УТВЕРЖДАЮ

Начальник Главного санитарно-эпидемиологического управления Министерства здравоохранения СССР

А. ПАВЛОВ

№ 842-70 2 апреля 1970 г.

МЕТОДИЧЕСКОЕ ПИСЬМО

по диагностике, клинике, лечению и профилактике эхинококкоза и альвеококкоза человека

I. Краткие сведения об эхинококке, альвеококке и эпидемиологии, вызываемых ими заболеваний

Эхинококкоз и особенно альвеококкоз являются очень тяжелыми паразитарными заболеваниями человека. Эхинококкоз наносит также огромный ущерб животноводству.

Возбудителем эхинококкоза служит однокамерный, или гидатидный эхинококк — Echinococcus granulosis, альвеококкоза — многокамерный или альвеолярный, эхинококк, который в последнее время выделен в самостоятельный род и называется альвеококк — Alveococcus multilocularis (синоним Echinococcus multilocularis).

Эхинококкоз

1) Строение и развитие эхинококка.

Половозрелая форма эхинококка представляет собой очень мелкого ленточного гельминта (цестоду), тело которого состоит из головки (сколекса), шейки и 3—4 члеников.

Личиночная форма — это пузырь, размером от просяного зерна до головы ребенка, весьма сложного строения (см. табл.).

Эхинококк развивается с участием двух хозяев — окончательного, в теле которого паразитируют взрослые гельминты, и промежуточного, у которого обитает личиночная форма эхинококка (эхинококковые пузыри). Окончательными хозяевами эхинококка являются собаки, волки, шакалы, лисицы и некоторые другие хищные плотоядные. В СССР основным окончательным хозяином служит собака. Промежуточные хозяева — различные виды травоядных и всеядных животных; в том числе все сельскохозяйственные животные. Человек также может играть роль промежуточного хозяина эхинококка, однако значительно реже, чем животные.

gost.e-ecolog.ru

Взрослые эхинококки обитают в тонком кишечнике своих окончательных хозяев. Зрелые членики, содержащие матку набитую яйцами, отторгаются от тела паразита и выделяются наружу с фекалиями зараженного животного или активно выползают из анального отверстия последнего и могут ползать по его телу. При этом из члеников выдавливается множество яиц. Членики, попавшие с фекалиями на почву, нередко расползаются по ней в радиусе до 0,25 м, оставляя на почве и на траве яйца.

При проглатывании промежуточным хозяином яиц или зрелых члеников эхинококка, из яиц под действием пищеварительных соков освобождаются эмбрионы (онкосферы). Последние снабжены крючьями, с помощью которых они проникают в кровеносные сосуды кишечной стенки. Током крови онкосферы заносятся в печень, где большая часть из них оседает, вследствие чего эхинококк в печени встречается обычно чаще, чем в других органах. Онкосферы, которым удалось преодолеть печеночный барьер, движутся дальше по малому кругу кровообращения, проникают в легкие, являющиеся вторым барьером на пути их следования. Прошедшие через капилляры легких онкосферы попадают в любой орган. Из осевших в том или ином органе онкосфер формируются пузыревидные личинки. Первоначальное развитие пузыря происходит довольно быстро. Уже через 2 месяца пузырь, локализующийся в печени, достигает 30—40 мм и имеет выраженные оболочки. Через 5 месяцев соединительнотканная капсула, окружающая пузырь, становится фиброзной и прорастает кровеносными сосудами и желчными ходами. По мере созревания пузыря в нем начинают развиваться выводковые капсулы и сколексы. Дальнейший рост пузыря протекает медленно и может длиться годами.

Если окончательный хозяин съест орган промежуточного хозяина, пораженный плодоносным эхинококковым пузырем, у него развивается в дальнейшем множество взрослых эхинококков, так как из каждого сколекса, находящегося в эхинококковом пузыре, вырастает самостоятельная ленточная форма гельминта.

Развитие эхинококков до половозрелой стадии совершается в кишечнике окончательного хозяина за 64—97 дней, а период выделения паразитами яиц может длиться 6 месяцев и больше. Срок жизни эхинококка в теле окончательного хозяина не превышает года. Личиночные формы (эхинококковые пузыри) сохраняют жизнеспособность в организме промежуточных хозяев, в том числе и человека, в течение ряда лет.

2) Эпидемиология

Эхинококкоз широко распространен в ряде стран Азии, Африки, Америки и Европы. В СССР он преобладает в южных районах, главным образом в Закавказье, на Сев. Кавказе, в Крыму и других южных областях УССР, в Молдавии в Киргизии, в южных областях Казахстана. Встречается также на севере, особенно в Омской, Томской, Новосибирской областях, в Бурятской АССР.

Источником инвазии при эхинококкозе являются собаки и другие плотоядные животные — окончательные хозяева гельминта.

Собаки заражаются обычно, поедая пищевые отбросы, поступающие с боен, животноводческих ферм, из кухонь, при поедании на неблагоустроенных скотомогильниках трупов павших животных, а также в результате скармливания им пораженных эхинококковыми пузырями органов убойных животных, забиваемых на дому без ветеринарного надзора, и конфискатов с боен.

Зараженные собаки рассеивают яйца и членики эхинококка во внешней среде.

Находящиеся в яйцах эмбрионы (онкосферы) очень устойчивы к внешним воздействиям и сохраняют жизнеспособность длительный период времени. На поверхности почвы в тени при температуре 10—26° они остаются инвазионными в течение месяца, при температуре от 5 до 20° С и относительной влажности 60—80% остаются живыми 10—12 месяцев (А. Ф. Носик, 1950 г.).

Заражение промежуточных хозяев — травоядных и всеядных животных происходит в результате проглатывания ими яиц или члеников эхинококка с травой, сеном, водой и другими элементами внешней среды. Таким образом, круговорот инвазии осуществляется между плотоядными, окончательными хозяевами эхинококка, и различными травоядными и всеядными — промежуточными хозяевами. В СССР существуют в основном синантропные очаги эхинококкоза, кругооборот инвазии в которых происходит между домашними животными, по типу: собака — сельскохозяйственные животные — собака. Наибольшее значение в распространении инвазии в таких очагах имеют овцы, что объясняется, во-первых, тесной связью овец с собаками, несущими в отарах сторожевую службу, во-вторых, высокой плодоносностью пузырей, развивающихся у овец, и, в-третьих, часто практикуемым в овцеводстве бесконтрольным забоем овец. В местах где овцы отсутствуют доминирующая роль при-

надлежит свиньям. Человек включается в эпидемиологическую цепь эхинококкоза, заражаясь от собак, но сам в дальнейшей передаче инвазии не участвует, поскольку формирующиеся в его теле пузыри редко попадают в организм *окончательного хозяина* (*при неправильной обработке* удаленных на операции органов, пораженных эхинококком).

