МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

ИНСТРУКЦИЯ

ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ШИГЕЛЛАМИ, САЛМОНЕЛЛАМИ И ЭНТЕРОПАТОГЕННЫМИ КИШЕЧНЫМИ ПАЛОЧКАМИ

«МЕДИЦИНА» — 1967

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

ИНСТРУКЦИЯ

ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ШИГЕЛЛАМИ, САЛМОНЕЛЛАМИ И ЭНТЕРОПАТОГЕННЫМИ КИШЕЧНЫМИ ПАЛОЧКАМИ

Под общей редакцией
Ю. И. ЛИТИНСКОГО
и М. Л. СМИРНОВОЙ-МУТУШЕВОЙ

ИЗДАТЕЛЬСТВО МЕДИЦИНА
МОСКВА 1967

В СОСТАВЛЕНИИ ИНСТРУКЦИИ ПРИНИМАЛИ УЧАСТИЕ:

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР

Ю. И. Литинский, М. А. Смирнова-Мутушева, В. А. Килессо

Московский институт эпидемиологии и микробиологии Министерства здравоохранения РСФСР

Р. В. Эпштейн-Литвак, Ф. Л. Вильшанская, М. О. Биргер, Н. А. Краскина

Ленинградский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Министерства здравоохранения РСФСР

Э. М. Новгородская

Государственный контрольный институт медицинских биологических препаратов имени Тарасевича Министерства здравоохранения СССР

Е. Д. Равич-Биргер

Московский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени Мечникова Министерства здравоохранения СССР

И. В. Голубева, В. А. Альтгаузен-Рагинская, Н. А. Хоменко

Седьмая инфекционная клиническая больница Москвы

Е. Г. Мельник

Главное санитарно-эпидемиологическое управление Министерства здравоохранения СССР

Ю. П. Мусихина

5—3—5

заказное издание

Утверждено
Начальником Главного
санитарно-эпидемиологического
управления
Минздрава СССР
П. ЛЯРСКИМ
11 мая 1966 г.
№ 629—66

I. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Острые кишечные заболевания бактериальной природы обычно вызываются патогенными бактериями семейства кишечных: салмонеллами (в том числе салмонеллами тифа, паратифа А, паратифа В), шигеллами, эшерихиями (энтеропатогенные кишечные палочки). Во всех случаях наиболее достоверным методом для подтверждения диагноза является выделение возбудителя, поэтому при всех подобных заболеваниях применяется бактериологический метод исследования.

В связи с тем что высев этиологического агента не всегда удается, значительную помощь в диагностике кишечных заболеваний оказывают серологические исследования.

Исследования для обнаружения патогенных кишечных микробов производятся с целью:

а) диагностики острого и хронического заболевания;

б) выявления бактерионосительства у реконвалесцентов перед выпиской из больницы;

в) выявления источника заболевания;

г) выявления бактерионосителей среди работников пищевых объектов, детских и лечебных учреждений, а также других лиц, приравненных к упомянутым группам.

Получение положительного результата при любом исследовании должно быть правильно истолковано в зависимости от совокупности обстоятельств: наличия заболевания у самого обследуемого или в его окружении, симптомов этого заболевания, характера материала, доставленного для исследования, профилактических или диагностических целей исследования и т. д.

Первоначальное представление о принадлежности микроба к семейству кишечных возникает на основании изучения его формы (палочки) и отношения к окраске по Граму (грамотрицательные). Однако все микробы семейства кишечных морфологически подобны, в связи с чем микроскопические признаки не являются дифференциальными. Основные различия между отдельными представителями этого семейства заключаются в разном метаболизме и антигенной структуре. Отсюда следует, что идентификация патогенных кишечных бактерий построена на определении их ферментативной и серологической характеристики.

Первичное выделение проводят на питательных средах с лактозой, позволяющих выявить разное отношение микробов к этому углеводу. Отсутствие способности ферментировать лактозу в первые сутки является одним из кардинальных дифференциальных признаков для патогенных микробов семейства кишечных (за исключением энтеропатогенных кишечных палочек). Дальнейшая идентификация основывается на способности расщеплять углеводы, мочевину и образовывать летучие продукты метаболизма (индол, сероводород). Идентификация заканчивается реакцией агглютинации с видовыми, типовыми и групповыми диагностическими сыворотками; она позволяет определить антигенную формулу изучаемой культуры, специфичную для рода, вида, подвида и типа.

Основные биохимические признаки некоторых родов семейства кишечных бактерий представлены в табл. 1.

Основными возбудителями острых кишечных инфекций, возникающих в виде спорадических заболеваний или эпидемических вспышек, являются шигеллы и сальмонеллы тифа и паратифов А и В. Прочие сальмонеллы чаще служат причиной пищевых токсикоинфекций, эпидемиология которых носит иной характер. Энтеропатогенные кишечные палочки являются, как правило, возбудителями колиэнтеритов у маленьких детей. Нередко имеют место смешанные инфекции или возникновение заболеваний, вызванных одним кишечным микробом на фоне носительства другого.

Полиэтиологичность кишечных заболеваний, сходная клиническая симптоматика при разных возбудителях и наличие стертых форм заболеваний диктуют необходи-

мость проводить исследование, не упуская возможности выделения патогенного представителя любого из родов семейства кишечных.

Таблица 1

Биохимические свойства некоторых родов семейства кишечных

Род микроба	Подвижность	Расщепление				Образование	
		лактозы	глюкозы	сахарозы	мочевины	сероводорода	индола
Эшерихии	±	++	++	++	∓	+	±
Салмонеллы . . .	±	—	++ +—	—	—	±	—
Шигеллы	—	— (+) Зонне	+—	— (+)	—	—	— +
Протеи	+	—	++	—	+	±	±

Условные обозначения: + расщепляет (образует); — не расщепляет (не образует); ++ расщепляет с образованием кислоты и газа; +— расщепляет с образованием кислоты без газа; ± большинство представителей расщепляет (образует); ∓ большинство представителей не расщепляет (не образует); (+) замедленное расщепление.

Примечание. Только шигеллы не обладают жгутиками и неподвижны; только протеи постоянно ферментируют мочевину.

II. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

1. Материал для исследования

Основным материалом для исследования служат испражнения. При заболеваниях, протекающих по типу пищевых токсикоинфекций, весьма целесообразно также исследование рвотных масс и промывных вод желудка. Кроме того, материалом для выделения бактерий являются кровь, моча, желчь, органы трупа и в некоторых случаях пунктат костного мозга, соскоб розеол и т. д.

При остром кишечном заболевании выделение из фекалий возбудителя — шигелл, салмонелл и энтеропатогенных кишечных палочек — удается тем чаще, чем раньше от начала заболевания производят исследование; особенно важно его провести до начала лечения антибиотиками[1].

Появление у больного повторно некоторых, даже слабо выраженных, клинических симптомов (повышение температуры до 37°, незначительное ухудшение характера стула, его учащение и другие «микросимптомы»), как правило, сопровождается увеличением концентрации возбудителя в испражнениях.

Многократное бактериологическое исследование, производимое по обоснованным клиническим показаниям, увеличивает возможность обнаружения микробов, т. е. улучшает диагностику, уточняет сроки бактериовыделения и выписки, что весьма важно для своевременного и правильного лечения и проведения соответствующих противоэпидемических мероприятий.

---

[1] В больничных условиях материал для первого исследования следует забирать в приемном покое.

При брюшном тифе и паратифах выделение возбудителей из фекалий и мочи является наиболее успешным с конца 2-й недели заболевания. При отрицательных результатах проводят повторные исследования с промежутками в 3—6 дней.

На 1—2-й неделе заболевания брюшным тифом или паратифами возбудителя легче всего выделить из крови (гемокультура). При исследовании на бактерионосительство дополнительным материалом для исследования служит желчь (дуоденальное содержимое).

Бактериологическое исследование органов трупа нужно производить как можно быстрее после смерти. В случае смерти от острых кишечных заболеваний исследованию подлежат: содержимое толстых и тонких кишок, отрезки кишечника, кусочки печени, селезенки, желчь, кровь, костный мозг, мезентериальные железы.

Материал для посева доставляют в стерильной посуде (пробирки, баночки и стаканчики), снабженной бумажной наклейкой, где указывается фамилия обследуемого и наименование исследуемого материала. К материалу, направленному в лабораторию на исследование, должен быть приложен препроводительный документ, в котором излагаются следующие данные: наименование учреждения, направляющего материал, фамилия, имя, возраст обследуемого, адрес, место работы, должность (если материал взят у ребенка, то указывают, посещает ли он детское учреждение и какое), дата заболевания, диагноз или другие показания к анализу, дата и время сбора материала, фамилия и должность лица, собиравшего материал.

Сбор испражнений для исследования. Наиболее полноценным материалом для исследования являются испражнения после дефекации. При естественной дефекации сбор производят с судна, горшка, пеленки стерильным деревянным шпателем или стерильной стеклянной палочкой, вмонтированными в ватную пробку пробирки. При наличии в испражнениях слизи или гноя их необходимо включать в посевной материал.

Судна и горшки после использования следует дезинфицировать осветленным раствором хлорной извести (но не лизолом или карболовой кислотой), а затем многократно и тщательно промывать горячей водой для

того, чтобы на них не оставалось следов дезинфицирующих веществ.

Испражнения можно собирать также непосредственно из прямой кишки с помощью ректальной трубки (трубка Цимана). Стеклянная ректальная трубка имеет диаметр от 5 мм (для детей) до 10 мм (для взрослых) и длину около 150 мм; нижний конец ее запаян наглухо, как в пробирке, и на расстоянии 15—20 мм от него имеются два отверстия с оплавленными краями, расположенные с двух сторон (одно несколько ниже другого). Открытый конец трубки закрывают ватой, трубку через ватную или ватно-марлевую пробку опускают в пробирку и в таком виде стерилизуют. Такие трубки вводят в прямую кишку на 8—10 см. Собирая материал ректальной трубкой, надо добиваться получения достаточного для посева количества кала.

При профилактическом обследовании здоровых людей на носительство салмонелл исследуемым лицам необходимо давать предварительно (за 2—3 часа) 25—30 г сернокислой магнезии, которая является желчегонным и слабительным [1]. Сбор испражнений производят на стерильные эмалированные тарелки, Можно использовать также тазы, лотки, картонные тарелки, картонные стаканчики (при массовых обследованиях) или ректальные трубки после дефекации.

