37°С на 18—20 часов.

4-й день.

После суточной инкубации у выделенных штаммов проверяют морфологию, тинкториальные свойства (окраска по Граму) и наличие плазмокоагулирующей активности и хло-пьеобразующего фактора.

Под микроскопом окрашенные по Граму стафилококки имеют вид фиолетово-синих кокков, располагающихся гроздьями или небольшими кучками («кружево»).

Плазмокоагулирующую активность проверяют в реакции коагуляции плазмы (РКП). С учетом результатов РКП и лецитовителлазной активности в 70—75% случаев, на четвертый день исследования может быть подтверждена принадлежность выделенного штамма к виду золотистого стафилококка и выдан соответствующий ответ.

Если культура обладает только плазмокоагулирующей или только лецитовителлазной активностью, то для окончательного ответа требуется определение других признаков патогенности — ферментация маннита в аэробных условиях или ДНКазной активности.

Определение антибиотикограммы проводят только после выделения чистой культуры. Выделенные культуры золотистого стафилококка подлежат фаготипированию.

5-м день.

Учет результатов фаготипирования, определения чувствительности к антибиотикам, ДНКазной активности. Окончательная выдача ответа.

Исследование воздуха седиментационным методом допускается в исключительных случаях.

Чашки Петри с питательной средой (МПА) устанавливают в открытом виде горизонтально, на разном уровне от пола. Метод основан на механическом оседании бактерий на поверхность агара в чашках Петри. Чашки со средой экспонируют от 10 до 20 минут, в зависимости от предполагаемого загрязнения воздуха. Для выявления патогенной флоры используют элективные среды. Экспозиция в этих случаях удлиняется до 2—3 часов. После экспозиции чашки закрывают, доставляют в лабораторию и ставят в термостат на 24 часа при температуре 37 °С. На следующий день изучают выросшие колонии.

Критерии оценки микробной обсемененности воздуха в хирургических и акушерских стационарах

Место отбора проб

Условия работы

Допустимое общее количество КОЕ в 1 м³ воздуха

Допустимое количество колоний золотистого стафилококка в 1 м³ воздуха

Операционные и родильные комнаты

До начала работы

Не выше 500

Не должно быть
Во время работы
Не выше 1000
Не более 4
Палаты для недоношенных и травмированных детей
Подготовленные к приему детей
Не выше 500
Не должно быть
Во время работы
Не выше 750
Не должно быть
Комнаты сбора и пастеризации грудного молока
Во время работы
Не выше 1000
Не более 4
Детские палаты
Подготовленные к приему детей
Не выше 500
Не должно быть
Во время работы
Не выше 750
Не более 4

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Произвести отбор пробы воздуха в учебной комнате се-диментационным способом.
2. Произвести отбор пробы воздуха в учебной комнате ас-пирационным способом (аппаратом Кротова).
3. Определить общее микробное число в 1 м³ воздуха (использовать заранее подготовленные чашки с выросшими колониями).
4. Изучить тинкториальные и ферментативные свойства выросших колоний.
5. Решить задачу: за 10 минут было пропущено 250 литров воздуха. Выросло 150 колоний. Рассчитайте количество колоний в 1 м³ воздуха.

§ 3. Санитарно-микробиологическое исследование воды

Микрофлора воды

Вода является естественной средой обитания многих микробов. Основная масса микробов поступает из почвы. Количество микробов в 1 мл воды зависит от наличия в ней питательных веществ. Чем вода сильнее загрязнена органическими остатками, тем больше в ней микробов. Наиболее частыми являются воды глубоких артезианских скважин, а также родниковые воды. Обычно они не содержат микробов. Особенно богаты микробами открытые водоемы и реки. Наибольшее количество микробов в них находится в поверхностных слоях (в слое 10 см от поверхности воды) прибрежных зон. С удалением от берега и увеличением глубины количество микробов уменьшается. В чистой воде находится 100—200 микробных клеток в 1 мл, а в загрязненной — 100—300 тыс. и больше.

Реки в районах городов часто являются естественными приемниками стоков хозяйственных и фекальных нечистот, поэтому в черте населенных пунктов резко увеличивается количество микробов. Но по мере удаления реки от города число микробов постепенно уменьшается, и через 3—4 десятка километров снова приближается к исходной величине. Это самоочищение воды зависит от ряда факторов: механическое осаждение микробных тел, уменьшение в воде питательных веществ, усвояемых микробами, действие прямых лучей солнца, пожирание бактерий простейшими и др.

Если считать, что бактериальная клетка имеет объем 1 мк³, то при содержании их в количестве 1000 клеток в 1 мл, получится около тонны живой бактериальной массы в кубическом километре воды. Такая масса бактерий осуществляет различные превращения в круговороте веществ в водоемах и является начальным звеном в пищевой цепи питания рыб. Патогенные микробы попадают в реки и водоемы со сточными водами. Возбудители таких

кишечных инфекций, как брюшной тиф, паратифы, дизентерия, холера и др., могут сохраняться в воде длительное время. В этом случае вода становится источником инфекционных заболеваний.

Особенно опасно попадание болезнетворных микробов в водопроводную сеть. Поэтому за состоянием водоемов и подаваемой из них водопроводной воды установлен санитарно-бактериологический контроль.

Санитарно-микробиологический анализ питьевой

Отбор пробы воды

Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов. Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися (силиконовыми, резиновыми или из других материалов) пробками и защитным колпачком (из алюминиевой фольги, плотной бумаги). Многократная посуда, в том числе пробки, должны выдерживать стерилизацию сухим жаром или автоклавированием.

Пробу отбирают в стерильные емкости с соблюдением правил стерильности. Емкость открывают непосредственно перед отбором, удаляя пробку вместе со стерильным колпачком. Во время отбора пробка и края емкости не должны чего-либо касаться. Ополаскивать посуду запрещается.

При исследовании воды из распределительных сетей отбор проб из крана производят после предварительной его стерилизации обжиганием и последующего спуска воды не менее 10 минут при полностью открытом кране. Если отбирают воду после обеззараживания химическими реагентами, то для нейтрализации остаточного количества дезинфектанта в емкость, предназначенную для отбора проб, до стерилизации вносят натрий серноватистокислый в виде кристаллов или концентрированного раствора из расчета 10 мг на 500 мл воды.

После наполнения емкость закрывают стерильной пробкой и колпачком. Отобранную пробу маркируют и сопровождают актом отбора проб воды с указанием названием пробы, места забора, даты (год, месяц, число, час), цель исследования, куда направляется проба для исследования, подпись лица, взявшего пробу.

Безопасность питьевой воды по эпидемиологическим показателям (по СанПиНу 2.1.4.559-96)

Показатели

Единицы измерения

Нормативы

Термотолерантные колиформные бактерии

Число бактерий в 100 мл

Отсутствие

Общие колиформные бактерии

Число бактерий в 100 мл

Отсутствие

Общее микробное число

Число образующих колоний бактерий в 1 мл

Не более 50

Колифаги

Число бляшкообразующих единиц в 100 мл

Отсутствие

Споры сульфитредуцирующих клостридий

Число спор в 20 мл

Отсутствие

Цисты лямблий

Число цист в 50 мл

Отсутствие

Хранение и транспортировка проб воды

К исследованию проб в лаборатории необходимо приступить как можно быстрее с момента

отбора.

Доставка проб осуществляется в контейнерах-холодильниках при температуре 4—10°C. В холодный период года контейнеры должны быть снабжены термоизолирующими материалами, обеспечивающими предохранение проб от промерзания. При соблюдении указанных условий срок начала исследований от момента отбора проб не должен превышать 6 часов.

Если пробы нельзя охладить, их анализ следует провести в течение 2 часов после забора.

При несоблюдении времени доставки пробы и температуры хранения анализ проводить не следует.

Подготовка посуды к анализу

Лабораторная посуда должна быть тщательно вымыта, ополоснута дистиллированной водой до полного удаления моющих средств и других посторонних примесей и высушена.

Пробирки, колбы, бутылки, флаконы должны быть заткнуты силиконовыми или ватно-марлевыми пробками и упакованы так, чтобы исключить загрязнение после стерилизации в процессе работы и хранения. Колпачки могут быть металлические, силиконовые, из фольги или плотной бумаги.

Новые резиновые пробки кипятят в 2%-м растворе натрия двууглекислого 30 минут и 5 раз промывают водопроводной водой (кипячение и промывание повторяют дважды). Затем пробки 30 минут кипятят в дистиллированной воде, высушивают, заворачивают в бумагу или фольгу и стерилизуют в паровом стерилизаторе. Резиновые пробки, использованные ранее, обеззараживают, кипятят 30 минут в водопроводной воде с нейтральным моющим средством, промывают в водопроводной воде, высушивают, монтируют и стерилизуют.

Пипетки со вставленными тампонами из ваты должны быть уложены в металлические пеналы или завернуты в бумагу.

Чашки Петри в закрытом состоянии должны быть уложены в металлические пеналы или завернуты в бумагу.

Подготовленную посуду стерилизуют в сухожаровом шкафу при 160—170°C 1 час, считая с момента достижения указанной температуры. Простерилизованную посуду можно вынимать из сушильного шкафа только после его охлаждения ниже 60°C.

После выполнения анализа все использованные чашки и пробирки обеззараживают в автоклаве при $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$ 60 минут. Пипетки обеззараживают кипячением в 2%-м растворе NaHCO_3 .

После охлаждения удаляют остатки сред, затем чашки и пробирки замачивают, кипятят в водопроводной воде и моют с последующим ополаскиванием дистиллированной водой.

Подготовка проб воды

Прежде чем приступить к посеву, пробу необходимо тщательно перемешать и обработать горячим тампоном край емкости с тем, чтобы устранить его возможное загрязнение во время транспортирования. На используемых для посева пробирках и чашках необходимо обозначить номер пробы, объем воды или разбавление, дату посева.

Перед каждым отбором новой порции воды для анализа пробу необходимо перемешать стерильной пипеткой.

Определение колиформных бактерий в воде методом мембранных фильтров

Фильтровальный аппарат обтирают ватным тампоном, смоченным спиртом, и фламбируют. После охлаждения на нижнюю часть фильтровального аппарата (столлик) фламбированным пинцетом кладут стерильный мембранный фильтр, прижимают его верхней частью прибора (стаканом, воронкой) и закрепляют устройством, предусмотренным конструкцией прибора.

В верхнюю часть прибора наливают точно отмеренный объем воды, затем создают вакуум в нижней части прибора.

При фильтровании 1 мл исследуемой воды или ее разбавлении в воронку предварительно следует налить не менее 10 мл стерильной водопроводной воды, а затем внести анализируемую воду.

После окончания фильтрования воронку снимают, фламбированным пинцетом фильтр осторожно приподнимают за край при сохранении вакуума для удаления излишка воды на нижней стороне фильтра, а затем переносят его, не переворачивая, на питательную среду,

разлитую в чашки Петри, избегая пузырьков воздуха между средой и фильтром. Поверхность фильтра с осевшими на ней бактериями должна быть обращена вверх.

На одну чашку можно поместить 3—4 фильтра с условием, чтобы фильтры не соприкасались.

Выполнение анализа

При исследовании воды на выходе с водопроводных сооружений и в распределительной сети необходимо анализировать 3 объема по 100 мл. Точно отмеренный объем воды фильтруют через мембранные фильтры с соблюдением вышеуказанных требований.

Фильтры помещают на среду Эндо, ставят в термостат вверх дном и инкубируют посеvy при температуре $(37 + 1)^\circ\text{C}$ в течение $24 + 2$ часов.

Учет результатов

Результат считается отрицательным, если на фильтрах вообще не выросли колонии или выросли колонии с неровными краями и поверхностью (пленчатые, губчатые, плесневые, прозрачные, слизистые).

При сливном росте на всех фильтрах проводят рассев на среде Эндо для получения изолированных колоний обычными бактериологическими методами.

При наличии типичных лактозоположительных колоний, дающих отпечаток на обратной стороне мембранного фильтра и среде — темно-красных, красные с металлическим блеском и без него, а также лактозоотрицательных — розовых без отпечатков, подсчитывают число колоний каждого типа.

Для идентификации отбирают не менее 5 колоний каждого вида, делают их посев на скошенный агар и далее изучают биохимические тесты. В качестве подтверждающих используют оксидазный тест и тест образования кислоты и газа при ферментации лактозы или маннита (глюкозы).

Для определения оксидазной активности на фильтровальную бумагу надо поместить 2—3 капли свежеприготовленного реактива для оксидазного теста. Заранее приготовленные бумажки смачивают дистиллированной водой. Стеклопалочкой помещают мазок свежей культуры на подготовленную бумагу. Реакция считается положительной, если в течение 10—30 с появляется фиолетово-коричневое или синее окрашивание.

Культуры, давшие оксидазоположительные реакции, дальнейшему исследованию не подлежат, так как к общим колиформным бактериям относятся граммотрицательные, не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу или маннит с образованием альдегида, кислоты и газа при температуре 37°C в течение 24 часов.

Термотолерантные колиформные бактерии являются показателями свежего фекального загрязнения и обладают всеми признаками общих колиформных бактерий, которые кроме того способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре 44°C в течение 24 часов.

Все типичные лактозоположительные колонии засевают в подтверждающие среды с лактозой и маннитом и инкубируют в течение 24 часов при температуре 37°C для определения общих колиформных бактерий.

Для определения термотолерантных бактерий посев производят в среду, предварительно прогретую до температуры 44°C , и инкубируют при этой же температуре в течение 24 часов. Колонии учитывают как общие колиформные бактерии при отрицательном оксидазном тесте, ферментации лактозы или маннита (глюкозы) при температуре 37°C с образованием кислоты и газа. Среди этих колоний учитывают как термотолерантные колиформные бактерии при оксидазном тесте и ферментации лактозы при температуре 44°C с образованием кислоты и газа.

Если при выборочной проверке колоний одного типа получены неодинаковые результаты, то для вычисления числа колиформных бактерий среди этих колоний используют формулу:

где x — число колоний одного типа; a — общее число колоний этого типа; b — число проверенных из них; c — число колоний с положительным результатом.

Вычисление и представление результатов

Результат анализа выражают числом колоний образующих единиц (КОЕ) общих

колиформных бактерий в 100 мл воды. Для подсчета результата суммируют число колоний, подтвержденных как общие колиформные бактерии, выросших на всех фильтрах, и делят на 3.

Примеры. При посеве трех фильтров по 100 мл выросло две колонии на одном, на остальных двух фильтрах нет роста. Число общих колиформных бактерий будет: $2:3 = 0,7$ КОЕ в 100 мл.

Определение общего числа микроорганизмов, образующих колонии на питательном агаре
Метод определяет в питьевой воде общее число мезо-фильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37°C в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза.

Выполнение анализа

Из каждой пробы отобранной воды должен быть сделан посев не менее двух объемов по 1 мл. После тщательного перемешивания пробы воды вносят по 1 мл в стерильные чашки Петри, сразу же в каждую чашку вливают 6—8 мл расплавленного и остуженного до 45—46°C питательного агара. Затем смешивают содержимое чашек, равномерно распределяя по всему дну, избегая образования пузырьков воздуха, попадания агара на края и крышку чашки.

После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат при температуре 37 °С на 24 часа.