Заражение человека чаще всего происходит в результате постоянного общения с собаками, на шерсти и языке которых могут находиться яйца и членики эхинококка. Последние обнаруживаются иногда на теле не только больных, но и здоровых собак, вследствие того, что собаки нередко облизывают и обнюхивают друг друга. Человек может заразиться также при питье загрязненной воды из природных водоемов и при употреблении в пищу немытых овощей, фруктов, ягод и зелени, на которые яйца эхинококка попадают вместе с экскрементами зараженных собак. Можно заразиться и через другие продукты питания, случайно загрязненные яйцами эхинококка с пылью или через мух. В некоторых случаях человек заражется эхинококкозом от овец, во время их дойки и стрижки, так как шерсть овец нередко загрязнена яйцами эхинококка.

В некоторых зарубежных странах (*Канада*, *Швеция*, Австралия) помимо синантропных очагов существуют природные *очаги эхинококкоза*, *кругооборот* инвазии, в которых происходит между дикими животными: волками, шакалами, гиенами и другими дикими плотоядными с одной стороны и оленями, лосями — с другой. В этих случаях человек может заражаться и от диких животных, занося себе в рот яйца эхинококка, находящиеся на шкурах убитых на охоте пушных зверей или при питье воды из природных водоемов, служащих местом водопоя диких животных. В СССР природные очаги эхинококка пока не выявлены, хотя случаи паразитирования эхинококков у волков, шакалов и лисиц описаны в литературе.

Альвеококкоз

1) Строение и развитие альвеококка

Половозрелая форма альвеококка по своему строению напоминает эхинококк, хотя и имеет ряд отличительных признаков (см. табл.). Личиночная форма представляет собой конгломерат мелких пузырьков, плотно прилегающих или сросшихся друг с другом и объединенных разросшейся соединительной тканью. Полость пузырьков заполнена жидкостью или густой массой; многие пузырьки содержат сколексы. У человека сколексы в пузырьках нередко отсутствуют.

На разрезе альвекокковые узлы печени человека, имеют ячеистое строение с некротическим распадом в центре.

Окончательными хозяевами, в теле которых паразитирует половозрелая форма альвеококка, служат песцы, лисицы, собаки и значительно реже волки и кошки. Промежуточными хозяевами, у которых обитают личиночные формы, являются дикие мышевидные грызуны в основном подсемейства Microtinae и др., а также человек. У человека и других промежуточных хозяев альвеококка первичные альвеококковые узлы локализуются в печени.

Сравнительное описание особенностей строения и развития эхинококка и альвеококка

Признаки	Эхинококк (по Петрову и Чертковой, 1959)	Альвеококк по Лукашенко, 1963)
1	2	3
Строение личиночной формы	Пузырь, наполненный жидкостью, со сколексами и выводковыми капсулами, окружен толстой оболочкой, выстланной изнутри тонкой зародышевой оболочкой	Конгломерат мелких пузырьков, объединенных разросшейся соединительной тканью; у человека пузырьки не всегда содержат сколексы; у грызунов пузырьки со сколексами
Длина тела взрослых паразитов	2,7—5,4 мм	2,3—3,2 мм
Число члеников	3—4	2—4
Число крючьев на сколексе	36—40	28—32
Строение матки в зрелом членике	Мешковидная с боковыми выпячиваниями, занимает весь членик	Без боковых выпячиваний; занимает часть членика
Длина заднего членика	1,271—3, 175 мм	0,57—0,96 мм
Хозяева промежуточные	Жвачные (все сельскохозяйственные животные; олени, лоси), свиньи, кабаны, кенгуру, верблюды, человек	Дикие мышевидные грызуны, человек
Хозяева окончательные	Собаки, койоты, шакалы, лисицы, волки и др.	Собаки, песцы, красные лисицы
Срок развития в собаке	64—97 дней (Носик, 1953)	34—49 дней
Длительность жизни в собаке	150—205 дней (Носик, 1953)	3—3,5 месяцев

В теле диких плотоядных собак альвеококки завершают свое развитие и достигают половозрелой стадии за 34—49 дней. Срок их жизни равен 3—3,5 месяцев. Выделение яиц происходит с 34 по 185 день после заражения. Личиночные формы развиваются за 2—6 месяцев и сохраняют жизнеспособность длительный период времени.

2) Эпидемиология

Альвеококкоз регистрируется в ряде стран Европы (южные области ФРГ, Швейцария, Австрия), в Канаде, на Аляске, на островах Св. Лаврентия и некоторых других. В СССР очаги альвеококкоза имеются в Якутской АССР, на Командарских островах, в Магаданской обл., в Красноярском крае, в Новосибирской, Томской, Омской, Тюменской, Челябинской областях, в Алтайском и Хабаровском краях, в Башкирской и Татарской АССР, в Казахстане.

Альвеококкоз является природно-очаговым заболеванием, для которого характерно формирование очагов среди диких животных. Кругооборот инвазии совершается между дикими плотоядными (песцы, лисицы) с одной стороны и дикими грызунами с другой. Собаки также включаются в эпидемиологическую цепь альвеококкоза, заражаясь в результате охоты на диких грызунов, и в ряде мест (например в Якутии) играют главную роль в распространении инвазии.

Заражение человека альвеококкозом может осуществляться тремя путями: 1) непосредственно от диких плотоядных животных, 2) от собак, 3) через элементы внешней среды (вода, зелень, ягоды, фрукты, овощи и др.).

Первый путь заражения имеет место в районах с интенсивным развитием охотничьего промысла. Человек заражается при снятии и разделке шкур диких плотоядных, на которых могут находиться прилипшие к меху яйца, занося их загрязненными руками в рот; в тех случаях, когда обработка шкур проводится в жилых помещениях, яйца попадают на предметы обихода, продукты питания, где остаются жизнеспособными длительное время.