Больным и реконвалесцентам давать слабительное не рекомендуется. В этих случаях не следует также пользоваться ректальной трубкой для взятия материала.

Материал для исследования, как правило, не рекомендуется собирать в период применения антибиотиков.

При невозможности немедленного посева собранные порции испражнений или ректальную трубку с материалом помещают в пробирки с консервирующим раствором. В качестве консерванта лучше всего применять глицериновую смесь. Удовлетворительный результат дает также буферный раствор фосфорнокислых солей (pH 8,0). В пробирку наливают 5 мл консерванта; количество помещенных в него испражнений должно составлять около $^1/_3$ объема консерванта (приготовление консервирующих растворов см. в *Приложении 2*).

---

[1] При отсутствии сернокислой магнезии можно давать глауберову соль в половинной дозе.

Сбор мочи. Мочу (20—30 мл) собирают в стерильную посуду, перед посевом ее центрифугируют и осадок засевают на среды обогащения и плотные дифференциальные среды.

Взятие крови. Для бактериологической диагностики брюшного тифа и паратифов на 1-й неделе заболевания берут 5—10 мл крови стерильным шприцем из локтевой вены и засевают в соотношении 1:10 в одну из сред обогащения: желчную среду Раппопорт или бульон с 10—20% бычьей желчи (см. *Приложение 2*). Посев крови производят у постели больного с соблюдением правил асептики.

Хотя легче выделить культуру из крови в течение 1—2-й недели заболевания, ее можно высеять на протяжении всего лихорадочного периода и во время рецидивов, увеличивая количество засеваемой крови до 15—20 мл. Соотношение объемов засеваемой крови и питательной среды должно сохраняться и в этом случае.

При отсутствии желчи кровь можно засевать по способу Клодницкого и Самсонова в 80—100 мл стерильной дистиллированной или водопроводной воды.

При получении для исследования уже свернувшейся крови часть сыворотки отсасывают и используют для реакции Видаля, а сгусток после измельчения может быть посеян на желчные среды.

Взятие желчи (дуоденального содержимого). Пробы содержимого двенадцатиперстной кишки берут при помощи дуоденального зонда. Зондирование производят в лечебном учреждении или на бактерионосительском пункте. (Возможность применения этого метода исследования клиницист должен решать в каждом случае строго индивидуально.)

Зонд вводят обследуемому натощак. Через 15 минут после того как из зонда выделится первая порция дуоденального сока, в двенадцатиперстную кишку через зонд вводят 50 мл 30% стерильного раствора сернокислой магнезии. Этот раздражитель вызывает опорожнение желчного пузыря.

Необходимо собрать в отдельные стерильные пробирки порцию А из двенадцатиперстной кишки, порцию В из желчного пузыря и порцию С из желчных протоков. В лабораторию доставляют пробирки с двумя или тре-

мя порциями желчи (А и В или А, В, С). Можно посеять и каждую порцию отдельно, и их смесь.

Дуоденальное содержимое имеет характерное зеленовато-желтое окрашивание, и для него свойственна щелочная реакция, поэтому до посева в пробах проверяют реакцию лакмусовой бумажкой. Если обнаружена кислая реакция и материал представляет собой белую жидкость с хлопьевидным осадком, что характерно для желудочного сока, то такой материал исследованию не подлежит.

Собранный материал необходимо доставлять в лабораторию без промедлений. Лишь в исключительных случаях допускается хранение материала не более суток в холодильнике при температуре +2, +4°.

При транспортировке материала надо следить, чтобы жидкость в пробирках не смачивала ватные пробки, и предохранять собранный материал от замерзания.

2. Ход исследования испражнений, мочи, дуоденального содержимого, трупного материала

Первый день исследования (посев материала на элективные среды). При любых показаниях к исследованию посев испражнений производят на чашку с плотной дифференциально-диагностической средой Плоскирева и в селенитовую среду обогащения, которая значительно увеличивает высеваемость салмонелл и шигелл.

В зависимости от показаний к обследованию при отсутствии селенитовой среды для посева испражнений можно применять следующие среды:

а) при кишечных заболеваниях неясной этиологии, при обследованиях на носительство и с профилактической целью посев делают на чашки со средами Плоскирева, Левина (или Асель—Либермана) и на среду обогащения Мюллера с последующим высевом на висмут-сульфитагар;

б) у больных с подтвержденной этиологией заболевания (дизентерия, брюшной тиф, паратифы, прочие салмонеллезы), а также в очагах заболеваний с известным возбудителем можно проводить исследование целенаправленно — на шигеллы или на салмонеллы. В первом случае посев производят на одну чашку со сре-

дой Плоскирева и на одну — со средой Левина или Асель — Либермана; во втором случае — на чашки с теми же средами, а также обязательно на среду обогащения Мюллера или Кауфмана с последующим высевом на висмут-сульфитагар. (О приготовлении сред обогащения см. *Приложение 2*).

С целью выявления энтеропатогенных кишечных палочек у детей до 2 лет с дисфункцией кишечника и в окружении их делают дополнительный посев на чашку со средой Эндо или Асель—Либермана.

Посев мочи[1], желчи и трупного материала производят на те же среды.

Если испражнения доставлены в консерванте или среде обогащения, каплю взвеси испражнений наносят палочкой, вмонтированной в пробирку, пастеровской пипеткой или петлей на поверхность питательной среды у края чашки, тщательно растирают стерильным стеклянным или алюминиевым шпателем на небольшой площадке, а затем, оторвав шпатель от питательной среды, не прожигая его, делают посев по остальной поверхности среды.

При сборе испражнений ректальной трубкой после перемешивания ее содержимого с консервирующей жидкостью можно сделать ею же высев на чашку, после чего тщательно растереть материал шпателем.

Испражнения, доставленные без консерванта, суспендируют в физиологическом растворе в соотношении 1 : 10 и сеют, как указано выше. При наличии слизистых и гнойных примесей их следует включать в посевной материал.

Дуоденальное содержимое (желчь) засевают на чашку с плотной средой и во флаконы с бульоном в соотношении 1:10, после чего исходный материал оставляют в термостате. В течение последующих 3 дней делают высевы на плотные среды как из бульона, так и из пробирки с дуоденальным содержимым, которые в течение этого времени содержат в термостате при температуре 37°.

Кусочки паренхиматозных органов трупа растирают в стерильной фарфоровой ступке с физиологическим

---

[1] При посеве мочи в селенитовую среду обогащения последнюю берут в двойной концентрации и разводят пополам засеваемой мочой (см. *Приложение 2*).

раствором (1:5 — 1:10), после чего производят посев на плотные среды и среды обогащения.

На каждую чашку следует брать новую порцию любого посевного материала и в таком количестве, чтобы получить рост изолированных колоний.

Учитывая, что такие элективные среды, как среда Плоскирева и висмут-сульфитная, подавляют рост кишечных сапрофитов, целесообразно увеличить количество посевного материала на этих средах в 3—5 раз по сравнению со средами Эндо и Левина.

Непременным условием для получения изолированных колоний является отсутствие конденсата на поверхности питательной среды, что достигается розливом охлажденной до температуры 50° среды и ее подсушиванием. Готовить среду лучше накануне.

Для высокоэлективных сред (Плоскирева, висмут-сульфитной и др.) можно пользоваться крышками из картона, вырезанными на 0,5 см шире диаметра чашки. Картон впитывает пары жидкости и устраняет их конденсацию на поверхности питательной среды. В этом случае среду готовят в день посева. Картонные крышки стерилизуют отдельно от чашек.

При посеве испражнений в среды обогащения соблюдают соотношение посевного материала и среды 1:5. Засеянные чашки, пробирки со средами обогащения и др. помещают в термостат при температуре 37° на 18—20 часов.

Учитывая возможность неудачи первичного посева (отсутствие роста или сплошной рост), исследуемый материал хранят в холодильнике до следующего дня.

Второй день исследования. Через 18—20 часов производят просмотр посевов на чашках и отбор подозрительных колоний, а также высев из сред обогащения на плотные питательные среды.

Для отбора подозрительных колоний посевы на чашках со средами Плоскирева и Левина рассматривают простым глазом или с помощью лупы в проходящем дневном или искусственном свете; посевы на чашках с висмут-сульфитным агаром рассматривают в падающем свете.

Патогенные кишечные бактерии на всех средах растут в виде круглых колоний с ровными краями диаметром 1—2 мм. На средах с эозином и метиленовым синим

(Левина), среде Эндо, среде Асель — Либермана колонии шигелл и салмонелл бесцветные, прозрачные (реже слегка мутноватые), нежные. Колонии палочек Зонне более плотные, иногда белесоватые. На среде Плоскирева у всех патогенных микробов колонии также бесцветные, но более плотные и меньших размеров. На всех перечисленных средах шигеллы Зонне могут образовывать крупные, мутноватые колонии с изрезанными краями (так называемая плоская форма). На висмут-сульфитном агаре салмонеллы тифа и паратифов вырастают, как правило, в виде черных или серовато-зеленых колоний с черным центром. Почти все салмонеллы изменяют цвет этой среды так, что на месте снятой колонии остается черный след. Просмотр чашек с висмут-сульфитным агаром производят через 24 и 48 часов после посева.

Колонии, подозрительные в отношении принадлежности к шигеллам или салмонеллам, пересевают в пробирки с комбинированными средами: средой Ресселя или «скошенным столбиком с мочевиной». На комбинированной среде посев делают сначала штрихом по скошенной поверхности, а затем уколом в глубину столбика. С каждой чашки снимают не менее 3 подозрительных колоний. Пробирки с посевами инкубируют в термостате при температуре 37° до следующего дня.

Если на чашках подозрительные колонии отсутствуют, а посев на среды обогащения не производили, может быть дан отрицательный ответ. Если материал был посеян в среду обогащения, ответ выдают после учета результатов дополнительного высева. Высев из селенитовой среды обогащения производят на чашку со средой Плоскирева, а из сред Мюллера и Кауфмана — на чашку с висмут-сульфитным агаром.

Из посева желчи на бульон и исходной желчи, содержащихся в термостате, делают первый высев на чашки с висмут-сульфитным агаром и средой Плоскирева.