Вычисление и представление результатов

Должны быть подсчитаны все выросшие на чашке колонии, наблюдаемые при увеличении в 2 раза. Подсчет следует производить только на тех чашках, на которых выросло не более 300 изолированных колоний.

Подсчитанное количество колоний на каждой чашке суммируют и делят на два. Результат выражают числом колоний образующих единиц (КОЕ) в 1 мл исследуемой пробы воды.

Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом
Титрационный метод может быть использован:

при отсутствии материалов и оборудования, необходимых для выполнения анализа методом мембранной фильтрации; при анализе воды с большим содержанием взвешенных веществ;

* в случае преобладания в воде посторонней микрофлоры, препятствующей получению на фильтрах изолированных колоний общих колиформных бактерий.

Выполнение анализа

При исследовании питьевой воды централизованного водоснабжения засевают 3 объема по 100 мл (анализ качественный). При исследованиях воды с целью количественного определения общих колиформных бактерий и при повторном анализе производят посев: 3 объема по 100 мл, 3 объема по 10 мл, 3 объема по 1 мл. Каждый объем исследуемой воды засевают в лактозо-пептонную среду. Посев 100 мл и 10 мл воды производят в 10 и 1 мл концентрированной лак-тозо-пептонной среды, посев 1 мл пробы проводят в 10 мл среды обычной концентрации.

Посевы инкубируют при температуре 37° С в течение 24— 48 часов. После 24 часов инкубации проводят предварительную оценку посевов. Из емкостей, где отмечено наличие роста и образование газа, производят высев на сектора типичных для лактозоположительных бактерий колоний, дают положительный ответ на присутствие общих колиформных бактерий.

Вычисление результатов

При исследовании трех объемов по 100мл результаты оцениваются качественно, и при обнаружении общих или термотолерантных колиформных бактерий хотя бы в одном из трех объемов делают запись в протоколе «обнаружены» в 100 мл.

При исследовании количественным методом, после определения положительных и отрицательных результатов на наличие общих и термотолерантных колиформных бактерий в объемах воды, посеянных в среду накопления, вычисляют наиболее вероятное число бактерий в 100 мл пробы (таблица).

Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл питьевой воды

Определение колифагов прямым методом

Проведение анализа

Накануне проведения анализа необходимо сделать посев *E. coli* на косяк с питательным агаром.

Перед проведением анализа сделать смыв бактерий с этого косяка 5 мл стерильной водопроводной воды и по стандарту мутности приготовить взвесь *E. coli* в концентрации 10⁹ бактериальных клеток в 1 мл.

Расплавить и остудить до 45°С 2%-и питательный агар.

Исследуемую воду (100 мл) внести в 5 стерильных чашек Петри по 20 мл в каждую. В питательный агар добавить смыв *E. coli* из расчета 1,5 мл смыва бактерий на 150 мл агара и осторожно перемешать. Полученной смесью по 30 мл залить сначала пустую чашку Петри (контроль газона *E. coli*), а затем все чашки, содержащие исследуемую воду. Содержимое чашек осторожно перемешать. Чашки оставить при комнатной температуре для застывания, а затем вверх дном поместить в термостат для инкубирования при температуре 37°С.

Учет результатов

Учет результатов проводят путем подсчета и суммирования бляшек, выросших на 5 чашках Петри. Результаты выражают в бляшкообразующих единицах (БОЕ) на 100 мл пробы воды. В контрольной чашке бляшки колифагов должны отсутствовать.

Для проведения текущего контроля качества питьевой воды используют метод определения колифагов.

Колифаги — бактериальные вирусы, способные лизировать *E. coli* и формировать при температуре 37 + 1°С через 18 + 2 г зоны лизиса бактериального газона (бляшки) на питательном агаре.

Исследуемую пробу воды (100 мл) и чашку Петри с контролем *E. coli* помещают в термостат на 18—20 часов при температуре 37 + 1°С.

Для контроля культуры 0,1 мл смыва бактерий *E. coli* (или 0,2 мл 4-часовой бульонной культуры) помещают в чашку Петри и заливают питательным агаром.

После инкубации из исследуемой пробы воды в пробирку отливают 10 мл и добавляют 1 мл хлороформа. Пробирку закрывают стерильной резиновой или силиконовой пробкой, энергично встряхивают и оставляют при комнатной температуре не менее 15 мин до полного осаждения хлороформа.

В предварительно расплавленный и остуженный до 45—49°С питательный агар добавляют приготовленный смыв бактерий *E. coli* из расчета 1,0 мл смыва на 100 мл агара,

В стерильную чашку Петри пипеткой из пробирки переносят 1 мл обработанной хлороформом пробы и заливают смесью расплавленного и остуженного до 45—49°С питательного агара объемом 12—15 мл, а также одну дополнительную чашку Петри для контроля культуры *E. coli*, перемешивают и оставляют на столе до полного застывания агара, затем чашки Петри ставят в термостат на 18 + 2 ч при 37°С.

Учет результатов

Просмотр посевов осуществляют в проходящем свете. Проба считается положительной при наличии полного лизиса, просветления нескольких бляшек, одной бляшки на чашке с пробой воды при отсутствии зон лизиса на контрольной чашке. При наличии зон лизиса в контроле — результат считается недействительным.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Произвести отбор пробы воды из крана по всем правилам для бактериологического исследования.
2. Произвести посевы из каждой отобранной пробы по 1 мл воды в стерильные чашки Петри с расплавленным питательным агаром для определения общего числа микробов.
3. Произвести подсчет выросших на чашках (заранее подготовленных) колоний и выразить результат в колоний-образующих единицах (КОЕ).
4. Составить схемы санитарно-бактериологического исследования воды фильтрационным и титрационным методами.

§ 4. Микрофлора почвы

Почва — это смесь частиц органических и неорганических веществ, воды и воздуха.

Неорганические частицы почвы — это минеральные вещества, окруженные пленкой

коллоидных веществ органической или неорганической природы.

Органические частицы почвы — остатки растительных и животных организмов, т.е. гумус. Почва обильно заселена микроорганизмами, так как в ней есть все необходимое для жизни: органические вещества, влага, защита от солнечных лучей.

В почве встречаются все формы микроорганизмов, которые есть на Земле: бактерии, вирусы, актиномицеты, дрожжи, грибы, простейшие, растения.

Общее микробное число в 1 г почвы может достигать 1— 5 млрд. В 1 га почвы содержится 1 тонна живого веса бактерий, однако в разных слоях количество микроорганизмов неодинаково. В самом верхнем слое почвы микроорганизмов очень мало (слой « 0,5 см). На глубине 1—2—5 см до 30— 40 см число микроорганизмов больше всего. В этом слое ОМЧ в среднем 10—50 млн в 1 г. В относительно чистых почвах этот показатель равен 1,5—2 млн в 1 г. Глубже 30— 40 см число микроорганизмов снижается и в более глубоких слоях их опять мало.

Факторы, влияющие на качественный и количественный состав микроорганизмов почвы

На численность и вещевой состав микроорганизмов влияют следующие факторы:

1. Тип почвы (тундровая, подзолистая, черноземная, сероземная).

Наиболее богаты микроорганизмами черноземные почвы, в которых до 10% органических веществ от сухого веса почвы.

В 1 г черноземной почвы более 3,5 млн микробных клеток. На микробный пейзаж в таких почвах влияет обильная растительность с богатой корневой системой. Корни выделяют в почву белковые и азотистые вещества, минеральные соли, органические кислоты, витамины. В результате этого вокруг корней создаются ризосферы, т. е. скопления микроорганизмов.

Микроорганизмы, в свою очередь, влияют на биохимические процессы в почве, на плодородие. Истощенные, гористые и песчаные почвы бедны микроорганизмами. В таких почвах органических веществ 1% от сухого веса почвы.

2. Влажность почвы.

Во влажных почвах микроорганизмы размножаются лучше, чем в сухих, но в почвах торфяных болот, несмотря на большое количество влаги и органических веществ (до 50%), микроорганизмов мало, так как эти почвы имеют кислую реакцию и в них проявляется антагонистическое влияние мхов.

3. Аэрация.

Почвы, богатые влагой, плохо аэрируются. В этих условиях преобладают анаэробы, а песчаные почвы аэрируются лучше, поэтому в них больше аэробов.

4. Температура почвы.

В теплые периоды года микроорганизмов во много раз больше, чем зимой. Зимой развитие микроорганизмов прекращается, и они погибают. Наблюдаются суточные колебания количества микроорганизмов в почве. Наиболее благоприятная температура 20—30°C, а при температуре 10°C и ниже развитие замедляется.

5. Адсорбционная способность почв.

Наибольшая адсорбирующая способность почв наблюдается у горноземных (гумусовых), она зависит от содержания в почве илестых частиц, количества средней и мелкой пыли, pH почвы. Эти почвы богаты кальцием. Характер почв влияет и на глубину проникновения микроорганизмов.

В более влажных северных почвах жизнь микроорганизмов как бы «прижата» к поверхности, а в легких, щелочных южных почвах — жизнь микроорганизмов «углубляется». Они могут быть обнаружены на глубине 10 м и более.

Почва как фактор распространения инфекционного заболевания

Микрофлору почв делят на 2 группы:

1) аутоτροφная, которая питается минеральными веществами.

2) гетеротрофная — питается органическими веществами.

Обе группы участвуют в процессах самоочищения почв, минерализации почв, хотя некоторые представители гетеротрофов загрязняют почву — это и патогенная микрофлора.

Основная масса патогенной микрофлоры в почве постепенно отмирает, однако длительность переживания патогенной микрофлоры зависит от следующих факторов:

- * свойств микроба;
- * типа почв;
- * температуры и влажности почв;
- * микробов биоцинеозов;
- * бактериофагов;
- * антагонистов-сапрофитов;
- * микроорганизмов, продуцирующих антибиотики; от токсикога почв.

В почвах периодически появляются токсические вещества, их природа не совсем изучена, но предполагается, что это метаболиты некоторых микроорганизмов. Токсические вещества почвы губительно действуют на микроорганизмы почвы, в том числе и на полезную микрофлору.

Дизентерийная палочка при 18°C выживает в различных типах почв от 3 до 65 дней, *S. typhi* и *paratyphi* — 19—101 день.

Споровая микрофлора сохраняется дольше, даже годами и, напротив, холерные вибрионы, палочки чумы, бруцеллеза, вирусы полиомиелита — от нескольких часов до нескольких месяцев.

Процессы самоочистения в почве

При попадании в почву органических веществ сразу же повышается общее микробное число (ОМЧ), а также общее число сапрофитов (ОЧС). Обычно в грязных почвах ОМЧ ОЧС, а в чистых ОМЧ = ОЧС или ОЧС ОМЧ. Сначала размножаются гетеротрофы, обладающие очень высокой ферментативной активностью и представленные семейством кишечных псевдомонад, аэромонад, аэромонад-терий и др. В этот период в почве много фекальных бактерий (бактерий группы кишечной палочки — БГКП, энтерококки, *Cl. perfringens*), много протеолитов, разлагающих белки, пептоны, желатина, много аммонификаторов, т. е. микробов, расщепляющих белки до NH₃.

В процессе самоочистения почвы все время меняется состав микрофлоры. По мере повышения кислотности в почве появляются ацидофильные микроорганизмы: молочнокислые бактерии, дрожжи, грибы, плесени, актиномицеты.

По мере накопления аммиака в почве начинают размножаться нитрификаторы, т. е. микроорганизмы, окисляющие NH₃ до нитритов и нитратов. Эти микроорганизмы завершают цикл превращений органических веществ в неорганические.

За окисление NH₃ до HNO₂ ответственны нитрозобактерии (*Nitrosomonas*, *Nitrosospira*), а за окисление HNO₂ в HNO₃ — нитробактерии.

Одновременно с процессами нитрификации идут процессы денитрификации, т. е. восстановление нитратов в нитриты, а далее в газообразный азот. На этом этапе ОМЧ почвы становится низким. Видовой состав и численность микрофлоры стабилизируется. Активные вегетативные формы спорообразующих бактерий и грибов уступают покоящимся спорам бацилл, актиномицетам, грибам.

В чистых почвах всегда доминируют покоящиеся споры. Спорообразование всегда говорит о законченных процессах минерализации почвы.

Сочетание ОМЧ и нитрификаторов используют для распознавания и отличия чистых почв от почв, бывших загрязненными, но находящихся на стадии минерализации. Для них характерно низкое ОМЧ, но высокое число нитрификаторов.

То же самое можно сказать и при сопоставлении общего числа сапрофитов и процентов спорных аэробов. Если процент спорных форм к ОЧС высок (40—60%), то это характерно для чистых почв, если же низок (25%), то почва загрязнена. Если к вышеперечисленным показателям добавить еще определение БГКП, *Cl. perfringens*, термофилы, то для самого свежего загрязнения характерна большая обсемененность почвы БГКП, *Cl. perfringens*, термофилами и отсутствие нитрификаторов.

Чуть позже, когда начинаются процессы самоочистения, наряду с кишечными бактериями начинает нарастать количество нитрификаторов.

В процессе самоочистения почвы происходят изменения в показателях: наиболее быстро отмирает кишечная палочка. Обнаружено, что в сильно загрязненной почве титр БГКП увеличивается за 4,5 месяца с 10⁵-6 до ЮЛ или 1 г, титры *Cl. perfringens* и нитрификаторов

были еще низкими. Такое соотношение показателей говорит об очищении почвы только от кишечных палочек и патогенных бактерий семейства кишечных и об интенсивных процессах самоочищения.

Через 9—11 месяцев в супесчаных почвах ОМЧ уменьшается от нескольких миллионов до нескольких тысяч микробных клеток в 1 г. Титры нитрификсаторов резко увеличивались. Высокие титры всех показателей говорят о законченных процессах самоочищения.

Санитарная характеристика почв

Почва — одна из главных составляющих природной среды, которая благодаря своим свойствам (плодородие, самоочищающая способность и др.) обеспечивает человеку питание, работу, здоровую среду обитания. Нарушение этих процессов, вызванное загрязнением, может оказать неблагоприятное влияние на здоровье людей и животных. Наблюдается распространение инфекционных и инвазионных заболеваний, ухудшение качества продуктов питания, воды, водоисточников, атмосферного воздуха. Это понимание почвы, как одного из главных компонентов окружающей среды, от которого зависят условия жизни и здоровья населения, требует большого внимания к ее санитарной охране.

Санитарное состояние почвы — совокупность физико-химических и биологических свойств почвы, определяющих качество и степень ее безопасности в эпидемическом и гигиеническом отношениях.

Опасность загрязнения почв определяется уровнем ее возможного отрицательного влияния на контактирующие среды (вода, воздух), пищевые продукты и прямо или опосредованно на человека, а также на биологическую активность почвы и процессы самоочищения.

Санитарная характеристика почв населенных мест основывается на лабораторных санитарно-химических, санитарно-бактериологических, санитарно-гельминтологических, санитарно-энтомологических показателях.

По эпидемическим показаниям можно проводить индикацию и выделение из почвы патогенных микроорганизмов, в распространении которых почва играет важную роль.

Результаты обследования почв учитывают при определении и прогнозе степени их опасности для здоровья и условий проживания населения в населенных пунктах, разработке мероприятий по их рекультивации, профилактике инфекционной и неинфекционной заболеваемости, схем районной планировки, технических решений по реабилитации и охране водосборных территорий, при решении очередности санационных мероприятий в рамках комплексных природоохранных программ и оценке эффективности реабилитационных и санитарно-экологических мероприятий и текущего санитарного контроля за объектами, косвенно воздействующими на окружающую среду населенного пункта.