Второй путь заражения (от собак) отмечается в местах, где население имеет постоянное и тесное общение с собаками. Последние заражаются, поедая диких грызунов и служат затем источником инвазии для человека.

Третий путь (заражение через элементы внешней среды) возможен вследствие того, что население часто собирает и употребляет в пищу дикорастущие ягоды и зелень, на которые могут попадать экскременты зараженных диких животных. Определенное значение имеет также употребление для

питья и хозяйственных нужд сырой воды из природных водоемов, куда яйца альвеококка попадают с экскрементами, приходящих на водопой, диких плотоядных.

Онкосферы альвеококка устойчивы к внешним условиям и сохраняют жизнеспособность на почве под снегом даже при очень низких температурах. Согласно литературным данным онкосферы, например, выживали в течение всей зимы в тундре при температуре —37°. В условиях Западной Сибири они перезимовывают во внешней среде, сохраняя инвазионные свойства (Н. Н. Лукашенко, 1962).

II. Основные данные по патогенезу и клинике эхинококкоза и альвеококкоза

Эхинококкоз и альвеококкоз у человека в течение многих месяцев и даже лет может протекать бессимптомно, вследствие очень медленного роста личиночных форм и высоких компенсаторных и защитных свойств организма.

В то время как альвеококк поражает почти исключительно печень, эхинококк может локализоваться почти во всех органах и тканях человека, но и он чаще (в среднем в 70% случаев) обнаруживается в печени. Увеличение печени многие больные случайно выявляют сами, казалось бы среди полного здоровья. Нередко поражение печени эхинококком и альвеококком определяются при пальпации. Альвеококковые узлы отличаются от эхинококковых кист своей чрызвычайной плотностью. Печень, пораженная альвеококком, имеет каменистую консистенцию. В далеко зашедших случаях альвеококк может прорастать в соседние органы (надпочечник и почку, диафрагму и легкие, в печеночно-двенадцатиперстную связку и др.) и давать отдаленные метастазы — в легкие и в головной мозг.

При сдавлении паразитом печеночных протоков или при прорыве в них содержимого эхинококковой кисты наступает желтуха. У больных альвеококкозом желтуха развивается вследствие клеточной инфильтрации стенок желчных протоков, связанной с аллергической реакцией организма, но чаще вследствие окклюзии протоков. Асцит возникает лишь в терминальной стадии болезни. Больные вначале в течение многих месяцев и даже лет чувствуют тяжесть, иногда тупую боль в правом подреберье или в эпигастрии. Если исключить осложненные формы заболевания, — общее состояние больных длительное время остается удовлетворительным.

Дифференциальная диагностика между альвеококком и эхинококком, особенно обызвествленным — трудна. При

дифференциации необходимо учитывать эпидемиологические данные, степень отклонения функциональных проб печени, скорость прогрессирования болезни. Эхинококкоз и альвеококкоз нужно также дифференцировать от цирроза и рака печени.

При циррозе обычно нарушения функциональных проб печени более выражены чем при альвеококкозе и, особенно при солитарных кистах эхинококка; для рака характерен быстрый рост. При циррозе и раке печени постоянно наблюдается асцит, кахексия.

Серьезные трудности представляет дифференциальный диагноз между альвеококкозом, множественным эхинококкозом и поликистозом печени. Для поликистоза характерно отсутствие выраженного прогрессирования болезни на протяжении многих лет, сохранность функционального состояния печени при обширном ее поражении, а также одновременное поражение почек (протеинурия, цилиндрурия, гипертония и проч).

В течении альвеококкоза и эхинококкоза возможны осложнения. Эхинококковая киста может лопнуть и излившимся содержимым обсеменить брюшную полость, вызвав впоследствии множественный эхинококкоз органов брюшной полости. В момент прорыва кисты могут развиваться аллергические явления — зуд, крапивница, иногда анафилактический шок даже со смертельным исходом. В ряде случаев отмечается гибель паразита и нагноение кисты, а при альвеококке — распад в центре опухоли. При эхинококкозе (реже при альвеококкозе) может наступить обызвествление паразита.

Довольно часто (в 15—20%) эхинококк поражает легкие. Вначале заболевание протекает бессимптомно. В этот период пузырь может быть обнаружен лишь случайно, например при рентгенологическом обследовании грудной клетки, произведенном в порядке диспансеризации, профилактического осмотра, прохождения осмотра перед поездкой на курорт или при подозрении на какое-либо другое заболевание органов грудной полости. Во второй стадии заболевания — кашель, субфебрильная температура, кистообразная опухоль в легких, иногда определяемая при перкусии и аускультации. Для третьей, осложненной стадии, характерны симптомы, связанные с прорывом кист, иногда нагноившихся, в полость плевры или, чаще в бронхи. Первое осложнение проявляется внезапно наступающим спонтанным пневмо- и (или) пиопневмотораксом с коллапсом и обсеменением плевральной полости, второе — откашливанием жидкости или гноя, нередко с обрывками хитиновой оболочки и мелкими дочерни-

ми пузырьками. При прорыве прикорневых или центральных кист, локализующихся в верхних долях легких, возможно полное опорожнение через бронхиальное дерево и самоизлечение. При прорыве кист другой локализации, самоизлечение наблюдается крайне редко.

III. Методы диагностики эхинококкоза и альвеококкоза

1. Методы клинической диагностики:

а) Гематологические

Для эхинококкоза и альвеококкоза считается характерной эозинофилия, но ценность ее снижается тем, что число эозинофилов может быть повышено и при других гельминтозах; кроме того при нагноившемся эхинококке эозинофильная реакция как правило отсутствует. Все же, умеренная эозинофилия при эхинококковой болезни наблюдается в среднем у половины всех больных. Примерно также часто у больных эхинококкозом наблюдается ускоренная РОЭ. При клинически выраженном альвеококкозе РОЭ всегда ускорена.

б) Биохимические

Биохимические сдвиги в крови особенно выражены при альвеококкозе. Наиболее постоянным является увеличение содержания общего белка сыворотки крови в пределах 8,5—11 г% за счет фракции глобулинов, количество которой достигает 4—7 г%. Показателями увеличения глобулинов (грубо-дисперсных фракций белка) являются т. н. «осадочные реакции», сулемовая, тимоловая, формоловая пробы, реакция Таката—Ара, проба Вельтмана и др. Сулемовая проба может снижаться до 1.4—1,2 и даже ниже 1, формоловая выпадает положительной до ++ и +++ и даже ++++, тимоловая — повышается до 8—10 единиц и выше. Показателем глобулиновых сдвигов в крови является и ускорение РОЭ, достигающее при альвеококкозе 30—50, а иногда и 60—70 мм/час.