При исследовании на наличие энтеропатогенных кишечных палочек производят пробную агглютинацию на стекле подозрительных колоний со среды Эндо или Асель — Либермана. Посевы рассматривают в падающем или проходящем свете. Колонии энтеропатогенных кишечных палочек большей частью малинового цвета с фиолетовым оттенком, реже розовые, как правило, не

имеют металлического блеска. В случае роста однотипных колоний 10 из них испытывают в реакции агглютинации на стекле с комплексными сыворотками против наиболее распространенных серотипов (О111В4, О55В5, О26В6 и т. д.) [1].

В пробной агглютинации испытывают только часть колонии для того, чтобы в случае положительной реакции можно было выделить культуру из остальной части колонии для ее дальнейшей идентификации.

Если на чашке вырастает несколько видов колоний (типичные, с металлическим блеском и без такового, разного размера), то в пробной агглютинации испытывают все виды колоний.

Колонии, давшие положительную реакцию агглютинации с одной из сывороток, высевают на скошенный агар. Если микробы из всех отобранных колоний не агглютинировались, дается отрицательный ответ. При наличии бесцветных, прозрачных колоний, подозрительных на принадлежность к шигеллам и салмонеллам, их отсевают для дальнейшего изучения.

Если в результате прямого посева испражнений при исследовании как на шигеллы и салмонеллы, так и на патогенные эшерихии не выросло вообще ни одной колонии, необходимо произвести повторный высев, увеличив порцию засеваемого материала. При повторном отсутствии роста следует получить новый материал для анализа.

Третий день исследования. Через 48 часов производят идентификацию культур, высеянных накануне на среду Рессселя или «скошенный столбик», по ферментации лактозы, глюкозы и мочевины, а также по серологическим свойствам в реакции агглютинации на стекле с адсорбированными специфическими сыворотками. Предварительно следует убедиться в чистоте культуры, выросшей

---

[1] Смеси сывороток к энтеропатогенным кишечным палочкам, наиболее часто вызывающим острые кишечные заболевания у маленьких детей, выпускают производственные отделы институтов. Смеси можно приготовить и в лаборатории из неадсорбированных сывороток. Их составляют не более чем из 5 типовых сывороток; при этом разведение каждой сыворотки не должно быть больше 1 : 10. Например, в смесь из 5 сывороток берут по 1 мл сыворотки и 5 мл физиологического раствора. При В-титре не выше 1 : 200 следует делать разведение не более 1 : 5.

на среде Рессслля или «скошенном столбике с мочевиной». При сомнении в чистоте культуры производят рассев ее на чашки со слабо щелочным питательным агаром; при росте через 18—24 часа однородных колоний можно считать выделенную культуру чистой, при неоднородном росте все виды колоний отсевают на среду Рессслля или «скошенный столбик с мочевиной».

На этих средах в случае ферментации глюкозы реакция среды становится кислой и цвет индикатора в столбике изменяется. Если при расщеплении глюкозы, помимо кислоты, образуется газ, в среде появляются пузырьки. При ферментации лактозы изменяется цвет индикатора в скошенной части среды. При расщеплении мочевины увеличивается щелочность сред и цвет соответствующего индикатора меняется.

Если культуры, высеянные на «короткий» пестрый ряд, сбраживают лактозу и глюкозу с образованием газа, они принадлежат к разновидностям кишечной палочки. Если культуры расщепляют мочевину, они относятся к роду протеев. В этих случаях, если не был произведен посев в среду обогащения, дают отрицательный ответ.

Культуры, не расщепляющие лактозу и мочевину, но ферментирующие глюкозу, подвергают дальнейшему изучению. Исследуют морфологию выделенного микроба в мазке, окрашенном по Граму. Все бактерии семейства кишечных являются грамотрицательными палочками.

Культуры, ферментирующие глюкозу без газообразования, подозрительны как относящиеся к дизентерийным или брюшнотифозным.

Палочки, ферментирующие глюкозу с образованием газа, т. е. дающие в среде пузырьки, могут принадлежать к роду салмонелл.

Все подозрительные культуры пересевают на пестрый ряд состоящий из полужидких или жидких с поплавками сред с маннитом и сахарозой, а также на бульон для определения образования индола и сероводорода. С этой целью под пробку в пробирке с бульоном помещают две индикаторные бумажки (способ приготовления индикаторных бумажек см. в Приложении № 2). При наличии индола соответствующая бумажка краснеет, при выделении сероводорода — другая чернеет. Бульон можно заменить 1% пептонной водой.

Если посев был произведен на полужидкие среды с углеводами, они могут быть использованы для определения подвижности культуры. При употреблении жидких сред с поплавками для определения подвижности в пестрый ряд включают пробирку с полужидким агаром (0,2%).

Серологическая идентификация культур, ферментирующих глюкозу без газообразования. Ее производят путем постановки реакции агглютинации на стекле с адсорбированными сыворотками.

Реакцию ставят следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносят 3—4 капли различных сывороток. Петлю исследуемой культуры вносят в сыворотку и тщательно размешивают ее путем растирания круговыми движениями петли. После каждой сыворотки петлю прожигают на огне. Положительная реакция на стекле должна наступить в течение 1—3 минут.

В соответствии с частотой выделения разных видов возбудителей в целях экономии труда, времени и диагностических препаратов сыворотки для постановки реакции применяют в определенной последовательности.

Сначала испытывают культуру в реакции с агглютинирующей адсорбированной поливалентной сывороткой Флекснера, Ньюкестл, Зонне[1].

При наличии отрицательного результата культуру проверяют с адсорбированными брюшнотифозными сыворотками (9, Vi, *d*).

Если культура не агглютинируется О-сывороткой (9), но агглютинируется Vi-сывороткой, О-агглютинабильность может быть восстановлена путем разрушения Vi-антигена, расположенного на поверхности клетки и препятствующего реакции агглютинации с О-сывороткой. Разрушение Vi-антигена достигается путем нагревания культуры в водяной бане в течение часа при температуре 56°. Для агглютинации с О- и Vi-сыворотками культуру следует брать с косяка среды Ресселя или «скошенного столбика», а для агглютинации с Н-сывороткой (*d*) — из конденсационной воды.

---

[1] Поливалентные сыворотки готовят производственные отделы институтов. Приготовление в лаборатории смеси из адсорбированных сывороток не допускается, так как они не подлежат разведению.

В случае положительной реакции агглютинации на стекле с адсорбированными брюшнотифозными сыворотками серологическая идентификация культуры может считаться законченной.

При отсутствии агглютинации с этими сыворотками применяют другие агглютинирующие адсорбированные поливалентные сыворотки к шигеллам Бойда, Григорьева—Шига и Штуцера—Шмитца, Лардж—Сакса (3, 4, 5, 6, 7) и провизорных типов (8, 9, 10) [1].

При положительном результате реакции агглютинации на стекле с одной из поливалентных сывороток продолжают серологическую идентификацию культуры, для чего ее испытывают с адсорбированными сыворотками, входящими в состав поливалентной.

Например, если получена положительная реакция с поливалентной сывороткой Флекснера, Ньюкестл, Зонне, культуру испытывают раздельно с поливалентной агглютинирующей адсорбированной сывороткой Флекснера и с адсорбированными сыворотками Ньюкестл и Зонне.

Для шигелл, не имеющих подразделения на серологические типы, в случае положительной реакции с соответствующей моновалентной адсорбированной сывороткой серологическая идентификация может считаться законченной (Зонне, Ньюкестл, Штуцера—Шмитца, Григорьева—Шига).

При положительной реакции с поливалентными сыворотками Флекснера, Бойда, Лардж—Сакса и провизорных типов производят серологическое типирование согласно новой отечественной классификации дизентерийных бактерий (см. табл. 7):

а) для культур Флекснера с помощью типовых (I, II, III, IV, V) и групповых (3, 4; 6; 7, 8) сывороток;

б) для культур Бойда с помощью типовых (с 1 по 15) сывороток;

в) для культур Лардж—Сакса с помощью типовых (с 3 по 7) сывороток;

---

[1] Необходимо учесть, что кроме салмонеллы брюшного тифа, встречаются очень редко варианты салмонелл, не образующие газа при ферментации углеводов. Поэтому культуры, не агглютинирующиеся всеми перечисленными сыворотками, следует испытывать с салмонеллезными поливалентными сыворотками.

г) для культур провизорных типов с помощью типовых (с 8 по 10) сывороток.

Серологическая идентификация культур, ферментирующих глюкозу с образованием газа. Серологическую идентификацию газообразующих культур начинают с испытания их в реакции агглютинации на стекле с агглютинирующими адсорбированными поливалентными салмонеллезными О-сыворотками: групп А, В, С, Д, Е и редких групп.

При получении отрицательного результата следует проверить культуру в реакции агглютинации на стекле с адсорбированной сывороткой Ньюкестл (рецептор VI) [1].

При положительной реакции с одной из поливалентных салмонеллезных сывороток ставят реакцию раздельно с каждой из О-сывороток, входящих в поливалентную, для определения, к какой из групп по схеме Кауфмана—Уайта принадлежит выделенная культура.

Например, при положительной реакции агглютинации с поливалентной сывороткой групп А, В, С, D, Е культуры агглютинируют последовательно с монорецепторными салмонеллезными О-сыворотками (2, 4, 7, 8, 9, 3, 10).

После установления принадлежности к группе (А, В, С, D, Е или другой) испытывают культуру с адсорбированными монорецепторными Н-сыворотками против Н-антигенов специфической фазы салмонелл, входящих в данную группу. При этом Н-сыворотки применяют в порядке, соответствующем распространению видов салмонелл в данной местности. После определения специфической (1-й) фазы Н-антигена испытывают культуру в реакции на стекле с сыворотками против неспецифической (2-й) фазы Н-антигена и таким образом устанавливают антигенную формулу выделенной культуры (см. *Приложение 4*, табл. 9).

Реакцию агглютинации с адсорбированными (монорецепторными) сыворотками ставят на стекле по методике, описанной выше. При наличии соответствующего антигена агглютинация салмонелл монорецепторными сыворотками наступает в течение 1—2 минут.

[1] Среди дизентерийных культур Ньюкестл иногда встречаются газообразующие варианты, поэтому культуры грамотрицательных газообразующих палочек надо испытывать сывороткой Ньюкестл.

Для агглютинации с О-сыворотками культуру следует брать с верхней части скошенного агара, для агглютинации с Н-сыворотками — из конденсационной воды, где расположены наиболее подвижные особи.