Оценка санитарного состояния почвы по микробиологическим показателям

Оценка санитарного состояния почвы проводится по результатам анализов почв на объектах повышенного риска (детские сады, игровые площадки, зоны санитарной охраны и т. п.) и в санитарно-защитных зонах по санитарно-бактериологическим показателям:

1) косвенным, которые характеризуют интенсивность биологической нагрузки на почву. Это — санитарно-показательные организмы группы кишечной палочки (БРКП, коли-индекс) и фекальные стрептококки (индекс энтерококков). В крупных городах с высокой плотностью населения биологическая нагрузка на почву очень велика, и как следствие, высоки индексы санитарно-показательных организмов.

2) прямым санитарно-бактериологическим показателям эпидемической опасности почвы — обнаружение возбудителей кишечных инфекций (возбудители кишечных инфекций, патогенные энтеробактерии, энтеровирусы);

3) почву оценивают как чистую без ограничений по санитарно-бактериологическим показателям при отсутствии патогенных бактерий и индексе санитарно-показательных микроорганизмов до 10 клеток на 1 г почвы.

О возможности загрязнения почвы сальмонеллами свидетельствует индекс санитарно-показательных организмов (БГКП и энтерококков) 10 и более клеток в 1 г почвы.

Наличие кишечной палочки в титрах 0,9 и ниже свидетельствует о несомненном фекальном загрязнении почвы, притом свежем. Одновременно могут быть зарегистрированы низкие

титры *Cl. perfringens*, нитрификаторов. Однако следует иметь в виду, что в первое время после имевшего места органического загрязнения, нитрификаторов может быть мало — необходимо время, чтобы они успели размножиться.

В процессе самоочищения на разных этапах возникают различные количественные соотношения этих показателей. Наиболее быстро отмирает кишечная палочка, поэтому при сравнительно высоких ее титрах титры *Cl. perfringens* и нитрифицирующих бактерий низкие. Это показывает, что в почве интенсивно протекают процессы самоочищения как от патогенных микроорганизмов, так и от органического загрязнения.

Высокий титр (1,0 и выше) кишечной палочки при низких титрах остальных 3 показателей характеризует почву как свободную от возбудителей кишечных инфекций, но в которой еще не закончились процессы распада и минерализации органических веществ.

Высокие титры всех показателей свидетельствуют о законченных процессах самоочищения и характеризуют почву как чистую, свободную от патогенных энтеробактерии и органических загрязнений.

§ 5. Отбор проб и предварительная обработка почвенных образцов для анализа

Санитарное обследование, выбор точек отбора проб

Основными объектами, территории которых подлежат контролю органов санитарного надзора с применением сани-тарно-микробиологических методов исследования, требующими проведения ряда мероприятий по предотвращению загрязнения почвы, являются: детские и лечебно-профилактические учреждения; сельские и неканализованные районы городских населенных пунктов; территории первого пояса зоны санитарной охраны источников хозяйственно-питьевого водоснабжения; зоны свалок; отвальные площадки; сельскохозяйственные поля, орошаемые водой из открытых водоемов, стоками животноводческих ферм; земельные поля орошения городскими и промышленными сточными водами.

Обязательным предварительным этапом при санитарно-бактериологическом исследовании является санитарное обследование и составление паспорта обследуемого участка с сопроводительным талоном.

Паспорт обследуемого участка:

1. Номер участка.
2. Адрес участка и его привязка к источнику загрязнения.
3. Дата обследования.
4. Размер участка.
5. Название почв.
6. Рельеф.
7. Уровень залегания грунтовых вод.
8. Растительный покров территории.
9. Характеристика источника загрязнения (характер производства, используемое сырье, мощность производства, объем газопылевых выбросов, жидких и твердых отходов, удаление от жилых зданий, игровых площадок, мест водозабора и т. д.).
10. Характер использования участка (детская площадка, предприятие и т. д.).
11. Сведения об использовании участка в предыдущие годы (мелиорация, применение средств химизации и др.). Исполнитель, должность. Личная подпись. Расшифровка подписи

Сопроводительный талон содержит следующие данные:

1. Дата и час отбора пробы.
2. Адрес.
3. Номер участка.
4. Номер пробной площадки,
5. Номер объединенной пробы, горизонт (слой), глубина взятия пробы.
6. Характер метеорологических условий в день отбора пробы.
7. Особенности, обнаруженные во время отбора пробы (освещение солнцем, применение средств химизации, наличие свалок, очистных сооружений и т. д.).
8. Прочие особенности.

Внизу ставится подпись врача или помощника санитарного врача, проводившего санитарное

обследование земельного участка.

На основании результатов санитарного обследования территории и ее описания составляется схематический план земельного участка с нанесением источников загрязнения. Это позволяет правильно обосновать выбор точек отбора проб почвы.

На изучаемой территории при наличии одного источника загрязнения выделяют два участка 25 м² каждый: один вблизи источника загрязнения (опытный), другой — вдали (контрольный). Контрольный выбирают с таким расчетом, чтобы он был заведомо незагрязненным и имел одинаковый почвенный состав с опытным.

Отбор образцов почвы

Пробы почвы отбираются на каждом из участков в его пяти точках по диагонали или по «конверту» (четыре точки по углам и одна в центре).

Если исследователя интересуют последствия непосредственного внесения химического вещества в почву, то пробы отбираются поверхностно (0—1 см) стерильным инструментом (нож, шпатель) в количестве 0,3—0,5 кг в одной точке.

Если изучается воздействие химического вещества на микрофлору почвенного горизонта, то для отбора проб почвы пользуются следующей методикой. Каждая точка, в которой проводится отбор проб почвы, представляет собой центр выбранного для исследования 1 м² территории. Здесь выкапывается шурф размером 0,3 x 0,3 м и глубиной 0,2 м. Поверхность одной из стенок шурфа очищают стерильным ножом. Затем из этой стенки вырезают почвенный образец, размер которого обусловлен заданной навеской. Так, если необходимо отобрать 200 г почвы, размер образца 20 см x 3 см x 3 см; 500 г — 20 см x 5 см x 30 см.

При изучении воздействия пестицидов и других химических веществ на микрофлору и процессы самоочищения в более глубоких слоях почвы, для отбора проб почвы пользуются шурфом глубиной до 1 м. Пробы отбираются из стенки шурфа стерильным инструментом через каждые 10 см.

Отобранные образцы помещают в стерильную посуду и доставляют в лабораторию. При невозможности приступить к исследованию почвы немедленно, допускается хранение образца при температуре 4—5°С, но не более 24 часов.

Подготовка и обработка почвы для анализа

Для приготовления среднего образца объемом 0,5 кг почву всех образцов одного участка высыпают на стерильный плотный лист бумаги, тщательно перемешивают стерильным шпателем, отбрасывают камни и прочие твердые предметы. Затем почву распределяют на месте ровным тонким слоем в форме квадрата.

Диагоналями почву делят на 4 треугольника. Почву из двух противоположных треугольников отбрасывают, а оставшуюся вновь перемешивают, опять распределяют тонким слоем и делят диагоналями и так до тех пор, пока не останется примерно 0,5 кг.

Перед посевом почву диспергируют, т.е. почву с соблюдением условий стерильности просеивают через сито диаметром 3 мм. При просевании сито сверху покрывают стерильной бумагой.

Для учета почвенных микроорганизмов и энтеровирусов достаточно навески от 1 до 10 г, для санитарно-показательных микроорганизмов от 1 до 30 г, для патогенных энтеро-бактерий (50—50,5 г). Первое разведение навески почвы (1 : 10) делают в стерильной посуде, добавляя стерильную водопроводную воду в соотношении 1 : 10 к весу почвы (например: 1 г воды, 10 г почвы — в 100 мл воды и т. п.).

Далее проводят предварительную обработку почвы, целью которой является извлечение клетки микроорганизмов из почвенных агрегатов.

Основными приемами предварительной обработки почвы являются:

- 1) 10-минутное вертикальное встряхивание почвенной суспензии первого разведения в пробирках с резиновыми пробками — при навеске почвы 1 г;
- 2) 3-минутная обработка почвенной суспензии на механической мешалке.

Почвенную суспензию, содержащую в 1 мл 0,1 г почвы, через 30 секунд после предварительной обработки (за это время оседают грубые минеральные частицы) используют для приготовления последовательно убывающих концентраций почвы. Для этого из первого разведения, находящегося во флаконе, с содержанием почвы 0,1 г/мл стерильной

пипеткой отбирают 1 мл и переносят в пробирку с 9 мл стерильной водопроводной воды. При этом получают второе разведение, содержащее 0,01 гмл почвы. Повторяя эту операцию, доводят разведение почвы до 0,0001—0,00001 гмл.

Приготовленные разведения используются для посева на различные питательные среды с целью определения микробиологических показателей.

Санитарно-бактериологическое исследование почвы

К методам определения микробиологических показателей, характеризующих фекальное загрязнение почвы, относятся следующие:

1. Определение количества бактерий группы кишечных палочек, энтерококков, энтеровирусов.
2. Определение кишечных палочек в почве титрационным методом.
3. Определение кишечных палочек в почве методом мембранных фильтров.
4. Прямой поверхностный посев на агаризованные питательные среды для учета кишечных палочек в почве.
5. Определение в почве общего количества бактерий,
6. Определение *Clostridium perfringens* в почве.
7. Определение термофильных бактерий.
8. Определение в почве нитрифицирующих бактерий.

К методам определения микроорганизмов, характеризующих загрязнение и самоочищение почвы от органических и химических загрязнений, относятся:

1. Определение общей численности почвенных сапрофитных микроорганизмов.
2. Определение общей численности почвенных микроорганизмов методом прямой микроскопии.
3. Определение общего числа и процента почвенных бацилл.
4. Определение количества грибов и актиномицетов в почве.
5. Определение аэробных целлюлозоразлагающих микроорганизмов.
6. Определение аммонификаторов в почве.
7. Определение токсичности почв к микроорганизмам.

К методам определения патогенных бактерий и вирусов в почве относятся следующие:

1. Определение сальмонелл в почве.
2. Индикация и выделение патогенных клостридий из почвы.
3. Идентификация и выделение столбнячной палочки.
4. Индикация и выделение ботулинической палочки.
5. Обнаружение сибиреязвенной палочки в почве.
6. Санитарно-вирусологическое исследование почвы.

Основные методы определения микробиологических показателей, характеризующих фекальное загрязнение почв

Определение кишечных палочек в почве титрационным методом

Из первого разведения почвенной суспензии (1 : 10) берут 10 мл и засевают во флаконы с 50 мл жидких сред (Кес-слера или лактозного бульона с трифенилтетразолием хлорида ТТХ). Посев меньших количеств (0,1 г, 0,01 гит. д.) делают по 1 мл из соответствующих разведений почвенной суспензии в пробирки с 9 мл тех же сред.

Перед посевом в каждую пробирку с лактозным бульоном прибавляют по 0,3 мл 2% водного раствора ТТХ, а в каждый флакон— по 1,5 мл. Методика с использованием ТТХ основана на способности кишечной палочки восстанавливать бесцветное соединение ТТХ с трифенилформазаном, выпадающим в виде осадка и придающим среде коричневатокрасный цвет. Кишечная палочка устойчива к действию формаза, в то время как развитие другой микрофлоры тормозится.

Посевы на среде Кесслера выращивают 48 часов при 43 °С или 37°С. Отсутствие через 48 часов газообразования и помутнения в бродильных сосудах дает окончательный отрицательный ответ на наличие бактерий группы кишечных палочек. Отрицательный ответ на лактозном бульоне с ТТХ дается через 24 часа в том случае, если в пробирках и флаконах цвет среды не изменился.

При наличии в сосудах со средой Кесслера газообразования и помутнения или только

помутнения производят высев на среду Эндо. Чашки с посевами помещают в термостат на 24 часа при температуре 37°C.

Отсутствие роста на чашках дает окончательный отрицательный ответ.

При наличии на поверхности среды Эндо розовых или красных колоний грамотрицательных палочек с отрицательной оксидазной активностью, их подсчитывают и причисляют к бактериям группы кишечных палочек после подтверждения ферментации глюкозы. Для этого засевают 2—3 колонии каждого типа в полужидкую среду с глюкозой. Учет производят через 4—5 и 18 часов инкубации при 37°C. Если за это время в среде происходит образование кислоты и газа, то это подтверждает наличие кишечных палочек в исследуемом разведении почвы. Результаты анализа выражают коли-титром.

Определение в почве общего количества бактерий

Для характеристики в почве общего микробного загрязнения фекального происхождения используют определение численности микроорганизмов, преимущественно бактерий, присущих на мясопептонном агаре при 37°C. При этом производят посев почвенных разведений в 1,5% мясопептонный агар. Из каждой пробы почвы для посева должно быть использовано не менее двух различных разведений. Берут 1 мл суспензии и переносят на дно стерильной чашки. Из каждого разведения посев производят минимум на 2 параллельные чашки. После в каждую чашку вливают предварительно расплавленный и остуженный до 45 °C питательный агар в количестве 15—20 мл. Чашки Петри с расплавленным агаром хорошо перемешивают с имеющейся там почвенной суспензией. Затем чашки помещают на строго горизонтальную поверхность до затвердевания среды.

После застывания агара чашки с посевом в перевернутом виде помещают в термостат при 37°C на 24 часа.

После инкубации подсчитывают выросшие колонии.

Определение в почве общего количества бактерий

Для характеристики в почве общего микробного загрязнения фекального происхождения используют определение численности микроорганизмов, преимущественно бактерий, растущих на мясопептонном агаре при 37 °C. При этом производят посев почвенных разведений в 1,5 % мясопептонный агар. Из каждой пробы почвы должно быть использовано для посева не менее двух различных разведений. После тщательного перемешивания берут по 1 мл суспензии и переносят на дно двух стерильных чашек Петри. В каждую чашку вливают питательный агар в количестве 15—20 мл расплавленного и остуженного до 45°C. Затем чашки помещают на строго горизонтальную поверхность до затвердевания среды.

После инкубации при температуре 37 °C 24 часа подсчитывают выросшие колонии.

Определение клостридиум перфрингенс в почве

Из всех приготовленных почвенных разведений (до 1 : 1000 000) по 1 мл переносится в два параллельных ряда пробирок. Один ряд пробирок прогревают при температуре 80°C в течение 15 минут или при 90°C — 10 минут. Затем во все пробирки наливают по 9—10 мл среды Вильсон—Блер. Инкубация посевов производится при 37° C в течение 24 часов.

Cl. perfringens образуют колонии черного цвета, в мазках — грамположительные палочки.

Определение в почве нитрифицирующих бактерий

Нитрифицирующие бактерии завершают цикл превращения в почве азотсодержащих соединений, окисляя аммиак до нитритов и нитратов. Поэтому численность этих микроорганизмов довольно четко указывает на степень органического загрязнения, скорости и окончания распада органики в почве.

Определение нитрификаторов можно производить посевом разведений почвенной суспензии на плотных или жидких средах. Чаще всего для этих целей применяется среда Виноградского. Для этого производят посев почвенных разведений во флаконы со средой, разлитой тонким слоем. В опыт рекомендуется включать два незараженных флакона со средой, служащей контролем на чистоту среды. Посевы инкубируют при 28°C в течение 14—15 суток.