Наиболее рано и точно белковые сдвиги в сыворотке крови улавливаются методом электрофореза. Для протеинограммы при альвеококкозе характерно снижение фракции альбуминов (до 50—40% и ниже) и резкое повышение фракции гамма-глобулинов (до 30—40%). При пересчете процентного содержания отдельных фракций белка сыворотки крови на г% от количества общего белка обычно удается установить, что истинным является нарастание содержания глобулиновых фракций, особенно гамма-глобулинов. Снижение же альбуминов является, главным образом, относительным.

Для больных с тяжелым течением альвеококкоза, особенно, с упорной желтухой, характерно и постепенное истинное снижение содержания альбуминов сыворотки крови. Плохим прогностическим признаком является слияние на электрофореграмме бета- и гаммаглобулиновых фракций. Помимо белковых сдвигов при прогрессировании болезни отмечается повышение содержания билирубина с прямой реакцией, снижение содержания холестерина и протромбина. При желтухе, особенно длительной, уровень протромбина снижается наиболее резко, содержание же холестерина повышается до 200—250 и более мг%.

У больных с однокамерным эхинококком все биохимические показатели изменены значительно меньше. Выраженные белковые сдвиги наблюдаются только при множественных кистах, особенно, при их нагноении.

Необходимо помнить, что все перечисленные изменения биохимических показателей не являются специфическими для эхинококковой болезни и должны оцениваться параллельно с данными эпиданамнеза, клиники и иммунологическими реакциями.

в) Рентгенологические

Обызвествленные эхинококковые кисты в печени легко обнаружить на обычных обзорных рентгенограммах. Довольно распространенное мнение о том, что паразитарные «опухоли» при альвеококкозе всегда обызвествлены и благодаря этому часто могут быть диагностированы с помощью простых рентгеновских снимков — неверно. Обызвествленные альвеококковые узлы можно увидеть на рентгенограммах не чаще чем кисты эхинококка. Тени при эхинококке более компактны и интенсивны, имеют вид округлых, нередко резко очерченных образований. При альвеококке известковые отложения на рентгенограммах представляются в виде кружев.

Необызвествленные кисты эхинококка и узлы альвеококка (преимущественно метастазы) на обзорных рентгенограммах могут быть обнаружены лишь в легких. При эхинококке легких ценен симптом Неменова: — круглая тень с четкими контурами во время дыхательных экскурсий становится вдруг овальной. При необызвествившихся эхинококках и альвеококках печени диагноз может быть установлен с помощью гепатографии на фоне пневмоперитонеума, а также с помощью вазо- и холеграфии печени, спленопортографии или с помощью введения контрастного вещества в пупочную вену.

Все рентгенологические методы исследования имеют большую ценность для топической диагностики. Они позволяют выявить наличие объемного образования в печени, его локализацию состояние сосудистой и желчевыводящей системы печени. Для альвеококка и эхинококка характерно огибание сосудов пораженной области, тогда как при опухолях вазография выявляет обрыв сосудистого рисунка в очаге поражения.

Наибольшую ценность для диагноза эхинококковой болезни имеет метод радиоизотопной диагностики — сканнирование печени и, в меньшей степени, радиоизотопная гепатография. Помимо выявления очагового поражения методы радиоизотопной диагностики позволяют судить о состоянии паренхимы печени, проходимости желчных путей (при использовании радиоактивного иода — RJBR), а при сканнировании с радиоактивным золотом Au 198-об активности ретикулоэндотелиальной системы.

Комплесное клинико-лабораторное, рентгено-радиологическое исследование больного дает также возможность определять характер предполагаемой операции, ее объем, а также дальнейшие терапевтические мероприятия.

2. Методы иммунодиагностики

Для иммунологической диагностики эхинококкоза и альвеококкоза в настоящее время пользуются серологическими реакциями с антигеном, приготовленным из эхинококковых пузырей человека, содержащих дочерние пузыри и сколексы, или из эхинококковых пузырей овец.

Можно применять также аллергическую внутрикожную реакцию, но с большой осторожностью, поскольку она нередко сенсибилизирует организм больного и в отдельных случаях вызывает даже развитие анафилактических явлений вплоть до шока.

1) Серологические реакции

Серологические реакции не вызывают никаких явлений и могут применяться без всяких ограничений. Их можно ставить повторно и поэтому удобно применять для динамических наблюдений над больными, а также для выявления рецидивов. Наиболее эффективными являются реакции латекс-агглютинации и непрямой гемагглютинации.

I. Реакция латекс-агглютинации

Реакция дает положительный результат у больных эхинококкозом и альвеококкозом в 80—90% случаев. Процент неспецифических реакций незначительный (3—4%). Неспецифические реакции наблюдаются главным образом при циррозе и первичном раке печени. Реакцию можно ставить с нативным антитеном или с диагностикумом с длительным сроком хранения.

А. Реакция латекс-агглютинации с нативным антигеном.

а) Оборудование:

1. Центрифужные пробирки
2. Штативы металлические или деревянные
3. Центрифуга на 2 тыс. оборотов.
4. Термостат на 37° С
5. Холодильник
6. Колбы плоскодонные на 50, 100, 500 мл.
7. Колбы мерные на 500, 1000, 2000 мл.
8. Бутыли стеклянные на 1—2 литра
9. Градуированные пипетки от 1 до 10 мл.
10. Флаконы пенициллиновые для разведения латекса.

б) Ингредиенты и их приготовление:

1. Буферный боратно-солевой раствор поваренной соли (pH—8,2). Буферный раствор готовят из 50 мл 0,1 М раствора борной кислоты и 5,9 мл 0,1 N NaOH*), добавляя к смеси до 100 мл дистиллированную воду и на каждые 100 мл жидкости — 0,85 г поваренной соли.

2. Физиологический раствор поваренной соли.

3. Латекс дивинилстирольный или полистирольный.

Латекс — синтетическая смола, которая представляет собой молочно-белую жидкость, состоящую из равномерной взвеси частиц латекса.