В лаборатории нельзя готовить самостоятельно смеси из отдельных монорецепторных О- и Н-сывороток, так как они не подлежат разведению. Можно готовить смеси из неадсорбированных сывороток к представителям разных салмонелл (например, из сывороток к салмонеллам паратифа А, typhi murium, cholerae suis, newport, enteritidis, anatum. В этом случае берут по 1 части сывороток и добавляют 19 частей физиологического раствора, чтобы получить разведение каждой сыворотки 1 : 25. Эту смесь можно применять взамен адсорбированной поливалентной сыворотки групп А, В, С, D, Е.

Серологическая идентификация энтеропатогенных эшерихий. Культуры, выделенные с чашек со средой Эндо или Асель — Либермана, вновь испытывают в реакции агглютинации на стекле со смесью агглютинирующих ОВ-колисывороток.

Если культура, выросшая на скошенном агаре, не агглютинируется смесью ОВ-сывороток, выдается отрицательный ответ.

Культуры, дающие положительную реакцию в смеси сывороток, испытывают далее с каждой из типовых сывороток, входящих в данную смесь. Типовые сыворотки разводят физиологическим раствором в соотношении 1 : 5 — 1 : 10. При положительном результате агглютинация наступает быстро и носит крупнохлопчатый характер.

Если культура агглютинируется всеми или несколькими сыворотками, входящими в смесь, выдается отрицательный ответ.

При положительном результате с одной из сывороток и при отсутствии агглютинации в физиологическом растворе хлористого натрия ставят развернутую реакцию агглютинации в пробирках, начиная с разведения 1:50 и до титра сыворотки, указанного на ампуле, со взвесью живой культуры для определения титра В-антигена и с гретой (1 час при температуре 100°) — для определения О-антигена. Для приготовления взвеси культуру смывают физиологическим раствором с поверхности скошенного агара, после чего часть ее, отлитую в отдельную

пробирку, прогревают в водяной бане при температуре 100° в течение часа. Методика разведения сыворотки аналогична той, которая описана для постановки реакции Видаля (см. стр. 41).

Одновременно производят посев той же культуры на среду Ресселя с лактозой и глюкозой, на среды с маннитом и сахарозой и на бульон (или 1% пептонную воду) для обнаружения индола. Пробирки с посевами и штативы с реакцией агглютинации ставят в термостат на 18—20 часов.

Независимо от положительного или отрицательного результата серологического исследования все выделенные культуры и их дубликаты должны храниться в лаборатории вплоть до выдачи окончательного ответа.

Кроме серологической идентификации выделенных культур, на 3-й день исследования производят просмотр чашек с посевами из сред обогащения.

Подозрительные колонии отсевают на среду Ресселя или «скошенный столбик с мочевиной».

В случае применения селенитовой среды обогащения при отсутствии подозрительных колоний на чашке со средой Плоскирева (если результат первичного посева был также отрицательным) может быть выдан окончательный отрицательный ответ.

Чашки с висмут-сульфитным агаром, применявшимся для высева из среды Мюллера, независимо от результатов их просмотра оставляют в термостате еще на 24 часа. На 3-й день также просматривают чашки с первым высевом дуоденального содержимого из флаконов с бульоном. Подозрительные колонии пересевают на среду Ресселя или «скошенный столбик с мочевиной».

Независимо от наличия или отсутствия подозрительных колоний производят второй высев на чашки из флаконов с посевом дуоденального содержимого.

Кроме перечисленных выше обязательных методов, в случае необходимости на 3-й день могут быть произведены также некоторые дополнительные виды исследования: посевы для определения фаголизабильности выделенного микроба и его чувствительности к антибиотикам.

Определение чувствительности дизентерийных культур к поливалентному дизентерийному бактериофагу и брюшнотифозных культур к брюшнотифозному фагу

может оказать значительную помощь при их идентификации.

Проще всего определение фаголизабильности вести в бульоне по следующей методике: в 2 пробирки с бульоном (pH 7,6), разлитым по 4,5 мл, засевают изучаемую культуру, в одну из пробирок после посева добавляют 0,5 мл дизентерийного бактериофага, другая пробирка остается контрольной. Учет результатов проводят через 4—5 часов и через 18—20 часов инкубации при температуре 37°.

При положительном результате в опытной пробирке рост задержан, она остается прозрачной, в контрольной — микробы размножаются и бульон становится мутным.

Однако более четкие результаты дает испытание фаголизабильности на плотной среде. Для этого на хорошо подсушенную чашку со слабо щелочным агаром (pH 7,6) наносят пастеровской пипеткой большие капли смыва 18—20-часовой агаровой культуры. На подсохшие капли культуры петлей или оттянутой пастеровской пипеткой наносят дизентерийный бактериофаг. Чашки подсушивают, после чего их перевертывают и помещают в термостат при температуре 37° на 18—20 часов. При положительном результате наблюдается задержка роста культуры на чашках с бактериофагом.

Культуры салмонелл испытывают на чувствительность к салмонеллезному О-фагу (см. стр. 50).

Для определения чувствительности микроба к наиболее широко применяемым антибиотикам смыв испытуемой культуры засевают сплошным газоном на чашку со слабо щелочным питательным агаром. Засеянные чашки подсушивают и на них, на расстоянии 2 см от края чашки, пинцетом накладывают бумажные диски, пропитанные различными антибиотиками. В настоящее время выпускают цветные диски: зеленые — пропитанные пенициллином, сиреневые — стрептомицином, синие — левомицетином, оранжевые — биомицином и ряд других. Чашки помещают в термостат при температуре 37° на 16—18 часов.

Отсутствие зоны задержки роста вокруг диска указывает на устойчивость микроба к данному антибиотику; зона задержки до 15 мм показывает, что микроб малочувствителен, от 15 до 25 мм — чувствителен и более 25 мм — высокочувствителен.

Эти методы определения чувствительности микробов к фагам и антибиотикам являются наиболее простыми и удобными для практических лабораторий.

В крупных, хорошо оснащенных лабораториях эти исследования можно производить при необходимости количественного определения методом серийных разведений, описанным в соответствующих руководствах.

Четвертый день исследования. Через 72 часа учитывают результаты посевов на пестрый ряд: ферментацию углеводов, образование индола и сероводорода, кисло- и щелочеобразование. Определяют подвижность бактерий по характеру роста на полужидких средах. Диффузный рост и помутнение всей среды указывают на подвижность микробов. Неподвижные бактерии растут только по ходу укола. Слабо подвижные варианты растут в виде отдельных мутных включений или ответвлений от роста по ходу укола. Подвижность можно определить также в раздавленной или висячей капле бульонной культуры.

Учитывают также результаты исследований чувствительности выделенных культур к бактериофагу и антибиотикам.

Таким образом, на 4-й день исследования для культур, выделенных из первичного посева, имеется сумма сведений об их антигенной структуре и биохимических свойствах, достаточная для окончательной идентификации штаммов с типичной характеристикой.

К роду шигелл относят культуры грамотрицательных неподвижных палочек, которые:

а) разлагают глюкозу без образования газа [1];

б) не разлагают в 1-е сутки лактозу;

в) не расщепляют мочевину;

г) обладают четкой серологической характеристикой, определяемой с помощью адсорбированных дизентерийных агглютинирующих сывороток (видовых, типовых, групповых);

д) имеют прочие ферментативные свойства, характерные для данного вида, типа (см. *Приложение 4,* табл. 5 и 6).

К роду салмонелл относят культуры грамотрицательных подвижных [2] палочек, которые:

[1] Об исключениях см. стр. 27 и 30.

[2] Об исключениях см. стр. 33.

а) сбраживают глюкозу и маннит с образованием или без образования газа;

б) не ферментируют лактозу, сахарозу и мочевину;

в) не образуют индола;

г) обладают четкой серологической характеристикой, определяемой с помощью адсорбированных монорецепторных О- и Н-салмонеллезных агглютинирующих сывороток [1].

При выделении подобных культур дается положительный ответ [2].

Если же имеются отклонения от типичной серологической или биохимической характеристики, культуру подвергают дальнейшему изучению на месте или в более квалифицированной лаборатории, как это описано в соответствующей главе (см. стр. 27).

При исследованиях на патогенные серотипы кишечной палочки учитывают результаты развернутой реакции агглютинации с живой и гретой культурой.

Реакция считается положительной, если имеется агглютинация гретой культуры на 3—4 креста в пробирке с разведением сыворотки не ниже половины ее титра и живой культуры не менее чем в 1—2-м разведениях сыворотки (1:50 — 1:100).

На 4-й день исследования производят также второй просмотр чашек с посевами на висмут-сульфитный агар. При отсутствии подозрительных колоний на висмут-сульфитном агаре и отрицательном результате прямого посева испражнений и мочи выдается отрицательный ответ.

В случае роста подозрительных колоний работа ведется так же и в той же последовательности, как описано для второго дня исследования.

Кроме того, в этот день производят просмотр чашек со вторым высевом дуоденального содержимого из бульона и третий высев дуоденального содержимого из бульона [3].

---

[1] Морфологические, биохимические и серологические свойства патогенных кишечных бактерий см. в таблицах *Приложения 4.*

[2] Исследование культур, выделенных из сред обогащения, ведется так же, как это описано для культур, выделенных из первичного посева, но с опозданием соответственно на 1—2 дня.

[3] Третий высев дуоденального содержимого производят в том случае, если из первых высевов выделить патогенные бактерии не удалось.

3. Исследование крови для ранней диагностики брюшного тифа, паратифов А и В и других салмонеллезных заболеваний

Первый день исследования. Кровь, засеянную в среду Раппопорт, желчный бульон или дистиллированную воду, помещают в термостат при температуре 37° на 18—20 часов.

Второй день исследования (через 24 часа). Производят просмотр посевов на средах обогащения. При росте салмонелл в первоначально прозрачной среде появляется помутнение, при росте газообразующих микробов в поплавке появляется пузырек газа. Если необходимо срочно получить ориентировочные данные о природе выделенной культуры, можно сделать из среды Раппопорт (или другой) препарат для определения подвижности микробов и окраски по Граму для просмотра в микроскопе.

В любом случае делают пересев с жидкой среды на чашки с дифференциальной средой Эндо или Левина. Так как благодаря стерильности крови микроб обычно выделяется в чистой культуре, можно дифференциальную среду заменить обычным питательным слабо щелочным агаром (pH 7,2—7,4).