При развитии нитрифицирующих бактерий в среде постепенно образуются азотистая и азотная кислоты. Образование окисных соединений азота рекомендуется проверять на 5—7-й день после посева и вторично на 14—15-й день. Титр нитрифицирующих бактерий чаще

всего устанавливают с помощью качественной пробы с дифенилаланином; в присутствии азотистой и азотной кислот этот реактив дает синее окрашивание. Для этого пипеткой несколько капель среды из каждого флакона, не взмучивая осадок, переносятся на стеклянную пластинку. Затем добавляют несколько капель раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте. Появление синего окрашивания указывает на присутствие в среде нитратов, как результат размножения нитрифицирующих бактерий. Среда контрольных флаконов не должна давать изменения окраски.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Приготовить образец почвы для санитарно-бактериологического исследования.
2. Произвести разведение почвы 1:10 и ряд последовательных разведений 1:100; 1:1000; 1:10000.
3. Определить бактерии группы кишечной палочки в почве титрационным методом.
4. Определение микробного числа почвы: пользуясь демонстрационными посевами на МПА различных разведений почвенной суспензии, подсчитать микробное число и промикроскопировать материал из отдельных колоний.
5. Изучение посевов почвы на срезах Кесслера и Эндо: обратить внимание на характерный рост кишечной палочки.
6. Изучение характера роста на *Cl. perfringens* на среде Вильсон—Б лер.

§ 6. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов

Общая характеристика микрофлоры пищевых продуктов

Микрофлора пищевых продуктов подразделяется на специфическую и неспецифическую. К специфической относятся микроорганизмы, используемые для приготовления некоторых продуктов, формирующие продукт или специально добавляемые в него для придания определенных вкусовых и питательных качеств. Без специфической микрофлоры фактически не может существовать и сам продукт. Невозможно представить себе приготовление простокваши и кефира без молочнокислых бактерий, пива — без участия дрожжей и т.д.

Специфическая микрофлора представляет интерес для бактериологов, работающих на предприятиях пищевой промышленности. Они постоянно следят за чистотой штаммов, за сохранением их биологических свойств, от которых зависит качество выпускаемого продукта.

В производстве кисломолочных продуктов (простокваши, масла, творога и т. п.) чаще всего используется молочнокислый стрептококк и в дополнение к нему сливочный стрептококк. Молочнокислый стрептококк — это грамположительные кокки, располагающиеся попарно, он сбраживает лактозу, глюкозу, галактозу с образованием кислоты и газа. Клетки сливочного стрептококка располагаются в виде цепочек, они придают продукту сметанообразную консистенцию. Иногда в кисломолочные продукты добавляют ароматизирующие стрептококки: стрептококкус цитроворус, стрептококкус диацетилактис и др. Большинство молочнокислых стрептококков может расти на мясопептонном агаре, образуя при поверхностном посеве очень мелкие круглые выпуклые колонии, а при глубинном посеве — колонии в виде чечевичных зерен.

Помимо стрептококков, в приготовлении кисломолочных продуктов принимают участие и молочнокислые палочки. Некоторые кисломолочные продукты (простокваша, ацидофильное молоко и др.) готовят на чистой культуре молочнокислых палочек — это довольно крупные бесспорные грам+ палочки. Они, как правило, не растут на МПА.

Кефир получают с помощью так называемого кефирного грибка. Основа грибка состоит из плотного войлокообразного сплетения нитей (палочка стромы), среди которых находятся скопления микроорганизмов, формирующих кефир: молочнокислых стрептококков, молочнокислых палочек и дрожжеподобных грибов.

В препарате, приготовленном из суточного кефира, можно обнаружить главным образом молочнокислые стрептококки, в небольшом количестве молочнокислые палочки и не в каждом поле зрения дрожжевые клетки. В двухсуточном кефире появляется большое количество дрожжевых клеток.

Микроорганизмы молочнокислого брожения участвуют также и в таких процессах, как квашение, мочение овощей и фруктов.

Неспецифическая микрофлора попадает на продукт случайно, загрязняя его. В большинстве своем это микробы-сапрофиты, различные представители палочковидной и кокковой флоры. При определенных условиях часть микрофлоры может вызвать изменения органолептических свойств пищевого продукта, его порчу. Так, при длительном хранении молока на холоде могут развиваться жирорасщепляющие микробы, вызывающие прогоркание молока; «тягучая болезнь» хлеба обусловлена развитием микробов группы мезентерикус и т. п.

При несоблюдении санитарного режима на пищевых предприятиях продукт в значительной степени «обрастает» посторонней неспецифической микрофлорой, среди которой могут встретиться и патогенные для человека микробы — возбудители инфекционных заболеваний или пищевых от-

12. Зак 361 равлений. Многие патогенные микробы не только выживают в пищевом продукте в течение некоторого времени, но и способны размножиться в нем. Всем известны «молочные эпителии» брюшного тифа или кишечные формы сибирской язвы, возникающие при употреблении зараженных продуктов, и т. п.

Общие принципы санитарно-микробиологического исследования пищевых продуктов

Конечной целью санитарно-бактериологического контроля пищевых продуктов является профилактика пищевых отравлений.

При плановом санитарно-бактериологическом контроле пищевых продуктов подлежат исследованию:

количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАны) (общее количество микробов) (ГОСТ 10444. 15—94) (приложение № 1);

* количество бактерий группы кишечных палочек (БГКП), а в части продуктов — количество БГКП методом наиболее вероятного числа (НВЧ) (ГОСТ Р 50474—93);

* коагулазоположительные стафилококки (*St. aureus*) (ГОСТ 30347-97); бактерии рода *Proteus*;

* бактерии рода *Salmonella* в 25 г продукта (ГОСТ Р 50480—93).

Пищевые продукты исследуют:

а) с целью выделения различных патогенных микроорганизмов по эпидемиологическим показаниям в случаях инфекционных заболеваний и пищевых отравлений; б) с целью планового контроля за качеством сырья и продукта в процессе его приготовления; в) с целью контроля за готовой продукцией, поступающей потребителю; г) с целью определения соответствия качества продукта требованиям стандарта.

Определение общей обсемененности продуктов или микробное число, т. е. количество колоний, выросших при посеве 1 г или 1 мл продукта, имеет смысл только при исследовании пищевых продуктов, не содержащих специфическую микрофлору, так как на МПА, особенно после 48-часовой инкубации, могут вырастать, например, молочнокислые стрептококки и другие представители специфической микрофлоры. Определение общей обсемененности можно производить на этапах получения продукта, начиная с исходного сырья. Как известно, методы стерилизации и пастеризации часто не приводят к полному обеспложиванию продукта. Остаточная микрофлора представлена главным образом термофильными споровыми микробами. Естественно, что остаточной микрофлоры будет тем меньше, чем меньше загрязнено исходное сырье.

Нарастает микробное число при нарушении технологии приготовления продукта, главным образом при нарушении санитарно-гигиенических правил на предприятиях.

Нередко продукт обсеменяется различными микроорганизмами вторично в процессе транспортировки и хранения. В качестве примера могут служить студни. Технология их приготовления такова (двойная проверка), что почти исключает сохранение микроорганизмов, однако студни, поступающие в лабораторию для исследования, в значительном проценте случаев весьма обсеменены разнообразной микрофлорой. Виной тому чаще всего является неправильное хранение продукта (при температуре 6°C), удлинение сроков реализации (более 12 часов) и другие нарушения общепринятых гигиенических правил.

Важное значение имеет определение загрязненности продукта микробами группы кишечной

палочки.

Следует иметь в виду, что некоторые продукты (например, молоко и молочные продукты) в силу своего происхождения неизбежно бывают загрязнены кишечными палочками, поэтому при суждении о качестве имеет значение не только факт наличия кишечной палочки, но и степень обсемененности ею пищевого продукта, т. е. коли-титр. Коли-титр, как правило, определяется бродильным методом. В качестве среды накопления чаще всего используется среда Кесслера.

Наличие в среде генцианвиолета дает возможность ни-гибировать постороннюю, главным образом Гр+ микрофлору, которая всегда в том или ином количестве находится в пищевых продуктах. Желчь создает благоприятные условия для развития микробов группы кишечной палочки.

Помимо группы кишечной палочки, для некоторых продуктов известное санитарно-показательное значение имеют и другие микроорганизмы. Так, для кремовых изделий, которые нередко являются источниками стафилококковых интоксикаций, определенное значение имеет исследование с целью выделения коагулазоположительных стафилококков. Мясные продукты, например, студни, колбасы, исследуются также на наличие микробов группы протей, способных вызвать порчу продуктов, а иногда и пищевое отравление.

На некоторые продукты имеются общесоюзные стандарты (ГОСТы) в отношении методики их исследования, а также нормирования качества продукта по бактериальным показателям. Унификация санитарно-бактериологических методик необходима для того, чтобы получать однородные результаты.

Пищевые отравления

Пищевые отравления бактериальной этиологии подразделяются на пищевые токсикоинфекции и пищевые токсикозы, а также отравления смешанной этиологии.

К пищевым токсикоинфекциям относятся острые кишечные заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых произошло массивное размножение микроба-возбудителя и накопление токсинов.

К возбудителям пищевых токсикоинфекции относятся представители семейства энтеробактерий — протей, цитробактер, гафния, клебсиелла; семейства стрептококков, семейства бациллярных и семейства псевдомонад.

К пищевым токсикозам относятся бактериальные токсикозы: ботулизм, стафилококковая пищевая интоксикация и микотоксикозы.

Методы лабораторной диагностики пищевых отравлений:

- 1) бактериологический — выделение чистой культуры и ее идентификация до серовара и фаговара;
- 2) серологический — обнаружение антител в сыворотке заболевших;
- 3) биологический — заражение лабораторных животных, в основном при расшифровке токсикозов (стафилококкового, ботулизма).

Исследование проб пищевых продуктов, предположительно послуживших причиной отравления, целесообразно проводить на соответствие ГОСТов, таких как ГОСТ Р 50474—93 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) (приложение № 2); ГОСТ Р 50480—93 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* (приложение № 4) и др.

§ 7. Отбор, направление и подготовка проб для лабораторного исследования

Отбор проб для бактериологического исследования следует производить в стерильные широкогорлые банки, зак- рываемые пергаментной бумагой и обвязанные бечевкой. Остатки консервов направляются на исследование непосредственно в той банке, из которой они использовались в пищу.

Мясо берут для анализа в количестве 500 г, при этом пробу отбирают из различных мест туши с обязательным взятием мезентериальных лимфатических узлов, а также участков трубчатой кости.

Мелкую рыбу отбирают в количестве 2—3 штук, от крупной рыбы — 2—3 куска, в том числе из спинки, ближе к голове и из участков вблизи анального отверстия.

Соленые продукты, находящиеся в бочечной таре, берут сверху, из середины и со дна бочки.

В отдельную посуду набирают 100—200 мл рассола.

Пробы жидких, полужидких объектов (супы, соусы, кремы, молочные продукты) отбирают после тщательного перемешивания в количестве около 200 г.

Пробы испражнений отбирают из последней более жидкой порции, поступающей из верхних отделов кишечника. При наличии в испражнениях гноя, слизи, крови, их необходимо включить в отбираемый материал.

Рвотные массы отбирают в количестве 50—100 мл, промывные воды — 100—200 мл, до применения каких-либо лекарственных средств.

Кровь у заболевших забирают в стерильную сухую пробирку в количестве 8—10 мл.

Пробу мочи на исследование берут в количестве 20—30 мл.

Желчь и содержимое 12-перстной кишки берут на исследование при помощи дуоденального зонда.

Спинальную жидкость отбирают в стерильную пробирку в количестве 5—10 мл.

Отбор проб воды производят в количестве не менее 1,5 литров.

Пробы секционного материала забирают в количестве 50—60 г каждого органа или ткани.

В лабораторию пробы доставляют в опечатанном виде.

В сопроводительном документе к материалам от заболевших (умершего) указывается: Ф.И.О., возраст, адрес, место работы, должность, дата заболевания, дата и время сбора материала, фамилия и должность лица, направившего материал.

Исследование материалов, доставленных в лабораторию в процессе расследования пищевого отравления, производится немедленно по их получении.

Исследование материалов от пострадавших:

кровь засевают в питательную среду (Раппопорт или желчный бульон) в соотношении 1 : 10 (5 мл на 45 мл среды). Термостатируют 10 дней при 37°C, делая высев на среду Эндо через 18—24 часа, на 3, 4, 6, 10-е сутки. При наличии роста работают по общепринятой методике.

Желчь засевают в количестве 5 мл на 45—50 мл мясо-пептонного бульона (1 : 10), помещают на 7 суток в термостат при 37°C и делают высевы через 18—20 часов и 3, 5, 7 суток на среду Эндо. При наличии подозрительного роста работают по общепринятой методике.

Мочу центрифугируют, засевают осадок в 5 мл магниевой среды обычной концентрации или 10 мл мочи на 10 мл среды двойной концентрации. Через 18—20 часов инкубации при 37°C делают высев петлей на висмут-сульфит агар, инкубируют при 37°C 48 часов. При наличии подозрительного роста идентификацию проводят по общепринятой методике.

Промывные воды желудка после нейтрализации (1 мл 10% соды на 10 мл пробы) засевают по 0,1 мл на среду Эндо (Левина), Плоскирева, ЖСА, кровяной агар.

Дальнейшее исследование проводят в зависимости от характера роста по общепринятой методике.

Критерии диагностики

Высокая обсемененность пищевых продуктов, вызвавших отравление, 10⁵ и более КОЕ (колониобразующих единиц) в 1 г, обнаружение идентичных культур в клиническом материале от пострадавших, нарастание титра антител при исследовании в динамике парных сывороток подтверждают диагноз пищевой токсикоинфекции.

Объекты санитарно-бактериологического обследования:

а) готовые блюда, кулинарные изделия, скоропортящиеся пищевые продукты в предприятиях общественного питания и торговли; б) в отдельных случаях сырье и полуфабрикаты (по ходу технологического процесса — по эпидпоказаниям, при высокой бактериальной обсемененности готовых продуктов, блюд и др.).

в) оборудование, инвентарь, посуда и др. с целью эффективности санитарной обработки; г) смывы с рук, санитарной одежды, личных полотенец (с целью проверки соблюдения правил личной гигиены персоналом); д) вода центрального водоснабжения и особенно местных источников водоснабжения (места водозабора и краны).

Техника отбора проб

Для отбора проб продуктов и блюд в лаборатории заготавливаются стерильные банки, закрытые двумя слоями бумаги и обвязанные бечевкой, стерильные ложки, стерильные пинцеты и ножи, завернутые в бумагу.

Пробы продуктов рекомендуется отбирать вдвоем с привлечением в качестве помощника представителя обследуемого учреждения. Помощник в одной руке держит банку, другой — по мере необходимости открывает крышку. В это время лицо, отбирающее пробу, разворачивает требующуюся ему ложку или пинцет, берет материал и переносит в банку. При необходимости отбора пробы от большого куска отрезают часть его с помощью стерильного ножа и пинцета, не менее 200 г. Жидкие блюда отбирают после тщательного перемешивания, плотные — из разных мест в глубине куска.