Латекс дивинилстирольный СКС-65-ГП содержит 45% сухого вещества, состоит из 65% дивинила и 35% стирола, размер частиц 0,08—0,12 микрон; латекс полистирольный (монодисперсный) содержит 1,2% сухого вещества (в основном полистирола), размер частиц 0,7—0,85 микрон.

Из технического латекса готовят рабочее разведение на дистиллированной воде. Дивинилстирольный латекс разводят 1 : 20, полистирольный — 1 : 2.

---

*) Для приготовления 0,1 М раствора борной кислоты на 1 л дистиллированной воды следует брать 6,18 г сухой кислоты. 0,1 N NaOH готовят путем добавления к 8 мл насыщенного раствора NaOH 1 л дистиллированной воды.

4. Антиген. Стериально взятая жидкость из эхинококковых пузырей человека или овец; эхинококковая жидкость должна быть предварительно апробирована на заведомо-положительных и отрицательных сыворотках.

5. Испытуемая сыворотка. Сыворотка разводится боратно-солевым буфером в отношении от 1 : 4 до 1 : 64.

б) Адсорбция антигена на латексе

Для адсорбции антигена 0,1 мл рабочего разведения латекса соединяют с 0,5 мл антигена и 10 мл боратно-солевого буфера. Смесь в течение часа выдерживают при комнатной температуре.

в) Постановка реакции

В центрифужные пробирки разливают испытуемую сыворотку, разведенную боратно-солевым буфером (pH 8.2) в соотношении от 1 : 4 до 1 : 64. Для получения указанных разведений в первую пробирку наливают 0,25 мл испытуемой сыворотки и 0,75 мл буфера и таким образом получают разведение 1 : 4. В остальные пробирки наливают по 0,5 мл того же буфера. Из первой пробирки переносят градуированный пипеткой 0,5 мл смеси во вторую пробирку (разведение 1 : 8), из второй в третью (разведение 1 : 16) и так до конца ряда. Из последней пробирки 0,5 мл смеси выливают, чтобы во всех пробирках оставалось одинаковое количество разведенной сыворотки (по 0,5 мл). В каждую пробирку добавляют по 0,5 мл антигена, адсорбированного на латексе.

Контролем служат: смесь 0,5 мл боратно-солевого буфера с 0,5 мл антигена (1 пробирка), смесь нормальной сыворотки в разведениях от 1 : 4 до 1 : 64 с антигеном (5 пробирок) и смесь заведомоположительной сыворотки с антигеном (5 пробирок).

Все пробирки после тщательного встряхивания выдерживают 3 часа в термостате при +37° С и ночь в холодильнике при +4° С. На следующее утро пробирки центрифугируют при 2500 об/мин. в течение 3—5 минут и по количеству полученного осадка и цвету надосадочной жидкости оценивают полученную реакцию.

г) Оценка реакции

Реакция отрицательная — жидкость в пробирках имеет мутный цвет, вследствие равномерно взвешенных в ней частиц латекса, нагруженных антигеном.

Реакция положительная — на дне пробирки образуется белый осадок из мелких флоккул (видимых невооруженным глазом или под лупой с увеличением в 2—3 раза), который

при легком встряхивании поднимается в виде хлопьев; надосадочная жидкость прозрачная или слегка мутная (опалесцирующая).

Реакция резко положительная — осадок на дне пробирок обильный, состоит из крупных флокулл; надосадочная жидкость прозрачная.

Титр реакции расценивается по последнему разведению сыворотки, давшему положительный результат.

Диагностический титр реакции — с разведения 1 : 8.

Б. Реакция латекс-агглютинации с диагностикумом

Реакция ставится по той же методике и также оценивается как и с нативным антигеном. Разница заключается только в том, что антиген заменяют готовым диагностикумом с длительным сроком хранения (до года и более), что избавляет от работы по приготовлению рабочего разведения латекса и адсорбции на нем антигена.

Диагностикум представляет собой стерильно приготовленную смесь из 100 мл боратно-солевого буфера (pH 8,2), 5 мл жидкости из эхинококкового пузыря человека или овцы и 1 мл рабочего разведения полистирольного латекса.

Диагностикум разливается в ампулы по 5 мл (две диагностические дозы) и используется в качестве антигена.

Диагностикум не требует разведения перед употреблением.

II. Реакция непрямой гемагглютинации

Реакция непрямой гемагглютинации является достаточно чувствительным и специфическим методом иммунологической диагностики эхинококкоза и альвеококкоза. Дает положительный результат при этих заболеваниях в 80—90% случаев; у больных с другими заболеваниями (неспецифические реакции) бывает положительной в 5—10% случаев.

а) Ингредиенты и их приготовление

1. Эритроциты барана. Эритроциты получают обычным путем. Перед постановкой реакции свежеполученные эритроциты трижды отмывают фосфатно-солевым буфером (pH 7,2) путем центрифугирования в течение 10 минут при 2000 об/мин. и ресуспендируют в фосфатно-солевом буфере при том же значении pH в отношении 1 : 40. Получают таким путем 2,5% суспензию бараньих эритроцитов. Для постановки реакции с десятью сыворотками достаточно приготовить 50 мл суспензии.

2. Буферный фосфатно-солевой раствор поваренной соли (pH—7,2). Раствор готовят из 23,3 мл 0,15 М KHPO4 и 76,1 мл 0,15 М Na_2HPO_4.

3. Таниновая кислота. Каждый раз перед опытом готовят разведение таниновой кислоты 1 : 25.000 на фосфатно-солевом буфере (pH 7,2).

4. Раствор нормальной кроличьей сыворотки. Накануне опыта у здорового кролика берут кровь. На следующий день отсасывают сыворотку, инактивируют при 56° С 30 минут и разводят фосфатно-солевым буфером в отношении 1 : 250 и 1 : 100 (pH 7,0).

5. Антиген. Антигеном для реакци ислужит стерильно взятая жидкость из эхинококкового пузыря человека или барана.

Жидкость нужно хранить в запаянных ампулах в холодильнике при температуре +4° С. Для повышения активности антигена жидкость можно диализировать в колодийном или в целлофановом мешочке в течение 24 часов против проточной водопроводной воды, а затем сгустить до $^1/_3$ объема под вентилятором и перед употреблением разводить 1 : 5 или 1 : 10 фосфатно-солевым буфером. Каждую новую серию антигена необходимо проверить в отношении ее активности и специфичности в реакции с сыворотками заведомо больных эхинококкозом (альвеококкозом) и здоровых людей.