Третий день исследования (через 48 часов). Просматривают чашки. Если имеется обильный рост однородных колоний (чистая культура), то 2—3 колонии отсевают на пробирки со средой Ресселя или «скошенным столбиком с мочевиной». Затем несколько колоний снимают одной петлей, испытывают в реакции агглютинации на стекле с адсорбированными О-, Vi- и Н-салмонеллезными сыворотками, в первую очередь к салмонеллам тифа, паратифов А и В.

В случае обнаружения грамотрицательных палочек, агглютинирующихся какой-либо из салмонеллезных сывороток, выдают предварительный положительный ответ. При отсутствии ясных данных по первичному посеву делают второй высев на чашки с плотной питательной средой.

Четвертый день исследования (через 72 часа). После учета результатов посева на среды с углеводами и установления антигенной формулы выделенной культуры при помощи повторной реакции агглютинации на

стекле с О- и Н-монорецепторными сыворотками дают окончательный положительный ответ.

Если первые два высева из среды обогащения были отрицательными, делают третий высев на чашки на 5-е сутки (через 120 часов).

Предварительный отрицательный ответ при исследовании крови выдают после отрицательного результата третьего высева, т. е. на 6-й день исследования. Окончательный отрицательный ответ может быть выдан только после четвертого высева на 10-й день.

4. Сроки выдачи и формулировка ответов

1. При отрицательном результате (отсутствии подозрительных колоний) прямого посева испражнений, мочи и трупного материала[1] и отсутствие посевов в среды обогащения на 2-й день исследования выдают отрицательный ответ: «Патогенные бактерии семейства кишечных не обнаружены»[2].

2. При отрицательном результате прямого посева испражнений, мочи, трупного материала и отсутствии подозрительных колоний на среде Плоскирева после высева из селенитовой среды обогащения при анализе на шигеллы и салмонеллы отрицательный ответ в такой же формулировке выдают на 3-й день.

3. На 3-й день выдают также отрицательный ответ при исследованиях на энтеропатогенные серотипы кишечной палочки в случае отрицательного результата реакции агглютинации на стекле с ОВ-сыворотками культуры, выросшей на скошенном агаре. Ответ формулируют: «Патогенные серотипы кишечных палочек не обнаружены».

4. При применении сред обогащения Мюллера и Кауфмана для исследования на салмонеллы при отрицательном результате прямого посева испражнений, мочи и трупного материала и отсутствии подозрительных колоний на висмут-сульфитном агаре, а также при от-

---

[1] В том числе и при исследованиях на патогенные серотипы кишечных палочек.

[2] При посеве испражнений от детей в возрасте до 2 лет такой ответ выдают только в случае отсутствия на среде Эндо или Асель—Либермана колоний, агглютинирующихся смесью ОВ-коли-сывороток.

рицательном результате развернутой реакции агглютинации при анализе на патогенные серотипы кишечной палочки отрицательный ответ выдают на 4-й день.

5. Отрицательный ответ при исследовании дуоденального содержимого выдают лишь после третьего отрицательного высева, т. е. на 5-й день исследования.

6. Если из прямого посева испражнений, мочи, трупного материала и дуоденального содержимого выделена культура шигеллы, салмонеллы или патогенной кишечной палочки, типичная по морфологии, антигенным и биохимическим свойствам, на 4-й день исследования выдают ответ[1]: «Патогенные бактерии семейства кишечных обнаружены. Выделена палочка (указать род, вид и тип выделенного микроба)».

7. При обследовании в очагах инфекционных заболеваний для быстрейшей изоляции источников инфекции, а также при диагностических исследованиях для быстрейшего установления диагноза и назначения соответствующего лечения допускается выдача предварительного положительного ответа. Такой ответ выдают на 3-й день исследования в том случае, если выделена культура салмонеллы или шигеллы, имеющая типичные биохимические свойства на среде Рессселя или «скошенном столбике» и полностью идентифицированная серологически.

Ответ формулируют следующим образом: «Выделена палочка, подозрительная как шигелла (салмонелла). Окончательный ответ будет дан через 24 часа (указать род, вид и тип микроба)».

8. В некоторых случаях допускается производство анализов на шигеллы и салмонеллы ускоренным методом, без посева выделенной культуры на пестрый ряд. Такая методика допустима при массовых обследованиях очагов заболеваний с известной этиологией в случае выделения в окружении больного идентичных культур, а также при повторных обследованиях больных, от которых аналогичная культура уже была выделена ранее.

В этих случаях при условии выделения культуры, типичной по биохимическим свойствам на среде Рессселя или «скошенном столбике» и полностью серологиче-

[1] При выделении культур шигелл и салмонелл из посевов из сред обогащения сроки выдачи положительных ответов отодвигаются соответственно на 1—2 дня.

ски идентифицированной соответствующими адсорбированными сыворотками, может быть выдан на 3-й день исследования окончательный положительный ответ, сформулированный, как указано в п. 6[1].

9. При исследовании крови на гемокультуру положительный и окончательный отрицательный ответ выдают в сроки, указанные в соответствующем разделе (стр. 24) в той же формулировке, что и при исследовании других материалов.

10. Предварительный отрицательный ответ при исследовании крови выдают на 6-й день после отрицательного результата третьего высева и формулируют следующим образом: «Патогенные бактерии семейства кишечных не выделены. Исследование продолжается. Окончательный ответ (указать дату)».

5. Затруднительные случаи идентификации выделенных культур

Затруднения в идентификации выделенных культур могут возникнуть:

а) если выделена культура патогенных кишечных бактерий с какими-либо отклонениями от типичной характеристики;

б) если выделена культура непатогенных бактерий семейства кишечных, сходная по ряду признаков с какими-либо патогенными бактериями.

В зависимости от того, обнаруживает ли изучаемая культура сходство с шигеллами или салмонеллами, идентификацию следует проводить различно. Однако во всех случаях прежде всего надо убедиться в том, что выделена чистая культура, для чего следует сделать рассев на чашке со слабо щелочным питательным агаром с последующим изучением морфологических, биохимических и антигенных свойств субкультур, полученных из снятых через 18—20 часов колоний.

Идентификация культур, подозрительных на принадлежность к шигеллам. Наиболее часто встречающиеся затруднения связаны с выделением культур, сходных

[1] Положительный ответ при исследованиях на патогенные серотипы кишечной палочки может быть выдан только после учета развернутой реакции агглютинации с живой и гретой культурой, т. е. на 4-й день исследования.

по ряду признаков с дизентерийными, но относящихся к представителям других родов семейства кишечных бактерий.

Затруднения в идентификации таких культур возникают потому, что по биохимическим свойствам при посеве на «короткий» пестрый ряд они ведут себя аналогично дизентерийным бактериям, но не агглютинируются противодизентерийными сыворотками. Наряду с этим встречаются штаммы непатогенных кишечных бактерий, которые, помимо сходства биохимических признаков, обнаруживают и серологическое родство с шигеллами и могут агглютинироваться поливалентными и противодизентерийными сыворотками, главным образом к виду Флекснер.

Однако окончательное серологическое типирование в таких случаях, как правило, не удается.

Агглютинабильность этих культур дизентерийными сыворотками, как установлено в настоящее время, объясняется тем, что между отдельными представителями родов *шигелла и эшерихиа* имеется частичная общность, а в некоторых случаях и идентичность О-антигенных комплексов, а также частичная общность так называемых фимбриальных антигенов дизентерийных бактерий Флекснера и кишечных палочек.

При этом чаще всего речь идет о неподвижных, не образующих газа при расщеплении углеводов и не расщепляющих или медленно расщепляющих лактозу представителях семейства кишечных бактерий.

Идентификация таких культур проводится путем более углубленного изучения их культуральных, серологических и, что самое важное, биохимических свойств.

Тесты для дифференцирования шигелл от некоторых наиболее часто встречающихся сходных с ними бактерий даны в табл. 5, 6, 11.

Наибольшее сходство с шигеллами наблюдают у бактерий алкалесценс—диспар, которые достаточно часто обнаруживают при исследованиях испражнений.

Дифференциальным признаком для культур алкалесценс-диспар, не сбраживающих лактозу, является щелочеобразование на синтетической лакмусовой сыворотке (лакмус-мольке) или цитратной среде Кристенсена через 24—48 часов, а для культур, образующих на

этих средах кислоту, дифференциальным признаком может служить створаживание молока.

Некоторые виды эшерихий и бактерий рода цитробактер могут быть ошибочно отнесены к шигеллам при позднем или слабом газообразовании. Для дифференцирования таких штаммов от шигелл следует использовать жидкие углеводные среды с поплавками, где ферментация углеводов проходит более интенсивно и облегчается учет газообразования. Большую помощь в этих случаях может оказать выявление способности к замедленной ферментации лактозы. Чтобы ускорить обнаружение этого признака, нужно использовать среду с повышенным содержанием лактозы (4%) и пониженным содержанием пептона (0,5%). Способность к расщеплению лактозы в этих условиях проявляется на 2—3-и сутки.

Существенное значение имеет определение подвижности выделенного микроба, которое в таких случаях следует производить на полужидком (0,2%) агаре, а также в висячей или раздавленной капле 4—6-часовой бульонной культуры.

Если сумма биохимических и морфологических признаков изучаемой культуры позволяет исключить ее принадлежность к шигеллам[1], может быть выдан отрицательный ответ независимо от того, агглютинируется ли культура дизентерийными сыворотками. При этом надо учесть, что свежевыделенные культуры бактерий алкалесценс, наиболее часто вызывающие затруднения при дифференцировании непатогенных бактерий от шигелл, являются нередко инагглютинабильными, вследствие наличия у них поверхностного антигена. Агглютинабильные О-варианты бактерий алкалесценс легко получить прогреванием взвеси культуры в течение 30 минут при температуре 100°, выращиванием на питательном агаре, содержащем 1% глюкозы, или при выращивании на свежескошенном питательном агаре при комнатной температуре (20—25°).

Дифференциальным признаком бактерий алкалесценс является положительная реакция агглютинации с гомологичной адсорбированной сывороткой. Дизентерийные бактерии этой сывороткой не агглютинируются.

---

[1] Изредка встречающиеся у шигелл отклонения биохимических признаков приведены в табл. 2.

При идентификации культур, подозрительных на принадлежность к шигеллам, следует иметь в виду возможность выделения и истинных дизентерийных бактерий, имеющих те или иные отклонения в ферментативной или серологической характеристике. Однако такие культуры встречаются гораздо реже.