§ 8. Санитарно-микробиологическое исследование молока и молочных продуктов.

Отбор продуктов (ГОСТ 9225—84)

Объединенную пробу молока объемом 500 см³ составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны. От данной пробы после тщательного перемешивания отбирают 50—60 см³ продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

От продукции, попавшей в выборку, отбирают для анализа 15—20 г (включая и поверхностный слой) творога, творожных изделий, масла в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

При отборе сыра стерильным шпателем или ножом прижимают его поверхность. Стерильный щуп вводят наклонно в середину головки на 3/4 его длины. Из столбика сыра на щупе отбирают стерильным шпателем 15—20 г сыра и помещают в стерильную посуду с притертой или ватной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой.

Пробу, отправляемую в лабораторию, снабжают этикеткой, на которой указывают:

номер пробы; наименование предприятия-изготовителя;

* наименование и сорт продукта;

* номер и объем партии;

* дату и час выработки продукта;

* дату и час отбора проб;

* должность и подпись лица, отобравшего пробу;

* объем необходимых анализов; обозначение нормативно-технической документации, по которой вырабатывался продукт.

Микробиологические анализы продукта проводят не более чем через 4 часа с момента отбора проб.

Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру продуктов не выше 6°С, не допуская подмораживания, а для мороженого — не выше минус 2°С.

Определение общего микробного числа и коли-титра в молоке

Перед посевом готовят десятикратные разведения молока в стерильном растворе хлористого натрия. Для этого стерильной пипеткой отбирают 10 см³ молока и вносят в 90 см³ стерильного раствора хлористого натрия, получают разведение 1 : 10. Далее из него готовят последующие разведения 1 : 100, 1 : 1000 и т. д.

Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 см³ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито 10—15 см³ расплавленной и охлажденной до температуры 40—45° С питательной средой для определения количества мезофильных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

После застывания агара чашки Петри перевертывают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой 30 + 1 °С на 72 часа.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке. При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Таким образом находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 см³

продукта (x) в единицах вычисляют по формуле $x = n \cdot 10^m$, где n — количество колоний, подсчитанных на чашке Петри; m — число десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Допустимое количество микробов в 1 мл молока пастеризованного бутылочного 75 000, во флягах и цистернах 150 000.

Метод определения коли-титра БГКП

Под коли-титром следует понимать наименьшее количество исследуемой пробы, выраженные в мл (вода, молоко, жидкие пищевые продукты) или в г (плотные пищевые продукты), в котором обнаруживается присутствие бактерий группы кишечных палочек.

Метод основан на способности БГКП (беспоровые, грам-отрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, в основном, являющиеся представителями родов эшерихий, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, серация) сбраживать в питательной среде лактозу с образованием кислоты и газа при 37°C в течение 24 часов.

Проведение анализа

В среду Кесслер производят посев из разведений молока от 0,1 до 0,00001. По 1 см³ соответствующих разведений продукта засевают в пробирки с 5 см³ среды Кесслер. Пробирки с посевами помещают в термостат при 37°C на 18—24 часа.

На вторые сутки просматривают пробирки и при отсутствии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов дают заключение об отсутствии в нем БГКП.

При наличии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов считается, что БГКП обнаружены в нем.

Учет результатов

Для установления коли-титра применяют стандартные таблицы.

§ 9. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов

Сырое мясо исследуется по требованию ветеринарной или санитарной службы на наличие различной патогенной микрофлоры: сальмонелл, возбудителей сибирской язвы и т. д. Методика исследования мяса на патогенную микрофлору изложена в ГОСТе 21237—75.

Полуфабрикаты из рубленого мяса исследуются также только на наличие патогенной флоры (ГОСТ 4288—76).

В готовых кулинарных изделиях, колбасах, студнях и других мясных продуктах, подвергнутых термической обработке, кроме того, определяются:

общая бактериальная обсемененность; обсемененность продукта микробами группы кишечной палочки и протей.

Эти показатели отражают как качество обработки продукта, так и санитарные условия его хранения.

Методика исследования кулинарных изделий из рубленого мяса (котлеты, битки и т. д.) изложена в ГОСТе 4288—76.

Для анализа отдельно отбирают по 5 г наружной и внутренней части изделия и из каждой готовой 10% суспензию (разведение 1 : 10), для чего к 5 г, помещенным в стерильную ступку, постепенно приливают 45 мл стерильного физраствора.

Для определения общей обсемененности производят дополнительное разведение 1 : 100 (10% взвесь разводят в 10 раз) и 1 мл этого разведения заливают МПА в стерильных чашках Петри. Посевы инкубируют 48 г при 37°C. Расчет производят как обычно на 1 г исследуемого продукта.

ГОСТ 4288—76 предусматривает лишь определение наличия микробов группы кишечной палочки в 0,5 г изделия.

Порядок анализа: 5 мл 10% взвеси продукта засевают в 5 мл питательной среды и инкубируют посевы 24 часа при температуре 37°C. В случае роста кишечных палочек на среде Хейфеца, происходит ферментация манита, среда приобретает желтый цвет. Для окончательного заключения о наличии бактерий группы кишечной палочки в изделии делают высев с жидких сред на чашки со средой Эндо. При наличии на чашках после 24-часовой инкубации при 37°C подозрительных колоний изготавливают мазки и окрашивают их по Граму.

Наличие в посевах Гр~ неспорных бактерий, образующих характерные для группы кишечных палочек колонии, указывает на загрязненность изделия кишечными палочками, имеющими санитарно-показательное значение.

Методы бактериологического исследования колбасных изделий и продуктов из мяса изложены в ГОСТе 9958—74.

Пробы для баканализа этих продуктов берут следующим образом:

а) колбасные изделия в оболочке и копчености помещают на металлическую тарелку, тщательно протирают по поверхности тампоном, смоченным спиртом и обжигают. Затем батон разрезают продольно (стерильным флам-бирванным) ножом или скальпелем на 2 половинки, не рассекая противоположную сторону батона. Пробу снимают путем соскоба или среза фарша с обеих половинок всей поверхности разрезанного батона; б) из продуктов на костях стерильным инструментом вырезают кусочки, взятые с различных участков обожженного образца на глубине 2—3 см от поверхности, предпочтительно ближе к кости; в) мясные хлеба, студень и другие изделия без оболочки подвергаются исследованию, взяв пробы с поверхности и из глубины продуктов.

Для этого пробу из глубины продукта помещают в тазик, смачивают спиртом и обжигают. Обожженную поверхность соскабливают стерильным ножом или срезают и затем вырезают в нескольких местах 2—3 кусочка. Отобранную пробу взвешивают. 20 г помещают в ступку, и добавляя стерильный физраствор, готовят разведение 1:5. Для более тщательного растирания добавляют небольшое количество стерильного песка или стерильного битого стекла.

Определение общей обсемененности по ГОСТу следует производить путем посева 0,5 мл в разведении 1 : 5 и 1 : 50 в расплавленный и остуженный, как обычно, агар и чашки с посевами в термостат на 48 часов при 37°C.

Подсчитанное число колоний умножают на степень разведения продукта (на 10 или 100), т. е. определяют количество микробов в 1 г продукта.

В колбасах предусмотрено определение бактерий группы кишечной палочки в 1 г продукта, для чего 5 мл анализируемой взвеси (разведение 1 : 5) вносят в пробирки, содержащие по 10 мл среды Кесслера или Хейфеца двойной концентрации — 43°C — 20 часов. Дальнейшее ведение исследования аналогично исследованию кулинарных продуктов из рубленого мяса. По ГОСТу, если в 1,0 г продукта не обнаружены кишечные палочки, его бактериологическое состояние удовлетворительное.

§ 10. Исследование консервов

Бактериологическое исследование готовых консервов проводится по ГОСТ 30425—97. Консервы. Метод определения промышленной стерильности, ГОСТ 10444.15—94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Анализ готовой продукции проводится лабораториями центров Госсанэпиднадзора, как правило, с целью установления промышленной стерильности консервов.

По эпидемиологическим показаниям консервы исследуют для выявления патогенной и токсигенной микрофлоры.

Кроме того, консервы исследуют для выяснения причин возникновения порчи (выявление возбудителей порчи).

Консервированные продукты, удовлетворяющие требованиям промышленной стерильности, не должны представлять опасность для здоровья потребителя и не должны портиться во время хранения.

Готовые консервы не должны содержать патогенных микробов и иметь признаков порчи, обусловленных жизнедеятельностью микробов.

Отбор проб для исследования (ГОСТ 26668—85)

Проводят внешний осмотр банок. Отмечают наличие ржавчины, деформации, подтеков. В журнале записывают маркировку жестяных банок, со стеклянных банок отклеивают этикетку. Тщательно моют банки теплой водой с мылом, насухо обтирают.

Проверяют герметичность банок. Для этого в эксикатор наливают свежеприготовленную в течение 15 с и охлажденную до 40—45°C воду, опускают на дно эксикатора банки и наблюдают за пузырьками воздуха. Негерметичной считается банка, у которой из одного и

того же места выходит струйка воздуха или периодически несколько пузырьков.

Негерметичные банки бактериологическому исследованию не подлежат. Герметически упакованные, бездефектные по внешнему виду консервы подвергаются термостатной выдержке до 10 дней при 30—55°C в зависимости от консервов для проверки на бомбаж. О наличии бомбажа судят по вздутию дна или крышки банки.

Вскрытие банки и посев консервов производят при строгом соблюдении правил асептики (в боксах).

Исследование консервов на аэробы и анаэробы

Проведение анализа

В подозрительных консервах при наличии кольца на границе продукта с тарой или осадка на дне банки навески отбирают без предварительного перемешивания продукта для того, чтобы в навеску попала часть осадка или кольца.

Масса или объем навески продукта должны составлять для высева в две пробирки с жидкой питательной средой — 2 г или 2 см³ при выявлении аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов.

После отбора навесок продукта консервы сохраняют до окончания анализа и оформления результатов при температуре 4 + 2°C в условиях, исключающих их повторное заражение микроорганизмами. Если в посевах будут выявлены жизнеспособные микроорганизмы, то при необходимости отбирают дополнительные навески продукта для высева в питательные среды с целью количественного подсчета обнаруженных микроорганизмов.

Для выявления жизнеспособных мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (ГОСТ 10444.3—85) в каждую из двух пробирок, содержащих по 5—6 см³ жидкой питательной среды (мясо — пептонный бульон), вносят по 1 г или 1 см³ консервированного продукта. Сразу после посева на поверхность жидкой питательной среды наслаивают вазелиновое масло или парафиновую смесь слоем около 2 см.

Посевы термостатируют при температуре 30 ± 1°C не менее 5 суток с ежедневным наблюдением за появлением признаков развития микроорганизмов: помутнение среды, образование пленки, газа, осадка.

По мере необходимости из посевов отбирают культуральную жидкость для проведения исследований.

Принадлежность к термофильным аэробным и факультативно-анаэробным микроорганизмам устанавливают по изменению цвета среды, если она содержит индикатор-бромкрезоловый пурпурный, морфологии клеток, наличию спор, отношению к окраске по Граму, каталазной активности.

Схема проведения анализа консервов на промышленную стерильность (ГОСТ 30425—97)

Осмотр, регистрация, санитарная обработка

Проверка герметичности

* Термостатирование консервов

Определение внешнего вида консервов после термостатирования

Высев продукта в питательные среды,

Термостатирование посевов

Определение рН продукта

Микроскопирование продукта

Фиксирование признаков роста микроорганизмов

Проба на каталазу \

Микроскопирование посевов, определение спорообразующей способности микроорганизмов

Определение группы, семейства, рода или вида микроорганизмов, отсутствие микроорганизмов, опасных для здоровья потребителя.

Оценка промышленной стерильности консервов

§ 11. Санитарно-бактериологический контроль методом исследования смывов

Отбор проб и доставка в лабораторию

В практике текущего санитарного надзора за объектами общественного питания, торговой сети, пищеблоками детских дошкольных и подростковых учреждений, а также буфетами — раздаточными лечебно-профилактических учреждений широко используется метод смывов с

целью контроля эффективности санитарной обработки инвентаря, оборудования, посуды, санитарной одежды и рук персонала. Метод смывов дает возможность объективно оценить санитарное содержание обследуемых учреждений.

При проведении санитарно-бактериологических исследований смывов в основном ограничиваются выявлением бактерий группы кишечной палочки, обнаружение их расценивается как одно из подтверждений нарушения санитарного режима.

При выявлении вторичного массивного обсеменения готового продукта со значительным превышением в нем общего количества микробов, в смывах также необходимо определять общую бактериальную обсемененность и наличие бактерий рода *Proteus* и *St. aureus*.

При взятии смывов с оборудования, инвентаря, посуды, столовых приборов записывается: номер образца по порядку, место взятия смыва, в каком техническом и санитарном состоянии находилось оборудование (инвентарь, посуда и т. д.), с которого взят смыв, время забора.

При взятии смывов с рук записывается: номер по порядку, фамилия, имя и отчество сотрудника, выполняемая работа, время забора.

Доставка проб должна производиться в термоконтейнерах.

Время доставки проб продуктов и смывов в лаборатории для осуществления исследования не должно превышать двух часов, так как затягивание этого срока отражается на достоверности результатов анализа.

Техника взятия смывов

Взятие смывов производится с помощью стерильных увлажненных ватных тампонов. Стерильные ватные тампоны на стеклянных, металлических или деревянных палочках, вмонтированных в пробирки с ватными пробками, заготавливают заранее в лаборатории. В день взятия смывов в каждую пробирку с тампоном наливают (в условиях бокса над горелкой) по 5 мл стерильного 0,1% водного раствора пептона таким образом, чтобы ватный тампон не касался жидкости.

Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют средой.

Смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с поверхности 100 см², для ограничения поверхностей используют шаблон (трафарет), сделанный из проволоки. Трафарет имеет площадь 25 см², чтобы взять смывы с площади в 100 см² его накладывают 4 раза в разных местах поверхности контролируемого объекта.

При взятии смывов с мелких инструментов обтирается вся поверхность предмета, при заборе смывов с тарелок протирают всю внутреннюю поверхность. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают три одноименных объекта— три тарелки, три ложки и т. п. У столовых приборов протирают их рабочую часть.

При исследовании стаканов протирают внутреннюю поверхность и верхний наружный край стакана на 2 см вниз.

При взятии смывов с рук протирают тампоном ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, затем протирают межпальцевые пространства.

При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 см² — нижнюю часть каждого рукава и 2 площадки с верхней и средней частей передних пол спецовки. С различных мест полотенца берут 4 площадки по 25 см².

Методика исследования смывов. Объем исследования

На предприятиях общественного питания исследование смывов проводят на присутствие бактерий группы кишечных палочек.

Исследование на наличие золотистого стафилококка и протей, определение общей бактериальной обсемененности производится по показаниям.

Например:

а) исследование смывов на стафилококки проводят при обследовании кремово-кондитерских цехов, столовых и ресторанов, молочных кухонь и других пищеблоков, обращая особое внимание на контроль рук персонала; б) общую микробную обсемененность можно определить для установления эффективной обработки посуды, а также при оценке моющих и дезинфицирующих средств.

Методика посева смывов на бактерии группы кишечных палочек

При плановых санитарно-гигиенических обследованиях для выявления БГКП производят посевы смывов на среды Кесслера с лактозой или Кода, при этом в пробирку со средой опускают тампон и переносят оставшуюся смывную жидкость.