6. Исследуемая сыворотка. Сыворотку перед употреблением инактивируют при +56° в течение 30 минут и адсорбируют отмытыми нативными эритроцитами барана для удаления неспецифических белков. С этой целью по 1—2 капли эритроцитов добавляют к сыворотке, выдерживают смесь в течение 15 минут при комнатной температуре и затем центрифугируют 10 минут при 2000 об/мин. После адсорбции сыворотку разводят 1 : 10 кроличьей сывороткой, разведенной фосфатно-солевым буфером 1 : 100.

б) Обработка бараньих эритроцитов таниновой кислотой

Половину полученной 2,5%-ной суспензии (25 мл) нативных эритроцитов барана соединяют с равным объемом раствора таниновой кислоты (1 : 50.000). Выдерживают 10 минут при 37° С, тщательно трижды отмывают от таннина фосфатно-солевым буфером путем центрифугирования в течение 10 минут при 2000 об/мин, и ресуспендируют в фосфатно-солевом буфере до получения 2,5% суспензии.

в) Сенсибилизация эритроцитов антигеном

8—10 мл таннированных (обработанных таниновой кислотой) эритроцитов соединяют с равным объемом антигена

и оставляют на 15 минут при комнатной температуре. Смесь отмывают путем центрифугирования в течение 5 минут при 1000 об/мин в кроличьей сыворотке, разведенной 1 : 250 фосфатно-солевым буфером и вновь центрифугируют 5 минут при 1000 об/мин. Полученный осадок соединяют с 6,0—8,0 мл кроличьей сыворотки, разведенной 1 : 250 фосфатно-солевым буфером, в результате чего получают 2% суспензию сенсибилизированных антигеном эритроцитов.

г) Постановка реакции

Реакцию ставят на досках из плексиглаза с 4-я рядами луночек, диаметром 2 см (по 10 луночек в ряде). Из исследуемой сыворотки готовят необходимые разведения (от 1 : 10 до 1 : 5120) на 1%-ном растворе нормальной кроличьей сыворотки (разведенной фосфатно-солевым буфером). Для этого в лунки первого ряда (начиная со второй) наливают с помощью градуированной пипетки по 1 мл 1%-ного раствора кроличьей сыворотки. В первую лунку первого и второго ряда помещают по 0,5 мл испытуемой сыворотки, инактивированной, обработанной эритроцитами и разведенной 1 : 10 кроличьей сывороткой. Во вторую лунку первого ряда, содержащую кроличью сыворотку, добавляют 1 мл испытуемой сыворотки (разведенной 1 : 10) и переносят из нее 0,5 мл смеси в ту же лунку второго ряда, а 1 мл — в следующую лунку первого ряда и так до конца обоих рядов.

Во все лунки первого ряда добавляют по 1—2 капли сенсибилизированных антигеном эритроцитов барана, а в лунки второго ряда эритроциты барана, обработанные таннином кислотой, но без антигена (контрольный ряд). Реакцию оценивают через 5—6 часов (можно и на следующий день) после выдерживания при комнатной температуре.

д) Оценка реакции

Реакция отрицательная — эритроциты в первом ряду лунок (испытуемая сыворотка + сенсибилизированные антигеном эритроциты барана) не склеиваются и компактным комочком остаются на дне лунок.

Реакция положительная — эритроциты в первом ряду лунок склеиваются и равномерным слоем покрывают дно лунки, образуя как бы «зонтик»; в контрольном ряду несклеившиеся эритроциты образуют комочки на дне лунок.

Титр реакции оценивают по последнему разведению сыворотки, давшему положительную реакцию.

2) АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Внутрикожная аллергическая реакция (реакция Кацони)

Реакция согласно данным литературы дает положительный результат у больных эхинококкозом и альвеококкозом в 80—95% случаев. Процент ложноположительных реакций на введение эхинококкового антигена у лиц с другими заболеваниями колеблется от 2 до 10. Выпадение ложно-положительных реакций отмечается чаще при злокачественных новообразованиях, туберкулезе и кистах непаразитарной этиологии.

Внутрикожная реакция в отдельных случаях может вызывать развитие анафилактических явлений (вплоть до шока), особенно у лиц, сенсибилизированных предшествующими введениями эхинококкового антигена. Поэтому, хотя реакцию можно применять в больничных условиях, но при ее постановке необходимо соблюдать следующие предосторожности:

а) не допускать повторной постановки реакции одному и тому же лицу, для чего тщательно опрашивать каждого обследуемого с целью выяснения не ставилась ли внутрикожная проба когда-либо раньше;

б) иметь при постановке реакции набор противошоковых средств.

Выведение больных из анафилактического шока, возникшего при повторной постановке реакции Кацони или при разрыве эхинококковой кисты:

а) всегда иметь стерильный набор (шприцы, иглы, система для капельницы, перевязочный материал), а также резиновый жгут;

б) при появлении первых признаков шока: 1) обколоть место введения антигена раствором адреналина 1 : 1000 0,5—1,0 м, 2) одновременно ввести 1 мл адреналина подкожно. В дальнейшем продолжать введение адреналина до выведения больного из коллапса, 3) быстро наложить жгут выше места введения антигена, 4) уложить больного горизонтально, обложить горячими грелками, 5) ввести глюкортикостероиды — преднизолон 30—40 мг или гидрокортизон 100 мг внутривенно в изотоническом растворе глюкозы или поваренной соли. При необходимости введения глюкокортикоидов повторяют, 6) ввести внутривенно 10% раствор хлористого кальция 10—15 мл и 1—2 мл димедрола, супрастина или пипольфена, 7) вводить сердечные препараты (кордиамин, строфантин, коффеин).

Все мероприятия продолжаются до полного выведения

больного из состояния шока, восстановления сердечной деятельности.

Следует учитывать, что реакция не пригодна для выявления рецидивов болезни, так как нередко остается положительной в течение длительного времени после удаления паразита.

Для постановки реакции требуется два туберкулиновых шприца с тонкими иглами, спирт, вата, стерильный физиологический раствор в ампулах, эхинококковый антиген (стерильный в ампулах).

Антигеном для внутрикожной реакции служит жидкость из эхинококковых пузырей животных, содержащих сколексы, взятая стерильно и проверенная на стерильность и токсичность обычными методами.