Представители почти всех видов дизентерийных бактерий могут давать ферментативные отклонения, т. е. встречаться в виде следующих ферментативных минус или плюс-вариантов (стр. 31):

Таблица 2

Об отклонениях некоторых биохимических признаков, закономерно присущих дизентерийным бактериям

Признаки	Закономерность	Отклонения
Газообразование	Не образуют газа	Образуют только шигеллы Ньюкестл (некоторые биотипы)
Маннит	Не ферментируют: шигеллы Григорьева — Шига, Штуцера — Шмитца, Лардж—Сакса, провизорные 8, 9, 10 Ферментируют: шигеллы Флекснера, Ньюкестл, Бойда, Зонне	Ферментируют только шигеллы Лардж—Сакса (единичные наблюдения) Не ферментируют шигеллы Ньюкестл (оригинальный штамм, встречается редко), Флекснера, Зонне, Бойда (крайне редко)
Лактоза	Ферментируют только шигеллы Зонне на 3—20-й день	На 2-е сутки ферментируют шигеллы Зонне, (исключительно редко) Шигеллы Бойда 9 (отдельные разновидности данного серотипа медленно расщепляют лактозу)
Ксилоза	Не ферментируют шигеллы Флекснера, Ньюкестл	Ферментируют шигеллы Флекснера серотип 4 (отдельные редкие разновидности)

а) маннитнегативные разновидности маннитферментирующих видов (Зонне, Флекснер) и, наоборот, маннитферментирующие разновидности маннитнегативных видов (Лардж—Сакс);

б) ферментирующие ксилозу варианты Флекснера (серотип 4);

в) ферментирующие лактозу варианты Бойда (серотип 9 — см. табл. 2).

К ферментативным отклонениям относятся также случаи ферментации мальтозы в 1-е сутки палочками Флекснера.

Необходимо учесть, что в бульоне Хоттингера многие шигеллы способны образовывать сероводород, поэтому для правильной оценки этого признака лучше пользоваться посевом в 1% пептонную воду.

Идентификации культур помогает установление их неподвижности, определение их полной ферментативной характеристики (табл. 5, 6) и серологическая характеристика.

Кроме ферментативных отклонений, у шигелл могут встречаться отклонения в серологической характеристике, вызванные следующими причинами:

1) инагглютинабильностью дизентерийных культур, связанной с наличием поверхностного антигена или с недоразвитием антигенного аппарата при росте на ингибирующих средах;

2) отсутствием агглютинации шигелл Флекснера типоспецифическими монорецепторными сыворотками при наличии агглютинации в поливалентной и групповых сыворотках, связанным с утратой типоспецифического антигена. Чаще такая утрата наблюдается у культур серологического типа 4, хотя вообще это явление встречается достаточно редко;

3) не исключена возможность выделения новых типов или вариантов дизентерийных бактерий, не включенных в схему [1].

Во всех случаях затруднений в серологической идентификации шигелл необходимо иметь предельно полную характеристику биохимических свойств культуры.

---

[1] Для окончательной идентификации такие культуры необходимо отправлять в научно-исследовательские институты.

Для восстановления утраченной способности агглютинироваться в гомологичной сыворотке может быть применен ряд методов:

а) селекционирование отдельных колоний с целью обнаружения особей, обладающих полным антигенным комплексом.

Рассев культуры для селекционирования лучше производить из верхнего слоя 3—4-часовой бульонной культуры на чашку со свежеприготовленным питательным агаром. Не следует рассевать культуру для селекционирования на среду Плоскирева, так как у культур, выделенных с этой среды, иногда наблюдается частичная утрата агглютинабильности;

б) прогревание культур для разрушения поверхностного антигена (оболочечные антигены разрушаются нагреванием при температуре 100° в течение 1—1½ часов, капсульные — при температуре 120° в течение 2½ часов);

в) многократные пассажи через желчный бульон (20% бычьей желчи).

Одним из вспомогательных тестов в затруднительных случаях идентификации культур, подозрительных на принадлежность к шигеллам, является определение их чувствительности к поливалентному дизентерийному бактериофагу [1].

Важным дифференциальным тестом при идентификации культур семейства кишечных является постановка кератоконъюнктивальной пробы на морских свинках.

Применение этой пробы не только помогает идентификации выделенной культуры, но в ряде случаев позволяет получить реверсию утраченных свойств и выделить из глаза морской свинки бактерии с типичной серологической характеристикой. Для постановки пробы петлю суточной агаровой культуры или 1—2 капли бульонной культуры вводят при помощи петли или пипетки в конъюнктивальный мешок глаза морской свинки, под нижнее веко. При этом следует соблюдать осторожность и не травмировать слизистую оболочку, а тем более роговицу. Подавляющее большинство свежевыделенных дизентерийных бактерий вызывает у морских свинок специфический кератоконъюнктивит на 2—5-е

[1] Методика описана на стр. 21.

сутки: роговица глаза мутнеет, набухает и приобретает белесоватый оттенок, конъюнктива гиперемирована, появляется обильное гнойное отделяемое. Пробу не считают положительной, если имеется только конъюнктивит, а кератит отсутствует (роговица остается прозрачной, блестящей и гладкой). Для выделения культуры из глаза при положительной пробе отделяемое из конъюнктивального мешка засевают в бульон и через 18—20 часов инкубации производят высев на чашки со средами Левина и Плоскирева. Следует учитывать, что, кроме шигелл, кератоконъюнктивит вызывают патогенные кишечные палочки серотипа О124 : В17 и очень редко — некоторые другие бактерии, например S. typhimurium. Однако все эти бактерии можно отличить от шигелл по биохимическим признакам.

Идентификация культур, подозрительных на принадлежность к салмонеллам. При идентификации культур, подозрительных на принадлежность к салмонеллам, чаще всего вызывают затруднения некоторые бактерии из родов аризона и цитробактер, биохимически сходные с салмонеллами или агглютинирующиеся салмонеллезными сыворотками.

Основными общеизвестными биохимическими признаками, исключающими принадлежность культуры к салмонеллам, является сбраживание лактозы (даже в поздние сроки), расщепление мочевины, образование индола и разложение сахарозы [1].

При отсутствии этих признаков необходимо получить подробную ферментативную характеристику выделенной культуры. Способность микробов ферментировать салицин даже в поздние сроки указывает на то, что культура не принадлежит к роду салмонелл.

Вспомогательным признаком является отношение культуры к глицерину. В подавляющем большинстве случаев салмонеллы не образуют газа в глицерине в 1-е сутки. Для дифференциации салмонелл от бактерий родов аризона и цитробактер рекомендуется производить посев в жидкую среду с повышенным содержанием лактозы (4%) и пониженным содержанием пептона (0,3—0,5%). Кроме того, бактерии рода аризона в от-

[1] Развернутая ферментативная характеристика салмонелл дана в табл. 8.

личие от салмонелл не расщепляют дульцита. Если культура обладает суммой биохимических свойств, типичных для салмонелл, но не агглютинируется салмонеллезными О- и Н-сыворотками, следует испытать ее способность лизироваться салмонеллезным О-фагом [1].

Положительный результат является дополнительным признаком, указывающим на принадлежность культуры к роду салмонелл.

При серологической идентификации салмонелл иногда возникают трудности в определении жгутикового антигена или одной из его фаз, что связано либо с утратой, подвижности, либо с преобладанием у популяции той или иной фазы Н-антигена. Следует при этом помнить о существовании в группе D серотипов неподвижных салмонелл S. gallinarum-pullorum, S. lishabi и монофазных культур, в группе C — S. cholerae suis var. Kunzendorf, в группе B — S. typhi murium var. binns.

Для восстановления подвижности 3-часовую бульонную культуру пересевают на свежескошенный агар или наносят каплю культуры на центр чашки с 0,5% питательным агаром для получения феномена роения. Наиболее подвижные особи находятся на периферической части макроколонии. Для получения отсутствующей фазы жгутикового антигена нужно сделать посев по Свену Гарду следующим образом: исследуемую культуру в виде бляшки засевают в центр чашки с 0,8—1% питательным агаром (см. среду в *Приложении*). К остуженному до температуры 50° агару перед тем, как залить его в чашку, добавляют 2—3 капли адсорбированной агглютинирующей Н-сыворотки к той фазе жгутикового антигена, которая была выявлена у данной культуры и которую желательно подавить. Через 24 часа инкубации при температуре 37° бактерии с искомой фазой Н-антигена оказываются на периферии макроколонии.

Для той же цели можно использовать более простой метод, предложенный Джеймсоном: по диаметру чашки с 1,2—1,5% питательным агаром вырезают канавку до дна чашки шириной 1 см. Чашки перед опытом просушивать не нужно. Через канавку в виде мостика накладывают стерильную полоску фильтровальной бумаги,

---

[1] Методику испытания чувствительности салмонелл к О-фагу см. в *Приложении*.

смоченную в сыворотке к известной фазе Н-антигена изучаемой культуры. На один конец полоски наносят каплю исследуемой культуры. Через 24 часа инкубации при температуре 37° можно обнаружить бактерии с искомой фазой Н-антигена на агаре вокруг противоположного конца «мостика» из фильтровальной бумаги.

Следует отметить, что в идентификации культур, подозрительных на принадлежность к шигеллам или салмонеллам, наиболее важное значение имеет подробное изучение ферментативных свойств. Использование в целях идентификации культур только метода агглютинации подозрительных колоний на стекле прямо с чашки первичного посева или даже со среды Рассела или «скошенного столбика» может явиться источником серьезных диагностических ошибок. К такому приему надо относиться с большой осторожностью.

При невозможности окончательной идентификации культуры на месте ее необходимо направить в вышестоящую лабораторию или научно-исследовательский институт. В этом случае ответ формулируется так: «Выделена культура, подозрительная на принадлежность к шигеллам (салмонеллам). Анализ необходимо повторить».

Выдача таких ответов допускается только как исключение при обязательном условии пересылки культур в вышестоящую лабораторию.

При достаточном наборе биохимических тестов и диагностических бактериальных препаратов неидентифицированные культуры представляют большую редкость.