Посевы на средах Кесслера или Кода инкубируют при 37°C, через 18—24 часа со среды Кесслера производят высев на плотную дифференциальную среду Эндо, со среды Кода высев производят в случае изменения окраски среды или ее помутнения.

Посевы помещают в термостат при температуре 37 °С на 24 часа, после чего просматривают. Из колоний, подозрительных или типичных для БГКП, готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Обнаружение грамотри-цательных палочек указывает на наличие БГКП.

Методика посева на общую бактериальную обсемененность

Перед посевом смывов в пробирку с тампоном добавляют 5 мл 0,1% пептонной воды или изотонического раствора хлорида натрия. Тампон тщательно отмывают, после чего 1,0 мл смывной жидкости помещают в чашку Петри и заливают расплавленным МПА. Чашки помещают в термостат при 30°C. Предварительный подсчет выросших колоний производят через 48 часов, окончательный — через 72 часа. Количество колоний, выросших на чашке, умножают на 10 для определения общего количества бактерий, содержащихся на поверхности исследуемого предмета.

Методика посева на золотистый стафилококк

Для выявления золотистого стафилококка посев смывов производят на чашки с желточно-солевым агаром, непосредственно втирая посевной материал тампоном, затем последний погружают в пробирку с 6,5% солевым бульоном.

Оценка результатов

Обнаружение санитарно-показательных и условно-патогенных бактерий в смывах с поверхностей чистых, подготовленных к работе предметов, инвентаря и оборудования, а также рук персонала свидетельствует о нарушении санитарного режима и дает основание для проведения административных мер.

§ 12. Госпитальные инфекции

Определение понятия. Госпитальными инфекциями являются эндогенные и экзогенные инфекции, приобретенные больными в медучреждениях под влиянием следующих факторов: снижение сопротивляемости организма, обусловленное болезнью или лечением, скопление и циркуляция возбудителей заболевания, селекция антибиотико-устойчивых или высоковирулентных возбудителей болезней, а также повышенные возможности контактов и заражения.

Эпидемиология госпитальных инфекций. Первостепенное значение для возникновения и распространения госпитальных инфекций имеют: инфицирующая доза, устойчивость возбудителя, восприимчивость организма хозяина, пути передачи возбудителя и физические факторы окружающей среды (температура, относительная влажность воздуха, запыленность и т. д.).

Резервуарами госпитальных инфекций являются:

Кожа. У 10—20% (иногда до 40%) персонала и больных, находящихся в больнице, на коже обнаруживаются стафилококки. У 30% родильниц уже на пятый день после родов кожные покровы заселены стафилококками, а соски груди — почти у 60%. Кишечная палочка была выявлена у 13—21% больных и у 6—9% персонала, энтерококки — соответственно у 27 и 22%.

Волосы. Путем фаготипирования удалось установить, что при возникновении послеоперационных раневых инфекций волосы чаще бывают резервуаром стафилококков, чем носоглотка и кожа. В различных учреждениях число бациллоносителей находится в пределах 17—40% среди больных и 14—27% — среди персонала.

Полость носа. На 5-й день после родов доля носителей золотистого стафилококка среди матерей достигает 40%, среди новорожденных — 80% и затем увеличивается до 99%. Во время бактериологического обследования сестер-практиканток было установлено, что 5% из них были постоянными, 50% периодическими и 31% спорадическими бактерионосителями золотистого стафилококка.

Полость рта. Среди больных число носителей стафилококков в глотке может достигать 65%,

у новорожденных на 5-й день после рождения заселение стафилококками ротовой полости достигает 60%.

Глаза и пупок у новорожденных особенно чувствительны к инфекциям. На второй-третий день жизни глаза у них заселены золотистым стафилококком почти в 70% случаев.

Влагалище. В 9—16% случаев заселено золотистым стафилококком.

Кишечник. В фекалиях больных, находящихся в медицинских учреждениях, прежде всего обнаруживают: энтеро-вирусы, сальмонеллы, энтеропатогенную кишечную палочку, шигеллы, синегнойную палочку, золотистый стафилококк, грибы рода кандиды. Среди детей до 5 лет, а также среди медицинских сестер, ухаживающих за грудными детьми, частота носительства сальмонелл— 0,2%, шигелл— 0,4%, энтеропатогенной кишечной палочки — 0,15—0,2%. Синегнойная палочка выделяется у здоровых людей в 1—3% случаев, у госпитализированных больных — в 18%, золотистый стафилококк — у здоровых в 20—30% случаев.

Таким образом, в зависимости от вида микробов, основного заболевания и врачебного вмешательства большое значение в распространении госпитальных инфекций имеет микрофлора секретов носа и глотки, кожи, кишечника и мочеполового тракта.

Типичные места обитания микроорганизмов, часто встречающихся в медицинских учреждениях

Местообитания

Микроорганизмы

Мочевые катетеры

Кишечная палочка, фекальный стрептококк, протей, энтеробактеры, клеб-сиелла, синегнойная палочка, золотистый стафилококк, кандиды

Инструменты для внутривенного введения

Грамотрицательные бактерии, энтеро-бактерии, флавобактерии, синегнойная палочка, золотистый стафилококк, вирус гепатита В

Аппараты для искусственного дыхания

Грамотрицательные бактерии, псевдомонады, золотистый стафилококк, стрептококк

Системы, в которых используется вода (увлажнители, вентиляторы, ионизаторы, дистилляторы, ингаляторы), приборы для гемодиализа и гидротерапии

Грамотрицательные бактерии и их токсины, ацинетобактеры, серрация, аэромонады, клебсиелла, вирус гепатита В

Антисептики

Грамотрицательные бактерии, псевдомонады, флавобактерии, ацинетобактеры, клебсиелла, серрация

§ 13. Основные мероприятия в профилактике внутрибольничных инфекций

Эффективная профилактика внутрибольничных инфекций должна учитывать решение многокомпонентной задачи, которая включает следующее:

- 1) планирование и расположение основных функциональных блоков в лечебно-профилактических учреждениях;
- 2) исключение аэрогенной инфекции;
- 3) соблюдение правил личной гигиены;
- 4) дезинфекция и стерилизация;
- 5) организация уборки отделений;
- 6) тактика ограничения антибиотиков;
- 7) бактериологический контроль комплекса санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях.

Планирование и расположение основных функциональных блоков

Профилактика внутрибольничных инфекций в стационарах хирургического профиля и акушерских стационарах начинается с планирования и расположения основных функциональных блоков (зон) отделения. Основные условия профилактики госпитальных инфекций: разделение палат и операционного блока, родильного отделения с родильным залом, палатами для новорожденных и грудных младенцев. Между ними должен быть шлюз-тамбур, через который в операционную (родильный зал) не должны попадать персонал

отделения и постели больных.

Необходимы 3 тамбура: для больных (рожениц), для персонала и для доставки и выноса аппаратуры. Тамбуры для персонала должны быть большими. В нечистой зоне размещаются туалеты и душевые. При переходе в чистое внутреннее помещение должно находиться устройство для дезинфекции рук.

Центральное место в антимикробном режиме любого отделения занимает разделение асептической (чистой) и септической (гнойной, нечистой) зон, которые должны располагаться в разных помещениях. Если это требование выполнить невозможно, операции по поводу гнойных процессов производят в специально выделенные дни с последующей тщательной дезинфекцией операционного блока и всего оборудования.

В септических операционных соблюдаются такие же условия, как и в асептических (чистых). Необходимо предупредить перенос бактерий в отделение и асептическую операционную.

Использованная в операционной (родзале) одежда снимается на выходе из операционной (родзала) в чистое внутреннее помещение в шлюзе для персонала и складывается в мешок. Одежда и белье, используемые в отделении, должны сниматься в шлюзе при входе в операционную (родильный зал).

Персонал, участвующий в операции, заходит в операционную через умывальную; больной, анестезиолог и его помощники попадают в операционную через специальную проходную.

В больших операционных необходимо оборудовать место для аппаратов. Подавать стерильные материалы лучше по собственному коридору.

Комнату для пробуждения оперированного после наркоза необходимо расположить вне операционного блока, но недалеко от него.

Операционный блок оборудуют вентиляционными установками с преобладанием притока воздуха над вытяжкой. В приточную вентиляционную систему устанавливают бактериальные фильтры.

Исключение аэрогенной инфекции

С целью исключения аэрогенной инфекции (передающейся через воздух), для снижения микробной обсемененности помещений, их необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению. Поэтому все помещения оперблока (в том числе и тамбур) должны быть оснащены источниками бактерицидного ультрафиолетового облучения (потолочные или настенные облучатели: ОБН-200 или ОБН-350 — один облучатель на 30 м³ помещения; ОБН-150 на 30 м³ или ОБН-300 на 60 м³ помещения на 2 часа). Во время облучения помещений необходима защита кожи и глаз больных и сотрудников от действия ультрафиолетовых лучей.

Соблюдение правил личной гигиены. Условия работы в операционном блоке, в родильном отделении

Весь работающий персонал после полного медицинского осмотра в соответствии с приказом МЗ СССР № 555 от 29 сентября 1989 г. «О совершенствовании системы медицинских осмотров трудящихся и водителей индивидуальных транспортных средств» и бактериологического обследования на носительство патогенного стафилококка при поступлении на работу должен быть взят на диспансерное наблюдение для своевременного выявления и изменения кариозных зубов, хронических воспалительных процессов в носоглотке, своевременного выявления носителей патогенного стафилококка и их санации. Лица с открытыми воспалительными процессами или признаками недомогания к работе в операционном блоке, родильном отделении не допускаются.

Роль защитной одежды в операционных и родзалах

Первое средство ограничения рассеивания микробов с поверхности тела и волос в окружающей среде — защитная одежда в операционной, родильном отделении.

Все лица, участвующие в операции, надевают операционное белье: полотняную блузу и брюки, тапочки, халат, шапочку, закрывающую волосы. Перед входом в оперблок халат снимают, надевают маску, бахилы и приходят в предоперационную, где обрабатывают руки, надевают стерильный халат, перчатки, маску.

Полотняную блузу и брюки и сверху стерильный халат носят только в операционной и каждый день их меняют, а также маску и шапочку.

В родильном зале врачи и акушерки носят специальные для этого отделения халаты, которые ежедневно меняются, шапочку, закрывающую волосы, стерильные перчатки, 4-слойную маску.

Все другие лица перед входом в операционную надевают 4-слойную марлевую маску, убирают волосы под шапочку, надевают бахилы, которые на выходе снимают и сбрасывают в бак или ведро с крышкой.

Больного перед операцией доставляют в оперблок на каталке отделения. Перед операционным блоком, желательнее в тамбуре, больного перекалывают на каталку операционного блока, на которой его подвозят к операционному столу. Ежедневно каталку обрабатывают 1 % раствором хлорамина или другого дезсредства.

Стол для стерильного инструментария покрывают стерильной простыней непосредственно перед операцией, раскладывают на ней стерильный инструментарий и закрывают сверху стерильной простыней.

Перевязочный материал и инструментарий, использованный в ходе операции, белье, использованное в процессе приема родов, собирают в специально выделенные емкости.

Гигиена рук. Профилактика микробной обсемененности рук, кожи и ран

Цель дезинфекции рук персонала, участвующего в операции, приеме родов, — уничтожение бактерий на поверхности кожи и торможение их роста на несколько часов.

Руки моют водой с мылом в течение 1 минуты, ополаскивают водой для удаления мыла и вытирают насухо стерильной салфеткой. Затем руки в течение 1 минуты обрабатывают рецептурой С-4 (смесь перекиси водорода и муравьиной кислоты) в эмалированном тазу, вытирают стерильной салфеткой и надевают стерильные перчатки.

Накануне операции, если позволяет состояние больного, желательнее его выкупать, включая голову, под душем теплой водой с мылом. Операционное поле лучше выбрить непосредственно перед операцией в предоперационной. После каждого использования бритву следует дезинфицировать. Кожу операционного поля без предварительного мытья обрабатывают двукратным смазыванием йодоната или йодо-пирина 1 % по свободному йоду. Кожу операционного поля необходимо изолировать специальной пленкой.

Дезинфекция и стерилизация

Хирургические инструменты, соприкасающиеся с кровью, гноем и другими биологическими жидкостями больного, должны быть обработаны по специальной схеме, которая включает 3 этапа (ОСТ 42-21-2-85):

I этап — дезинфекция;

II этап — предстерилизационная очистка;

III этап — стерилизация.

Инструменты, шприцы, соприкасающиеся с кровью или гноем, сразу дезинфицируют.

Существуют термический и химический методы дезинфекции.

Термический — кипячение в дистиллированной воде 30 минут и 2% растворе пищевой соды 15 минут.

Химический — погружение полностью в хлорамин.

Для капельных, вирусных и гнойных инфекций — 1 % — 30 минут.

При туберкулезе — 5% — 4 часа.

При вирусных гепатитах и СПИДе — 3% — 1 час.

Перекись водорода при гнойной инфекции — 3 % — 8 минут, при туберкулезе — 3% — 3 часа, при гепатите 4% — 1,5 часа.

Дезинфицирующий раствор применяется однократно. После погружения в дезраствор медицинский инструментарий промывают проточной водой до полного исчезновения запаха дезсредства.

Предстерилизационная очистка — удаление белковых, жировых и лекарственных загрязнений, остатков крови.

а) погружение в раствор, 1 л которого содержит 170 мл 3 % перекиси водорода, 5 г моющего средства; t — 50°C, экспозиция — 15 минут; б) механическая мойка (ерш, ватный тампон — 30 с); в) промывание проточной водой — 10 минут; г) промывание дистиллированной водой — 3 раза; д) сушка.

Контроль качества предстерилизационной очистки медицинского инструментария проводят путем постановки:

а) фенолфталеиновой пробы (на качество отмывки от синтетических средств «Лотос», «Астра», «Айна»); б) амидопириновой пробы.

Фенолфталеиновая проба: на ватный тампон наносят несколько капель спиртового раствора фенолфталеина и этим тампоном протирают испытуемый инструментарий. Появление розового окрашивания указывает на некачественную отмывку от моющих средств.

Амидопириновая проба: смешать равные количества 5 % спиртового раствора амидопирина и 5% перекиси водорода, добавить несколько капель 30% уксусной кислоты. На контролируемое изделие нанести 2—3 капли реактива. При наличии кровяных загрязнений появляется сине-зеленое окрашивание. Изделия, дающие положительную пробу на кровь или на моющее средство, обрабатывают повторно до получения отрицательного результата.

Дальнейшая стерилизация хирургического инструментария, белья, перевязочного материала и т. д. осуществляется следующим способом:

* паровым — 132°C — 20 минут 2 атм. для металла, 120°C — 45 минут 1 атм. для резины;

* воздушным — 180°C — 1 час; 160°C — 2,5 часа; химическим — перекись водорода 6% — 18°C — 6 часов, 6% - 50°C - 3 часа.

§ 14. Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды в лечебно-профилактических учреждениях

Объектами исследования при проведении бактериологического контроля лечебно-профилактических учреждений являются:

воздушная среда;

* различные объекты внешней среды;

* хирургический инструментарий;

* шовный материал;

* руки хирургов и кожа операционного поля. Бактериологическое исследование микробной обсемененности предметов внешней среды предусматривает выявление стафилококка, синегнойной палочки, бактерий группы кишечных палочек и патогенных грибов.