Методика постановки реакции

Внутреннюю поверхность предплечья тщательно протирают спиртом, после чего вводят внутрикожно туберкулиновым шприцом с тонкой иглой 0,1—0,2 мл антигена. Для контроля в обработанную спиртом внутреннюю поверхность другой руки с помощью второго шприца вводят физиологический раствор в том же объеме. На местах инъекций образуются папулы беловатого или желтоватого цвета, диаметром 0,7—1,0 см, которые для наглядности можно обвести чернилами или тушью.

Папула, образовавшаяся на месте введения физиологического раствора, обычно исчезает через 20—30 минут. Если папула сохраняется или даже увеличивается, то при наличии увеличения папулы на месте введения антигена реакцию все же нельзя расценивать как положительную.

При положительной реакции папула, образовавшаяся на месте введения антигена, постепенно увеличивается, становится напряженной, белого или желтого (если у больного желтуха), реже розового цвета с неровными языкообразными краями. В окружности ее появляется гиперемия, более выраженная около папулы. Помимо этой, так называемой, ранней реакции, может быть и «поздняя» реакция, которая проявляется через несколько часов или через сутки в виде резко выраженной гиперемии и отека тканей на месте введения антигена.

Оценка реакции

Реакцию оценивают через 30 минут после введения антигена (ранняя реакция) и через 24 часа (поздняя реакция).

Ранняя реакция:

Реакция отрицательная (—) — увеличения папулы не на-

ступает, иногда появляется небольшая, быстро исчезающая гиперемия;

Реакция сомнительная (+—) — папула на месте введения антигена достигает диаметра 1,5 см, но края ее лишены резко выраженных языкообразных выростов, небольшая гиперемия; держится менее 2 часов.

Реакция положительная (+) — папула на месте введения антигена увеличивается в диаметре до 2-х см, гиперемия — до 2—2,5 см и более; может появиться отек тканей; сохраняется не менее 2 часов.

Реакция резко положительная (++) — размер папулы на месте введения антигена достигает 3—4 см, гиперемия с отеком распространяется на все предплечье, сохраняется несколько часов, иногда до суток.

Поздняя реакция (оценивается через 24 часа):

Реакция отрицательная (—) — небольшая гиперемия;

Реакция сомнительная (+—) — гиперемия менее 5 см, без стека.

Реакция положительная (+) — гиперемия более 5—6 см диаметром, отек, иногда сопровождающийся зудом.

IV. Лечение

Хирургическое лечение

В настоящее время единственным радикальным способом лечения эхинококковой болезни является раннее хирургическое вмешательство.

При эхинококке, если технически это не представляется трудным (киста сальника, киста на ножке, исходящая из переднего края печени и др.), лучше произвести цистэктомию — удаление кисты вместе с фиброзной оболочкой. Если же такая операция сложна, то не менее радикальной может оказаться операция эхинококкэктомии, технически очень простая. Кисту пунктируют толстой иглой, из нее по возможности, эвакуируют жидкое содержимое, затем через ту же иглу вводят на 2—3 минуты формалин. Вслед за этим кисту вскрывают и из нее удаляют хитиновую оболочку, дочерние пузыри (если таковые имеются) и остатки жидкости, которые отсасываются вакуум-аппаратом. Фиброзную оболочку капсулы оставляют, но тщательно изнутри протирают 2—4% раствором формалина. Для того, чтобы полость кисты облитерировалась, предложено несколько приемов. Дельбэ рекомендовал капитонаж (кисетные швы, сближающие стенки кисты), Р. П. Аскерханов и И. Л. Брегадзе — введение в полость кисты сальника на ножке, Н. Ф. Березкин — вворачивание стенки опорожнившейся кисты внутрь

с частичным иссечением фиброзной капсулы. Все эти способы относятся к так называемым «закрытым», «одномоментным» и являются наиболее эффективными.

При эхинококке легкого производится тракотомия в 5 межреберьи, а затем киста либо вылущивается вместе с фиброзной капсулой, либо производится более щадящая операция— эхинококкэктомия с удалением содержимого кисты и последующей обработкой фиброзной капсулы по А. А. Вишневскому. В некоторых случаях производят краевую сегментарную или долевую резекцию легкого.

При нагноившемся эхинококке применяется одномоментная , реже двухмоментная (вначале подшивание кисты, а через несколько дней вскрытие ее) открытая эхинококотомия.

При множественном эхинококкозе брюшной полости применяются двух- и трехэтапные операции.

Значительно более сложным является хирургическое лечение альвеококкоза печени, т. к. в далеко зашедших случаях возможности оперативного вмешательства резко ограничены. Из-за поздней диагностики большинство больных оперируют тогда, когда радикальная операция невозможна (прорастание паразитарной «опухоли» в нижнюю полу вену или в ворота печени). Однако и в этих случаях, можно применять хирургическое лечение. Пользуясь медленным течением заболевания, можно оперировать в два этапа, а кроме того можно продлить жизнь больным частичной резекцией паразитарной опухоли или вскрытием полости распада в комплексе с местной (инъекции в узлы 2% формалина, 0,1% трипафлавина, спирта) химиотерапией.

Консервативное лечение

Тяжелые иноперабельные больные эхинококковой болезнью нуждаются в комплексной патогенетической и симптоматической терапии, включающей: полноценное белково-витаминное питание (мясо, творог, вареная рыба, зелень, фрукты и т. д.), назначение легких желчегонных средств, спазмолитиков, а также препаратов способствующих улучшению функционального состояния печени — витамины, печеночные препараты (серипар и т. п.), кокарбоксилаза и, липотропные средства — липоксин, метионин, холин-хлорид.

В случаях присоединения вторичной инфекции желчных путей, инфицирования кисты или полости распада необходимо назначение сульфонамидов и антибиотиков широкого спектра действия.

Больным альвеококкозом с нарушением питания и снижением альбуминовых фракций белка сыворотки крови (о чем

можно судить по нормальным или сниженным цифрам содержания общего белка сыворотки крови при удовлетворительной функциональной способности почек) целесообразно переливание белковых заменителей крови, сухой плазмы и полиглюкина по 100—150 мл 1—2 раза в неделю.

При длительной желтухе необходимо капельное введение глюкозы и изотонических растворов поваренной соли, назначение витамина К3 (викасола), а также солей кальция и магния, так как в связи с нарушением поступления желчи в кишечник всасывание этих веществ нарушается и могут возникнуть признаки деминерализации (слабость, судороги, рвота, остеопороз и т. д.).