6. Фаготипирование брюшнотифозных бактерий

Впервые схема фаготипирования брюшнотифозных бактерий (S. typhi) была предложена в 1938 г. Крейджи и Иеном. В основу фаготипирования этих бактерий положено их строго специфическое отношение к адаптированным Vi-бактериофагам II серологического типа. Бактериофаг Vi-II — это один из Vi-фагов, активных в отношении культур, обладающих Vi-антигеном. Данный бактериофаг легко адаптируется к устойчивым Vi-штаммам брюшнотифозных бактерий, утрачивая при этом способность лизировать исходный штамм-субстрат.

В настоящее время принята международная стандартная схема фаготипирования брюшнотифозных бактерий, разработанная в 1947 г. Крейджи и Феликсом. Она включает 78 препаратов типовых Vi-бактериофагов, с помощью которых выявляется такое же количество фаготипов этих бактерий. Бактериофаги и соответствующие им фаготипы бактерий обозначают заглавными буквами латинского алфавита (от A до T включительно), часть фагов обозначена арабскими цифрами (от 25 до 48).

Помимо типовых адаптированных Vi-II бактериофагов, при типировании культур обязательно применяют один или несколько неадаптированных брюшнотифозных Vi-бактериофагов (серологических типов I, IV, VII и др.), которые выявляют присутствие в культуре типируемого штамма Vi-антигена.

Одним из необходимых условий для определения фаготипа культуры является наличие в ней Vi-антигена, так как именно с ним связана чувствительность культур к Vi-бактериофагам [1].

Вторым обязательным условием для проведения фаготипирования является использование типовых бактериофагов в так называемых тест-разведениях (TD в иностранных источниках), которые обычно указывают либо в специальном приложении к набору типовых фагов, либо на этикетках ампул или флакончиков с фагами.

Штаммы фаготипа A лизируются всеми типовыми фагами. Подразделение типов на подтипы в группах B, C, D, E и т. д. построено таким образом, что штаммы подтипов с порядковым номером 1 (B_1, C_1, D_1, E_1 и т. д.) лизируются не только гомологичным фагом, но и фагами всех других подтипов данной группы.

В принятой схеме указана активность типовых бактериофагов в отношении фаготипов бактерий брюшного тифа.

[1] Практически почти все свежевыделенные культуры бактерий брюшного тифа содержат Vi-антиген, что выявляется с помощью Vi-сыворотки в реакции агглютинации. Если штамм дает слабую реакцию Vi-агглютинации и результаты фаготипирования получаются нечеткими, рекомендуется его рассеять, выделить 8—10 колоний, из них под контролем Vi-сыворотки отобрать наиболее богатые Vi-антигеном штаммы и вновь подвергнуть их фаготипированию. Высев для отбора колоний лучше сделать из молодой 3—4-часовой бульонной культуры.

Техника фаготипирования. Суточную агаровую культуру типируемого штамма, проверенного предварительно с помощью Vi-сыворотки на содержание Vi-антигена, пересевают в пробирку с 2—3 мл мартеновского (можно хоттингеровского) бульона (pH-7,0—7,2) и помещают в термостат при температуре 37° на 3—4 часа. Молодую бульонную культуру наносят на чашку Петри, содержащую 25—30 мл 1,1—1,3% слабо щелочного питательного агара, хорошо подсушенного. Чашки с агаром рекомендуется приготовить накануне опыта, оставить их на ночь в термостате с закрытыми крышками, а на следующий день подсушить с открытыми крышками еще в течение 20—30 минут.

Культуру наносят на чашки петлей диаметром 5 мм или тонко оттянутой пастеровской пипеткой в виде отдельных капель, число которых должно быть на единицу больше числа используемых типовых бактериофагов (одна лишняя — для испытания с Vi-I фагом). Можно культуру засеять на чашку в виде сплошного газона. После того как нанесенная культура впитается в агар и засеянные участки подсохнут, на них наносят петлей или оттянутой пастеровской пипеткой типовые бактериофаги в тест-разведениях, а также Vi-I фаг.

После подсыхания капель фага чашки помещают в термостат при температуре 37—37,5°, результаты типирования учитывают дважды — через 5—6 часов и через 18—20 часов. Учет результатов проводят невооруженным глазом и с помощью 5-кратной лупы через дно чашки в прямом освещении. Фаготип культуры определяют по схеме, которая прилагается к каждому набору типовых фагов (табл. 3, на вклейке).

При типировании могут быть получены результаты, отклоняющиеся от указанных в схеме, как-то:

а) культура, обладающая Vi-антигеном, четко лизируется Vi-I фагом, но не чувствительна ни к одному из типовых Vi-II бактериофагов. Причинами этого явления могут быть: выделение фаготипов, к которым типовые фаги или еще не открыты, или отсутствуют в используемом наборе, а также выделение истинных Imperfect или Гамма—форм, к которым Vi-II бактериофаги не могут быть адаптированы;

б) культура богата Vi-антигеном, но проявляет неопределенную или частичную чувствительность к несколь-

ким типовым фагам; это так называемые полилизабильные, или деградированные, штаммы. Для успешного типирования подобных штаммов можно рекомендовать типирование нескольких колоний, что иногда позволяет выявить среди них такие, которые сохраняют признаки определенного фаготипа. Если полилизабильные культуры выделены у больных, связанных между собой эпидемиологически, наблюдается выраженная однотипность в их чувствительности к одним и тем же типовым фагам, что позволяет иногда судить об общем для таких больных источнике инфекции;

в) культуры, лишенные Vi-антигена, естественно не могут быть типированы и обозначаются как W-форма.

7. Фаготипирование паратифозных В бактерий (S. paratyphi B)

Схема типирования S. paratyphi B, предложенная в 1943 г. Феликсом и Келлоу, в настоящее время включает 10 типов и подтипов, к которым добавляются еще 26 вариантов, показывающих отклонения от основного типа реакций с типовыми фагами. В отличие от типирования S. typhi, тип которых определяют по реакции культуры с идентичным адаптированным бактериофагом, типирование паратифозных бактерий основано на определении четких рисунков лизиса культуры рядом типовых фагов.

Техника типирования. Суточную агаровую культуру типируемого штамма пересевают в пробирку с 5 мл мартеновского бульона (pH 6,8—7,2) и помещают в термостат при температуре 37° на 3—4 часа (можно использовать и 18—20-часовую культуру). Затем на чашки Петри, содержащие около 20 мл 1,1—1,3% слабо щелочного хорошо подсушенного агара, петлей диаметром 3—4 мм или тонко оттянутой пипеткой наносят бульонную культуру отдельными каплями, число которых должно быть на одну каплю больше числа имеющихся типовых фагов (лишняя капля берется для контроля). Культуру можно нанести в виде сплошного газона, предварительно разметив дно чашки на сектора в соответствии с числом типовых фагов. Когда культура впитается в агар и засеянные участки станут сухими, на них наносят петлей или пипеткой типовые бактериофаги, взятые в

Таблица 4

Схема определения фаготипов салмонелл паратифа В

Штаммы	Типы фагов									
	1	2	3a	3b	Jersey	Beccles	Taunton	BAOR	Dundee	Worksop
1	++++	++++	+	±	++++	—	—	—	++	—
2	—	++++	—	—	±	—	—	—	+++	—
3a	—	—	++++	+++	±	++++	++++	++++	++++	±
3a!	—	—	++++	—	—	—	—	—	++++	—
3b	—	—	—	+++	±	++++	++++	++++	++++	+
Jersey	—	±	±	—	++++	++++	++++	++++	++++	—
Beccles	—	±	—	—	—	++++	++++	—или ++++	++++	—
Taunton	—	—	—	—	—	—	++++	—	++++	—
BAOR	—	—	—	— или +	—	—	—	++++	—	—
Dundee	—	—	—	—	—	—	—	—	++++	—
Worksop	—	—	—	±	—	—	—	—	—	+++

рабочих тест-разведениях (РТР), указанных для каждого фага на этикетках или в специальном приложении. На контрольную каплю культуры наносят каплю бульона. После подсыхания капель чашки помещают в термостат при температуре 37°. Результаты типирования учитывают через 5—6 часов и через 24 часа невооруженным глазом или с помощью 5-кратной лупы через дно чашки в проходящем свете.

Определение фаготипа культуры производят в соответствии со схемой, прилагаемой к набору типовых фагов. Следует помнить, что могут встречаться некоторые отклонения от указанных в схеме каждого типа рисунков лизиса. Например, культура типируемого штамма может не лизироваться ни одним из типовых бактериофагов, — такую культуру обозначают как отрицательную. В другом случае культура может лизироваться несколькими типовыми фагами, представляя при этом новый литический рисунок, не укладывающийся в уже установленные схемой типы, такую культуру обозначают как нетипируемую. Следует провести подробный антигенный анализ типируемого штамма с помощью монорецепторных сывороток. Обозначение фаготипов паратифозных В. бактерий следующее: 1, 2, 3*а*, 3*а*1 3*в*, *Jersey, Beccles, Taunton, BAOR, Dundee, Worksop.*

III. СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Серологические исследования проводят: а) с целью диагностики при отрицательных бактериологических исследованиях или для уточнения диагноза ретроспективно при положительных бактериологических находках и отсутствии клинических симптомов болезни: б) с эпидемиологической целью для оценки состояния коллективного иммунитета, выявления источника инфекции, определения природы вспышки. Наибольшее значение серологические исследования приобрели в диагностике брюшного тифа и паратифов.

Самой распространенной является реакция агглютинации бактериальных диагностикумов в испытуемой сыворотке (реакция Видаля).

В настоящее время применяется также реакция непрямой гемагглютинации с эритроцитарными диагностикумами.

1. Реакция агглютинации (Видаля) при брюшном тифе, паратифах и прочих салмонеллезах

Кровь для реакции берут из пальца иглой Франка со сменными иглами, оспопрививательными перьями, иглой от шприца или шприцем из вены локтевого сгиба; последнее особенно удобно проводить одновременно со взятием крови из вены для выделения гемокультуры.

Для реакции агглютинации нужно не менее 0,5—1 мл крови. Кровь собирают в стерильную пробирку, которую ставят затем в термостат на 30—60 минут, после чего сгусток отделяют от стенок стеклянной палочкой или

пастеровской пипеткой и ставят в холодильник. Не позже чем через 24 часа после взятия крови отсасывают сыворотку. Если сыворотка не прозрачна, ее центрифугируют, затем отсасывают прозрачную сыворотку. Оставшийся сгусток после получения сыворотки целесообразно измельчить и посеять для выделения гемокультуры.