Отбор проб

Взятие смывов производят стерильным ватным тампоном на палочках, вмонтированных в пробирки, или марлевыми салфетками размером 5x5 см. Для увлажнения тампонов в пробирки с тампонами наливают по 2,0 мл стерильного физиологического раствора.

Для выделения стафилококков посев делают непосредственно на чашку Петри с желточно-солевым агаром, для выделения бактерий группы кишечных палочек — посев на среду Эндо (дальнейшие исследования по соответствующим схемам).

Для обнаружения патогенных грибов производят посев на среду Сабуро, наблюдают 5 суток при 21°C. Кроме того, производят посевы в среды накопления — для стафилококков в 6,5% хлористого натрия, для бактерий группы кишечных палочек — в 10—20% желчный бульон. Через сутки инкубирования при 37°C делают пересев на среду Эндо и жел-точно-солевой агар. При обнаружении подозрительных колоний производят их микроскопию и далее исследуют по соответствующим схемам.

Для выявления синегнойной палочки специальные посеvy можно не производить, так как она дает ползущий рост с характерным запахом земляничного мыла на среде Эндо.

Правила отбора проб для контроля стерильности в лечебно-профилактических учреждениях
Забор проб производят в стерильные емкости с соблюдением строжайших правил асептики.

Посев в обязательном порядке производят в три питательные среды:

* сахарный бульон Хоттингера (0,5 и 1% глюкоза);

* тиогликолевую среду;

* бульон Сабуро.

При посеве изделия или его части непосредственно в питательную среду следует соблюдать следующее условие — среды должно быть достаточно для полного погружения изделия.

Перед посевом емкость с отобранными образцами протирают стерильной марлевой салфеткой, обильно смоченной 6% раствором перекиси водорода, и оставляют на 30 минут. Затем вносят в бокс. За 1,5—2 часа до начала работы в боксе и предбокснике на 1—1,5 часа

включают бактерицидные лампы.

Перед входом в бокс работники лаборатории тщательно моют руки теплой водой с мылом и щеткой, вытирают стерильным полотенцем, надевают в предбоксы на ноги бахилы, стерильные халаты, 4-слойные маски, шапочки, стерильные перчатки.

Посевы в бульон Хоттингера и тиогликолевую среду выдерживают в термостате при температуре 37°C, среду Сабуро — при температуре 20—22°C.

Посевы инкубируют в термостате в течение 14 суток.

Материал стерильен при отсутствии роста во всех посевах. Материал не стерильен при росте микрофлоры.

Бактериологический контроль эффективности обработки кожи операционного поля и рук хирургов

Смывы с кожи операционного поля и рук хирургов производят стерильными марлевыми салфетками размером 5x5 см², смоченными в физиологическом растворе. Марлевой салфеткой тщательно протирают ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. После забора проб марлеву салфетку помещают в широкогорлые пробирки или колбы с раствором нейтрализатора (воды или физиологического раствора) и стеклянными бусами, встряхивают в течение 10 минут, производят отмыв марлевой салфетки. От-мывную жидкость засевают глубинным способом по 0,5 мл на 2 чашки Петри с мясопептонным агаром, а марлеву салфетку— 0,5% сахарный бульон. Посевы инкубируют при 37°C в течение 48 часов.

Кожа и руки стерильны при отсутствии роста микроорганизмов как на твердой, так и на жидкой питательной среде.

13. Зак 361

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Произвести отбор пищевых продуктов (по заданию преподавателя).
2. Подготовить пробу к бактериологическому исследованию.
3. Произвести отбор проб пищевых продуктов для бактериологического исследования.
4. Приготовить ватные тампоны для взятия смывов.
5. Взять смывы с рук до обработки и после мытья. Произвести посев на среду Эндо, глубинным методом на МПА.
6. Произвести посевы пищевых продуктов на питательные среды.

Определение коли-индекса воды титрационным методом

10 мл среды (ГПС) 10 мл среды (ГПС)

"*" 100 мл исследуемой "*" 10 мл исслед. , 1 мг (1 : 10) (ГПС) воды воды 1 мл исслед. воды

Словарь терминов

АБСЦЕСС — скопление гноя, которое возникает при очаговой инфекции.

АВТОКЛАВ — аппарат для стерилизации паром под давлением.

АВТОКЛАВИРОВАНИЕ — метод стерилизации при 140°C при 1,5 атм.

АГАР — вещество полисахаридной природы, получаемое из морских водорослей; добавляют в питательные среды для их уплотнения.

АГГЛЮТИНАЦИЯ — реакция иммунитета, при которой бактерии, клетки или другие частицы слипаются и выпадают в осадок.

АКТИНОМИКОЗ — инфекционное заболевание человека и крупного рогатого скота, вызываемое *Actinomyces bovis* (у животных) и *A. Israeli* у человека.

АЛГИД ХОЛЕРНЫЙ - гл. 8

АНАТОКСИН — токсин микроорганизмов, утративший токсичность в результате какого-либо воздействия, но сохранивший свою антигенность.

АНТИГЕН (АГ) — чужеродное вещество, попадающее в организм; вызывает развитие специфических иммунологических реакций, выработку антител.

АНТИСЕПТИК — химическое вещество, которое служит для обработки биологических поверхностей.

АНТИТЕЛО (АТ) — вещество, которое относится к иммуноглобулинам и специфически взаимодействует с антигеном.

АНТИТОКСИН — антитела, которые образуются в ответ на антигенные токсические

вещества биологического происхождения.

АСКАРИДА — гельминт сем. Ascarididae.

АСКАРИДОЗ — заболевание, вызванное паразитированием в организме аскарид.

АТОПИЯ — аллергическая реакция на фоне семейной предрасположенности; вызывается разными аллергенами.

АУТОТРОФ — микроорганизм, который использует в качестве источника углерода неорганические соединения.

АЭРОБ — микроорганизм, который живет и размножается в присутствии свободного кислорода.

БАКТЕРИЕМИЯ — циркуляция живых бактерий в кровотоке, несопровождающаяся их размножением.

БАКТЕРИОФАГ — вирус, поражающий бактерии. БАКТЕРИУРИЯ — обнаружение бактерий в моче. БАЦИЛЛОНОСИТЕЛЬСТВО — бессимптомные инфекции.

БЕШЕНСТВО — вирусная инфекция, передающаяся через укусы животных и приводящая к летальному исходу.

БЛЕННОРЕЯ — воспаление конъюнктивы глаза у новорожденных, вызываемое различными микроорганизмами.

БОЛЕЗНЬ — прекращение, остановка или нарушение функций тела, систем или органов.

БОТУЛИЗМ — острая инфекция, вызванная палочкой *Clostridium botulinum* и ее токсином, содержащимся в анаэробных условиях.

БРУЦЕЛЛЕЗ — заболевание, передающееся человеку от больного животного при прямом контакте или через плохо проваренное мясо. Болезнь характеризуется повышенным потоотделением, лихорадкой. Вызывается микроорганизмами рода *Brucella*.

БРЮШНОЙ ТИФ — кишечная инфекция; вызывается возбудителем *Salmonella typhi*. Характерны лихорадка, высыпание розовых пятен на груди и животе, диарея.

ВАКЦИНА — препарат, созданный на основе живых или убитых микроорганизмов; используется для предупреждения инфекционных заболеваний.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ — степень болезнетворности микроорганизмов.

ВИРУС — мельчайшие организмы, не способные жить и размножаться вне живых клеток. Вызывает заболевания у растений, животных и человека.

ГАЛОФИЛЫ — микроорганизмы, которые растут при повышенной концентрации соли в питательной среде.

ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЯ — агглютинация эритроцитов.

ГЕПАТИТ — воспаление печени; обычно возникает в результате вирусной инфекции.

ГЕРПЕС — вирусная инфекция, обычно проявляющаяся поражением красной каймы губ или поражением гениталий у мужчин и женщин.

ГОНОРЕЯ — гнойное воспаление мочеполовых путей, передающееся половым путем. Возбудитель — *Neisseria gonorrhoeae*.

ГРИБЫ — растительные организмы, не имеющие корней, стволов и листьев, лишенных хлорофилла и других пигментов.

ДЕЗИНФЕКТАНТ — химическое вещество, уничтожающее или приостанавливающее активность болезнетворных микроорганизмов. Используется для обработки помещений, инструментов и т. д.

ДЕЗИНФЕКЦИЯ — уничтожение патогенных микроорганизмов в окружающей среде.

ДЕТЕРГЕНТ — поверхностно-активное вещество; чистящий или моющий агент.

ДИАРЕЯ — частое опорожнение кишечника, при котором фекалии имеют жидкую консистенцию; как правило, наблюдается при кишечных инфекциях.

ДИСБАКТЕРИОЗ — количественное или качественное нарушение микрофлоры кишечника.

ДИФТЕРИЯ — инфекционное заболевание, возбудитель *Corynebacterium diphtheriae*.

ЗООНОЗ — инфекция, передающаяся человеку от больных животных.

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ — белки, связанные с глобулиновой фракцией сыворотки крови. Их разделяют на несколько фракций: IgA, IgD, IgL, IgM, IgE.

ИММУНОДЕФИЦИТ — состояние, развивающееся при нарушении защитных механизмов организма.

ИНВАЗИВНОСТЬ — свойство патогенных бактерий проникать в органы и ткани хозяина.

ИНВАЗИЯ — заражение паразитами (обычно гельминтами).

ИНДЕКС ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ — отношение максимально переносимой дозы к минимальной лечебной дозе. Показатель терапевтического индекса должен быть не менее 3.

ИНДЕКС САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ — содержание искомого микроорганизма в 100 мл (если исследуется вода), в 1 мл и 1 г (если исследуются другие жидкие или плотные субстраты).

ИНТЕРФЕРОН — гликопротеин, вырабатываемый различными клетками организма; обладает широким противовирусным спектром действия.

ИНФЕКЦИЯ — совокупность явлений, происходящих в макроорганизме при попадании в него патогенных микроорганизмов.

КАМПИЛОБАКТЕРИОЗ — инфекция, вызванная бактериями рода *Campylobacter*.

КАПСИД — белковая оболочка вируса.

КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫЕ БАКТЕРИИ - не обесцвечиваются при обработке кислотным спиртовым раствором после окрашивания.

КОДОН — последовательность из трех нуклеотидов в цепи РНК или ДНК, кодирующая определенную аминокислоту.

КОКЛЮШ — инфекция, передающаяся воздушно-капельным путем, вызванная возбудителем рода *Bordetella*; характеризуется приступами спастического кашля.

КОЛИ-ФАГ — бактериофаг, поражающий штаммы *E. coli*.

КОММЕНСАЛИЗМ — вид симбиотических отношений между макроорганизмами и микроорганизмами. К бактериям-комменсалам могут относиться условно-патогенные микроорганизмы.

КОМПЛЕМЕНТ — сывороточный белок; обладает способностью лизировать бактерии. Его действие особенно активно проявляется в сочетании с антителами.

КОНЪЮГАЦИЯ — соединение женской и мужской гамет многоклеточных организмов.

КОРЬ — вирусная инфекция; характеризуется красной сыпью, воспалением слизистой оболочки дыхательных путей.

КРАСНУХА — вирусная инфекция, которая характеризуется увеличением лимфатических узлов, точечными красными пятнами по всей поверхности тела при невысокой температуре.

ЛЕЙКОЦИДИН — токсин, вырабатываемый многими штаммами стафилококков и стрептококков; оказывает цитотоксическое действие на лейкоциты.

ЛЕПРА (ПРОКАЗА) — кожное заболевание; вызывается возбудителями сем. *Mycobacterium*.

ЛЕПРОМИН — используется для постановки кожной пробы с целью диагностики лепры.

ЛИЗОГЕНИЯ — способность различных штаммов бактерий, содержащих бактериофаги, лизировать другие штаммы бактерий.

ЛИЗОЦИМ — фермент, который разрушает клеточные стенки некоторых бактерий.

ЛИХОРАДКА — состояние, при котором температура тела выше 37°C.

ЛИЧИНКА — промежуточная стадия развития паразита. Например, бычий цепень в личиночной стадии паразитирует в мышцах крупного рогатого скота, а половозрелая взрослая особь — в кишечник человека.

МАЛЯРИЯ — инфекция, вызванная простейшими рода *Plasmodium*. Переносчиками являются комары рода *Anopheles*. Болезнь характеризуется подъемами и резкими спадами температуры. Такие приступы повторяются через 1—2 суток.

МЕНИНГИТ — воспаление спинного или головного мозга.

МЕНИНГОКОККЦЕМИЯ — генерализованная форма менингококковой инфекции, проявляющаяся бактериемией.

МИКОБАКТЕРИИ — аэробные, грам+, кислото-спирто-устойчивые палочковидные бактерии. Являются возбудителями туберкулеза, лепры.

МИКРОАЭРОФИЛ — аэробный микроб, который нуждается в меньшей концентрации кислорода, чем его содержание в воздухе.

МИКРОБНОЕ ЧИСЛО — количественный показатель бактериальной загрязненности окружающей среды; представляет собой количество выросших на МПА колоний, приходящихся на 1 мл жидкости, 1 г твердого вещества или 1 см² поверхности исследуемого

объекта.

МИКРОСКОПИЯ — один из методов исследования и идентификации микроорганизмов, который осуществляется с помощью микроскопов, при обязательном окрашивании бактерий.

МИНИМАЛЬНАЯ БАКТЕРИЦИДНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ (МБК) — наименьшая концентрация препарата, проявляющая бактерицидный эффект в отношении тест-культуры *in vitro*.

МИНИМАЛЬНАЯ ИНГИБИРУЮЩАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ (МИК) — наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост тест-культуры *in vitro*.

МИНИМАЛЬНАЯ ЛЕТАЛЬНАЯ ДОЗА (МИД) - наименьшее число патогенных микроорганизмов, способное вызвать гибель подопытного животного.

МОДИФИКАЦИЯ— ненаследственные изменения в организме, приобретаемые или в результате собственной деятельности, или благодаря воздействию окружающей среды.

МОНОИНФЕКЦИЯ — инфекция, вызванная каким-либо одним возбудителем.

МУТАНТ — организм, у которого один или несколько генов подверглись мутации.

МУТАЦИЯ — изменение характеристик гена, передающееся по наследству.

МУТОН — наименьшая единица хромосомы, изменение которой может привести к мутации.

МУТУАЛИЗМ — взаимовыгодное сожительство макро- и микроорганизма.

НЕМАТОДА — гельминт рода *Nematoda*.

НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА — полимер, состоящий из нуклеотидов. В зависимости от типа сахара нуклеиновая кислота называется ДНК или РНК.

НУКЛЕОКАПСИД — комплекс капсида и генома вируса.

ОБЩАЯ МИКРОБНАЯ ОБСЕМЕНЕННОСТЬ (ОМО) - количество микроорганизмов в 1 мл воды, жидкости или в 1 г твердого вещества. Определение ОМО позволяет говорить о возможном заражении изучаемого объекта патогенными микроорганизмами.

ОКРАСКА — метод окрашивания микроорганизмов. Существуют простые и сложные способы окрашивания. К сложным способам относится окраска по Граму.