У больных с нарушением функционального состояния почек в диэте следует ограничивать количество белка; в тяжелых случаях назначают только яичный белок, из медикаментов — небольшие дозы диуретических средств, аскарбиновую кислоту, рутин и др.

V. Профилактики эхинококкоза и альвеококкоза

1. Общественная профилактика

Меры общественной профилактики эхинококкоза и альвеококкоза заключаются в охране от заражения населения, предупреждении заражения собак и сельскохозяйственных животных (последнее в отношении эхинококкоза).

С целью охраны от заражения населения необходимо проводить систематическую санитарно-просветительную работу, разъясняя всеми доступными методами (лекции, беседы, выступления по радио, телевидению, в печати) и используя наглядные пособия (плакаты, листовки, брошюры, кино и пр.) пути заражения, роль собак и других плотоядных в передаче инвазии человеку и необходимые меры личной профилактики.

Большое значение имеет уничтожение безнадзорных собак, которое должно организовываться районными, сельскими, поселковыми советами депутатов трудящихся и районными заготовительными конторами союза потребительных обществ. Собаки, принадлежащие сельским жителям, должны содержаться на привязи и подвергаться дегельминтизации на ветеринарных пунктах не реже двух раз в год.

В целях предупреждения заражения собак эхинококкозом необходимо следить за тем, чтобы убой сельскохозяйственных животных производился только в местах, где обеспечено надежное уничтожение пораженных органов. Должен быть запрещен забой животных в кошарах, на прикошарных участках, на местах выпаса и расположения отар и гуртов.

Запрещается также подворный убой животных. Все конфискаты продуктов убоя животных подлежат уничтожению, их нельзя вывозить на свалку или спускать в канализацию. На территории мест убоя категорически запрещается содержать собак. Необходимо организовать около каждого населенного пункта скотомогильники, соответствующие требованиям зоогигиены. При каждой отаре овец должны находиться специальные, обитые жестью и запирающиеся на замок, ящики, в которых хранятся трупы овец до установления ветеринарным специалистом причины смерти животных. В этих ящиках трупы затем вывозятся на скотомогильники или утильустановки.

Для предупреждения заражения собак альвеококкозом нельзя допускать их бродяжничества и охоты за дикими грызунами.

Категорически запрещается скармливать собакам тушки убитых на охоте грызунов и насекомоядных животных.

2. Личная профилактика

Меры личной профилактики заключаются в недопущении тесного контакта с собаками, мытье рук перед едой, после работы, прогулок и пр., соблюдении осторожности при разделке шкур диких животных и охоте на них, тщательной влажной уборке помещения, где производится разделка шкур. Необходимо также тщательно мыть овощи, ягоды, зелень, употребляемые в пищу в сыром виде, и использовать для питья и хозяйственных нужд кипяченую воду.

3. Организация массовых обследований населения с целью выявления больных эхинококкозом и альвеококкозом

В местах неблагополучных по эхинококкозу или альвеококкозу целесообразно организовать массовые обследования населения с помощью реакции латекс-агглютинации (см. стр. 12), клинического осмотра и тщательного анамнеза. Целью таких обследований является раннее выявление больных эхинококкозом и альвеококкозом, так как запущенные случаи заболевания не поддаются уже лечению. Обследованию в первую очередь подлежат лица, возможность заражения которых наиболее велика. К их числу относятся охотники, пастухи, чабаны, лица, занимающиеся разделкой шкур плотоядных, сборщики дикорастущих ягод и другие группы населения, наиболее часто контактирующие с собаками или подвергающиеся риску заражения из природных очагов. Необходимо также обследовать всех членов семей, в которых

имеются больные эхинококкозом или альвеококкозом, так как возможно существование «семейных очагов» инвазии.

При клиническом осмотре населения особенно внимательно надо исследовать печень (пальпация и перкуссия) и органы грудной клетки (массовая флюорография). Обнаружение в крови эозинофилии, особенно при одновременном увеличении печени, должно насторожить врача в отношении возможности наличия эхинококка или альвеококка.

Лиц с положительными иммунологическими реакциями и клиническими проявлениями инвазии следует немедленно госпитализировать для более тщательного обследования. При отсутствии клинических показаний за лицами с положительным результатом иммунологического обследования нужно установить наблюдение с повторной постановкой серологических реакций. В случае нарастания титра реакции необходима госпитализация и возможно пробная лапоратомия.

Для опроса населения с целью выявления путей и условий, способствующих распространению инвазии следует пользоваться специальными эпидкартами (см. приложение: карта индивидуального обследования на эхинококкоз (альвеококкоз).

КАРТА ИНДИВИДУАЛЬНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

на эхинококкоз (альвеококкоз)

1. Фамилия, имя, отчество . . . . . .
. . . . . .
2. Пол . . . . . .
3. Возраст . . . . . .
4. Национальность . . . . . .
5. Домашний адрес . . . . . .
6. Местный или приезжий (подчеркнуть)
7. Где, когда проживал временно и как долго . . . . .
. . . . . .
8. Откуда приехал . . . . . .
9. Род занятий . . . . . .
10. Занимается ли охотой (на каких животных) . . .
11. Где охотился (ландшафт и его элементы: тайга, степь, лесостепь и пр.) . . . . . .
12. Занимается ли и где разделкой тушек и съемкой шкурок с диких животных (каких), собак . . . . . .
13. Имеет ли собак, с какого времени (охотничья, пастушья, дворовая, порода собак) . . . . . .
14. Содержание собаки (охотится ли на мелких грызунов, имеет ли доступ к площадкам для убоя животных, чем кормят собак) . . . . . .
15. Степень контакта с собакой (держится на привязи или имеет доступ в жилые помещения) . . . . . .
16. Пил ли когда-нибудь воду из водоемов в природе, каких, где . . . . . .
17. Занимается ли сбором ягод (каких), дикого чеснока, трав, грибов и др. . . . . .

18. Результат иммунологического обследования.

а) реакция латекс-агглютинации . . . . . .

б) реакция Кацони . . . . . .

19. Результат рентгенологического исследования . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

20. Данные анамнеза . . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

21. Данные клинического обследования . . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

22. Дата заполнения карты . . . . . .

23. Фамилия и должность заполняющего . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

gost.e-ecolog.ru