ОРНИТОЗ — болезнь птиц, передающаяся человеку при контакте с больными птицами. Возбудитель — *Chlamidia psitaci*.

ОСПА (НАТУРАЛЬНАЯ)— вирусная инфекция, сопровождающаяся поражением кожи.

ОСПА ВЕТРЯНАЯ — инфекция, вызванная герпес-вирусом; сопровождается характерной пятнисто-везикулярной сыпью.

ОЧАГ ГОНА — первичное инфицирование бактериями туберкулеза.

ПАЛОЧКА — общее название представителей рода *Bacillus*

Ранее термин «палочка» использовали для обозначения любых палочковидных бактерий.

ПАРАЗИТ — организм, который живет и размножается в другом организме (хозяине).

ПАРАЗИТИЗМ — вид взаимоотношений, при которых паразит живет за счет хозяина и наносит ему вред.

ПАРОТИТ — воспаление околоушной железы. Эпидемический паротит (свинка) — вирусная инфекция, сопровождающаяся воспалением околоушной, подъязычной и подчелюстной желез.

ПАТОГЕННОСТЬ — способность микроорганизмов вызывать заболевание.

ПЕНИЦИЛЛИНЫ — антибиотики, продуцируемые грибами рода *Penicillium*. Обладают бактерицидным действием по отношению к грамположительным микроорганизмам.

ПЕРИОД ИНКУБАЦИОННЫЙ — время, прошедшее с момента попадания микроорганизма в макроорганизм до появления первых клинических признаков заболевания.

ПЕСТРЫЙ РЯД — набор дифференциально-диагностических сред, который используется для определения биохимической активности бактерий. Обычный набор включает среды с глюкозой, лактозой, маннитом, сахарозой и мальтозой.

ПИЛИ — ворсинки, располагающиеся на поверхности бактериальной клетки; служат для прикрепления к органам и тканям хозяина.

ПИОЦИАНИН — пигмент, выделяемый синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*); окрашивает агаровую среду в сине-зеленый цвет.

ПЛАЗМИДА — клеточный элемент, не связанный с генетическим аппаратом клетки-хозяина, но способный передавать генетическую информацию. Например, плазмиды

резистентности несут гены, ответственные за устойчивость микробов к тем или иным антибиотикам.

ПНЕВМОНИЯ — воспаление доли или всего легкого, обычно инфекционное. Может вызываться различными микроорганизмами.

ПОГЛОЩЕНИЕ АНТИГЕНОВ — макрофаги захватывают антигены и мигрируют в лимфатические узлы.

ПОЛИАРТЕРИИТ — воспаление нескольких артерий.

ПОЛИОМИЕЛИТ — вирусное инфекционное заболевание, характеризующееся воспалением серого вещества спинного мозга.

ППД — см. Туберкулин Коха (новый). **ПРЕЦИПИТАЦИЯ** — процесс формирования преципитата.

ПРЕЦИПИТИН — антитело, связывающее специфический растворимый антиген и осаждающее его.

ПРЕЦИПИТИНОГЕН — антиген, стимулирующий образование специфического преципитина.

ПРОКАРИОТ — низший микроорганизм, не имеющий ядра. Имеет двойную нить ДНК, сомкнутую в кольцо и свободно плавающую в цитоплазме. Это ядерное вещество или нуклеоид клетки. К прокариотам относятся бактерии и сине-зеленые водоросли.

ПРОПЕР ДИН — вещество белковой природы; в комплексе с комплементом и ионами Mg лизирует бактерии.

ПРОТЕИНАЗЫ — ферменты, расщепляющие связи белков.

РЕЗЕРВУАР ИНФЕКЦИИ — организм, в котором циркулирует возбудитель и может не вызывать заболевание у хозяина, что характерно для природно-очаговых инфекций.

РЕИНФЕКЦИЯ — повторное заражение одним и тем же возбудителем.

РЕКОМБИНАНТ — микробная клетка, получившая участки ионов родительских особей, относящихся к разным штаммам.

РЕЦИДИВ — инфекционный процесс, который формируется под действием циркулирующего в организме возбудителя, а не в результате нового заражения.

РИККЕТСИОЗ — заболевания, вызванные риккетсиями, передающимися, как правило, трансмиссивным путем, а также воздушно-пылевым.

РОЖИСТОЕ ВОСПАЛЕНИЕ - заболевание, характеризующееся поражениями кожи в области бедер и голени; вызывается гемолитическими стрептококками.

САЛЬМОНЕЛЛЕЗ — гастроэнтерит, вызываемый микроорганизмами рода *Salmonella*.

САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ — микроорганизмы (грибы, бактерии, вирусы), являющиеся показателями загрязнения окружающей среды, которые выделяются из организма человека или животных.

САП — инфекционное заболевание человека и животных. Возбудитель — *Pseudomonas mallei*.

СЕПСИС — заражение крови патогенными микроорганизмами и их токсинами. При сепсисе бактерии размножаются в циркулирующей крови и поражают различные органы и ткани.

СИМБИОЗ — взаимовыгодное сожительство двух организмов.

СИФИЛИС — венерическое инфекционное заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*treponema pallidum*), передающееся половым путем. Характеризуется высыпаниями на коже и слизистых оболочках.

СКАРЛАТИНА — детское инфекционное заболевание, вызываемое стрептококками, характеризующееся кожными точечными высыпаниями красного цвета.

СПОРА — уплотненный участок цитоплазмы с материнской ДНК. Служит бактериальным клеткам для перенесения неблагоприятных условий окружающей среды. Как правило, спора образуется у палочковидных форм.

СТАФИЛОДЕРМИЯ — гнойное поражение кожи, вызванное стафилококками.

СТАФИЛОКОККОЗ — инфекция, вызванная различными видами бактерий рода *Staphylococcus*.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ — полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

СТОЛБНЯК — инфекция, вызванная столбнячной палочкой *Clostridium tetani*. Под действием столбнячного экзотоксина поражаются двигательные нейроны спинного мозга.

СТРЕПТОКОККЦЕМИЯ — наличие стрептококков в циркулирующей крови.

СУЛЬФАНИЛАМИДЫ — антибактериальные химио-препараты широкого спектра действия.

ТЕТРАЦИКЛИНЫ — антибиотики широкого спектра действия, продуцируемые некоторыми видами *Streptomyces*. Активны в отношении грам+ и грам~ микроорганизмов, а также риккетсий, хламидий, ми-коплазм.

ТИНКТОРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА — способность микроорганизмов окрашиваться различными красителями.

ТИТР САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ — наименьшее количество исследуемого объекта (мл и г), в котором присутствует искомый микроорганизм.

ТОКСИГЕННОСТЬ — способность микроорганизмов вырабатывать яды, отравляющие макроорганизм.

ТОКСИН — ядовитое вещество белковой природы, вырабатываемое бактериальными клетками.

ТОКСОПЛАЗМОЗ — заболевание, вызываемое простейшими паразитами *Toxoplasma gondii*, поражающими птиц, животных и человека. Заболевание характеризуется увеличением лимфатических узлов, поражением внутренних органов и глаз, на коже появляется сыпь. Типичные симптомы заболевания отсутствуют.

ТРАНСПЕПТИД АЗА — фермент, который катализирует реакцию переноса аминокислот.

ТРЕМАТОДЫ — гельминты-сосальщики, ведущие паразитический образ жизни. Всего известно около 3 тыс. этих червей.

ТРИХИНЕЛЛЕЗ — инфекционное заболевание, вызванное круглыми гельминтами-нематодами — *Trichinella spiralis*. Заражение происходит при употреблении плохо проваренного мяса. Заболевание характеризуется повышением температуры, наблюдается отечность век и лица, возникают боли в мышцах.

ТРИХОМОНОЗ — инфекция, вызванная видами рода *Trichomonas* или простейшими близких родов.

ТУБЕРКУЛЕЗ — инфекционное заболевание, вызываемое *Mycobacterium tuberculosis*. У человека поражаются легкие, а также другие органы и ткани. В месте внедрения микобактерий образуется туберкулезный бугорок. Общие симптомы болезни такие же, как при сепсисе: лихорадка и ночное потоотделение.

ТУБЕРКУЛЕЗНЫЙ БУГОРОК - скопление лейкоцитов, внутри которых находятся микобактерии туберкулеза.

При хорошей сопротивляемости организма все это окружает плотная соединительная ткань.

ТУБЕРКУЛЕМА — опухолеподобное образование, встречающееся в легком или в головном мозгу, что является результатом локальной туберкулезной инфекции.

ТУБЕРКУЛИН — фильтрат бульонной культуры *Mycobacterium tuberculosis*; используется для постановки реакции Манту, и является диагностической пробой на туберкулезную инфекцию.

ТУЛЯРЕМИЯ — инфекция, передающаяся человеку от грызунов и насекомых. Вызывается возбудителем рода *Francisella tularensis*. Клиническая картина заболевания аналогична бруцеллезу.

ФАГОЦИТОЗ НЕЗАВЕРШЕННЫЙ — микроорганизмы сохраняют свою жизнеспособность в клетках-фагоцитах. Это связано с особенностями строения бактерий и способностью их образовывать капсулу.

ФУКСИН — красный краситель; используется для окраски мазков и препаратов в бактериологии и гистологии.

ФУНГЕМИЯ — грибковая инфекция, попадающая в кровоток.

ХЕМОТАКСИС — движение клеток фагоцитов по направлению к объекту (положительный хемотаксис).

ХЛОРАМИН — химическое вещество, используемое в практической медицине в качестве дезинфицирующего агента.

ХЛОРАМФЕНИКОЛ — природный антибиотик широкого спектра действия. Особенно к

нему чувствительны гра-молрицательные анаэробные микроорганизмы.

ХОЗЯИН — организм, в котором живет и размножается паразит. Хозяин может быть промежуточным и окончательным.

ХОЛЕРА — острая кишечная инфекция, сопровождающаяся нарушением водно-солевого обмена и обезвоживанием организма, что может привести к гиповолемическому шоку. Вызывается холерным вибрионом *Vibrio cholerae*.

ХОЛЕРОГЕН — экзотоксин, вырабатываемый *Vibrio cholerae*, под действием которого в просвет кишечника секретруется 10—20—30 л изотонической жидкости, что приводит к обезвоживанию организма при холере.

ЦЕНОЗ — сообщество микроорганизмов, обитающих в определенных условиях.

ЦЕФАЛОСПОРИНЫ — антибиотики природного происхождения, вырабатываемые грибами *Cephalosporium acremonium*.

ЦИКЛОСЕРИН — антибиотик, вырабатываемый разными видами *Streptomyces*.

ЦИТОМЕГАЛОВИРУС — герпес вирус, возбудитель цито-мегаловирусной инфекции, сопровождающейся лихорадкой.

ЧУМА — инфекционное заболевание относится к особо опасным инфекциям, вызывается бактериями рода *Yersinia pestis*. Клиническая картина заболевания — высокая температура, увеличение лимфатических узлов, пневмония.

ШТАММ — микроорганизмы одного вида, выделенные одновременно из одного источника.

ЭКЗОТОКСИН — токсин, вырабатываемый некоторыми грамположительными микроорганизмами; обладает специфическим действием на организм, т. е. поражает определенные органы и ткани.

ЭКЗОФЕРМЕНТ — выделяется клеткой во внешнюю среду, что приводит к повреждению тканей организма, так же может расщеплять макромолекулы до более простых соединений.

ЭНДОТОКСИН — токсин; тесно связан с телом микробной клетки и освобождается только при ее разрушении. Не отличается специфическим действием на организм.

ЭНТЕРОБИОЗ — заболевание, вызванное проникновением в организм остриц, являющихся небольшими (0,5—1 см) нематодами, обитающими в нижнем отделе тонкого кишечника и в толстом кишечнике. Срок жизни в организме человека — до 1 месяца.

ЭНТЕРОКОЛИТ — воспаление слизистой оболочки тонкой или толстой кишки. Может быть антибиотиковый, инфекционный и некротизирующий.

ЭНЦЕФАЛИТ — воспаление головного мозга.

Список литературы

Адлер М. Азбука СПИДа. М., 1991.

Воробьев А. А. Микробиология и иммунология. М., 1999.

Герхардт Ф. Методы общей бактериологии. Т. 1,2,3. М., 1983.

Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. Т. 1, 2, 3. М., 1982.

Лурия С. Общая вирусология. М., 1970. Кочемасова З. Н. Микробиология. М., 1984.

Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М., 1972.

Леей А. Структура и функция клетки. М., 1971. Майер В. Невидимый мир вирусов. М., 1981.

Мельников И. К. Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции. Методические указания, М., 1998.

Покровский В. И. Медицинская микробиология. М., 1999.

Покровский В. В. Эпидемиология и профилактика ВИЧ-инфекции и СПИД. М., 1996.

Черкес Ф. К. Микробиология. М., 1987. Краснуха. СПб., 1997.

ГОСТ 30 347—97 Межгосударственный стандарт Молоко и молочные продукты. Методы определения *Staphylococcus aureus*. Межгосударственный Совет по стандартизации, метрологии и сертификации.

ГОСТ 30425—97 Межгосударственный стандарт. Консервы. Метод определения промышленной стерильности.

ГОСТ 10444.15—94. Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Межгосударственный Совет по стандартизации, метрологии и сертификации, г. Минск.

ГОСТ Р50474—93. Государственный стандарт Российской Федерации. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий).

ГОСТ 17.4.4.02—84. Государственный стандарт Союза ССР. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Государственный комитет СССР по стандартам.

ГОСТ 9225—84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа.

ОСТ 4288—76. Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленного мяса. Правила приемки и методы испытаний.

Т 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения».

Информационный бюллетень «Здоровье населения и среда обитания» Л.Г. Подунова. М., 1997.

Туберкулез. Современные аспекты эпидемиологии и профилактики. Методические рекомендации. Ростов нД, 1999.

Микробиология. Пособие для учителей Под редакцией профессора, члена-корреспондента АПН СССР П. А. Генке-^ля, Н. И. Германов. М., 1969. Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды Методические указания МЦК 4.2.671-97.

Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации. Минздрав России. М., 1997.

Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водоемов. Организация Госсанэпиднадзора за обеззараживанием сточных вод. Методические указания МЦ 2.1.5.800-99.

Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella. ГОСТ Р50480—93. Н-ОО. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды. Методические указания МЦК 4.2.1018-01.

Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы. 19.02.1981 г. №2293-81.

Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы. 4.08.76 г. № 1446-76.

Методические указания по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговле пищевыми продуктами. Главное санитарно-эпидемиологическое управление. 1984.

Приказ МЗ СССР № 720 от 31.07.78 г. «Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилении мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией».

Приказ МЗ России № 408 от 12.07.98 г. «О мерах по снижению вирусными гепатитами в стране».

Приказ МЗ СССР № 720 от 31.07.78 г. «Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилении мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией».

Справочник помощника санитарного врача и помощника эпидемиолога Под ред. Д. П. Никитина, А. И. Заиченко. М., 1990.

Санитарные правила. СП 1.2.731-99.

Санитарные правила и нормы. СанПин 2.1.5.980-00 Водоотведение населенных мест. Санитарная охрана водных объектов.

Гигиенические требования к качеству почвы населенных мест МЦ 2.1.7.730-99. Департамент санэпиднадзора Министерства здравоохранения Российской Федерации. М., 1999.