Методика постановки реакции. Готовят разведение сыворотки 1:100 в обычной бактериологической пробирке, для чего к 0,1 мл сыворотки добавляют 9,9 мл физиологического раствора. В четырехрядный штатив ставят несколько рядов агглютинационных пробирок (по числу применяемых диагностикумов), по 4 пробирки в каждый ряд, куда наливают (кроме первых пробирок в ряду) по 0,5 мл физиологического раствора. Сыворотку, разведенную 1 : 100, разливают по 0,5 мл в 1-ю и 2-ю пробирки каждого ряда. Во 2-й пробирке, следовательно, разведение будет 1:200. Содержимое 2-й пробирки тщательно перемешивают градуированной пипеткой и 0,5 мл переносят в 3-ю пробирку (разведение 1:400), из 3-й пробирки также переносят 0,5 мл в 4-ю пробирку (разведение 1:800). Из последней пробирки 0,5 мл сыворотки после тщательного перемешивания выливают.

Если для постановки реакции используют большое количество антигенов, можно упростить работу по приготовлению разведений исследуемой сыворотки. Для этого серийное разведение готовят в обыкновенных бактериологических пробирках, в объеме, соответствующем количеству взятых антигенов, а затем разливают по 0,5 мл каждого разведения в соответствующие пустые (без физиологического раствора) агглютинационные пробирки каждого ряда. Так, если в реакцию взято 10 антигенов (т. е. соответственно 10 агглютинационных рядов), объем каждого разведения сыворотки, кроме первого, должен быть равен 5 мл. Первое разведение делается в двойном объеме по сравнению с прочими, так как половина его пойдет на заполнение первых пробирок каждого ряда, а вторая половина — для приготовления следующего разведения. Обязательно также при приготовлении исходного первого разведения учесть количество сыворотки, необходимое для контроля.

В каждый ряд агглютинационных пробирок с разведениями сыворотки и в контрольную (с 0,5 мл физио-

логического раствора) добавляют по 1 капле одного из диагностикумов.

Для контроля спонтанного выпадения осадка в сыворотке ставят в штатив пробирку с наименьшим разведением сыворотки (1:50 или 1:100), куда диагностикум не добавляют. Второй контрольной пробиркой является диагностикум в 0,5 мл физиологического раствора.

После добавления диагностикумов штатив с пробирками энергично встряхивают, затем помещают в термостат при температуре 37° на 18—24 часа. Учет результатов реакции агглютинации производят с помощью агглютиноскопа, осторожно встряхивая осадок или медленно наклоняя пробирку.

При положительной реакции осадок равномерным слоем покрывает дно пробирки. Края его обычно неровные (так называемый зонтик). Надосадочная жидкость просветляется. После легкого встряхивания пробирки в прозрачной надосадочной жидкости всплывают отдельные хлопья агглютината. Последнее разведение сыворотки, в котором наблюдают хорошо выраженную агглютинацию, считают ее титром. При отрицательной реакции взвесь сохраняет исходную мутность, так же как в контроле диагностикума. При избытке антигена он может осесть на дно в виде плотного комка.

В настоящее время для постановки серологических реакций при заболеваниях салмонеллезной этиологии выпускают формалиновые ОН-диагностикумы, а также О-(2, 4, 7, 8, 9, 3—10) и Н-моноди агностикумы. При положительном результате с одним из ОН- или О-диагностикумов ставят реакцию агглютинации и с Н-монодиагностикумами в пределах выявленной О-группы (номенклатуру выпускаемых препаратов см. в приложении).

Реакцию Видаля можно поставить и со штаммом, выделенным у больного (аутокультура). В этом случае в качестве диагностикума используют взвесь живой или убитой суточной агаровой культуры бактерий густотой в 3 млрд. микробных тел в 1 мл физиологического раствора.

Положительным результатом у людей, не привитых против брюшного тифа, считают агглютинацию в разведении 1:100 при наличии клинической картины и не ниже 1:200 при отсутствии таковой. У привитых боль-

ных указанные титры О-антител не являются надежным диагностическим признаком. Диагностический титр Н-антител у ранее привитых больных должен быть не менее 1:400.

Однако абсолютная высота титра агглютининов не может быть достоверным доказательством наличия заболевания. Специфический инфекционный характер реакции агглютинации выявляется только в динамике по нарастанию титра агглютининов.

В ответе указывают: «Реакция Видаля с брюшнотифозными, паратифозными диагностикумами отрицательная» или «Реакция Видаля с брюшнотифозным (или *другим сальмонеллезным серотипа . . . . .) диагно*стикумом дала положительный результат до титра 1 : —».

2. Реакция пассивной Vi-гемагглютинации (ViРПГА)

Обнаружение антител к Vi-антигену оказывает большую помощь в диагностике заболеваний брюшным тифом и выявлении хронических носителей брюшнотифозных палочек.

Применявшаяся ранее для этой цели реакция агглютинации с бактериальным Vi-диагностикумом является, как показал опыт работы, недостаточно чувствительной и специфичной.

В настоящее время для обнаружения Vi-антител применяется реакция пассивной гемагглютинации с эритроцитарным Vi-диагностикумом. Принцип реакции заключается в том, что эритроциты, адсорбировавшие на своей поверхности молекулы антигена, приобретают способность агглютинироваться в присутствии соответствующх антител [1].

Методика постановки реакции. Кровь для исследования берут из локтевой вены или пальца. Сыворотку (0,2—0,3 мл) обрабатывают так же, как для постановки реакции Видаля. Указанного количества сыворотки до-

---

[1] Стандартный формалинизированный эритроцитарный Vi-диагностикум выпускается Московским научно-исследовательским институтом эпидемиологии и микробиологии. Срок годности препарата 6 месяцев.

статочно как для постановки ViРПГА, так и для одновременной постановки реакции Видаля.

Для постановки ViРПГА используются либо агглютинационные пробирки, либо полистероловые пластинки с лунками. Из испытуемой сыворотки готовят двукратные серийные разведения в объеме 0,5 мл (как и при постановке реакции Видаля), начиная с разведения 1:10 до разведения 1:1280. Ампулы с эритроцитарным Vi-диагностикумом тщательно взбалтывают до образования однородной взвеси и в каждую пробирку (лунку) с разведениями сывороток прибавляют по 0,25 мл диагностикума. Пробирки или пластинки встряхивают и помещают на $1^1/_2$—2 часа в термостат при температуре 37°.

Контролями диагностикума служат: а) постановка реакции со стандартной адсорбированной монорецепторной Vi-сывороткой (ампула такой сыворотки вкладывается в каждую коробку с эритроцитарным диагностикумом) — реакция должна быть положительной до разведения сыворотки, указанного в наставлении, прилагаемом к диагностикуму; б) постановка реакции с 0,5 мл физиологического раствора — реакция должна быть отрицательной.

Результаты реакции оценивают в зависимости от степени агглютинации диагностикума:

++++ эритроциты полностью агглютинированы. Они равномерно устилают почти все дно пробирки или лунки или образуют картину зонтика;

+++ агглютинированы почти все эритроциты. Они равномерно покрывают дно пробирки. На этом фоне имеется малозаметное кольцо из осевших неагглютинированных эритроцитов в центре дна пробирки (лунки);

++ наряду с равномерным агглютинатом на дне пробирки или лунки имеется осадок из неагглютинированных эритроцитов в виде маленького колечка или «пуговки»;

+ большинство эритроцитов не агглютинировано и осело в центре дна пробирки или лунки. Одновременно небольшое количество агглютинированных эритроцитов осело в виде мелких хлопьев вокруг центра дна пробирки или лунки;

—признаков агглютинации нет. Эритроциты осели в виде маленького колечка или «пуговки» (в зависимости

от рельефа дна пробирки) в центре дна пробирки или лунки. Колечко или «пуговка» имеют малый размер и совершенно ровные края.

Титром Vi-антител в испытуемой сыворотке считается последнее разведение сыворотки, которое еще дает ярко выраженную агглютинацию эритроцитов и может быть оценено не менее чем на +++.

Реакция считается положительной при агглютинации эритроцитов на +++ в пробирке с разведением сыворотки 1 : 40 и более.

При оценке результатов реакции необходимо учитывать, что Vi-антитела появляются не у всех (хотя и у большинства) больных и что они образуются в поздние сроки болезни (конец 2-й, 3-я неделя). Поэтому отсутствие Vi-антител малосущественно при постановке диагноза брюшного тифа; наоборот, обнаружение Vi-антител в титре 1 : 40 и выше может служить существенным дополнительным диагностическим признаком, особенно в сочетании с положительными результатами реакции Видаля.

При применении ViРПГА с целью выявления хронических брюшнотифозных носителей также рекомендуется проводить параллельное исследование сывороток на наличие Vi-антител с помощью эритроцитарного Vi-диагностикума и на наличие О- и Н-антител с помощью соответствующих микробных диагностикумов. Все лица, сыворотка которых дает положительную реакцию с эритроцитарным Vi-диагностикумом в разведениях 1 : 40 и выше, считаются подозрительными на носительство брюшнотифозных микробов и подлежат углубленному бактериологическому обследованию. Материалом для исследования при этом служат испражнения, моча и желчь.

Особенно подозрительным является присутствие в сыворотке комплекса из Vi и Н-антител или всех трех видов брюшнотифозных антител (Vi, Н- и О-) в диагностических титрах. Тем не менее результат серологического исследования не может служить основанием для постановки окончательного диагноза брюшнотифозного носительства, который может быть поставлен только бактериологически путем выделения культуры салмонеллы тифа.

IV. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Применение сред с антибиотиками для выделения шигелл

Для повышения высеваемости дизентерийных бактерий можно параллельно с посевом на обычную среду Плоскирева производить посев на эту среду с добавлением антибиотиков (синтомицина, левомицетина и др.).

На приготовленной таким образом среде подавляется рост сопутствующей, чувствительной к указанным антибиотикам микрофлоры и вследствие этого облегчается выявление колоний шигелл, часто обладающих устойчивостью к антибиотику. При этом количество выделяемых дизентерийных бактерий значительно возрастает по сравнению с посевами на обычные среды.

Следует, однако, учитывать, что рост чувствительных к антибиотикам шигелл на этих средах подавляется. Поэтому посев на среды с антибиотиками ни в коем случае не исключает и не заменяет посева на обычные среды.

Для приготовления среды на 1000 мл ее (после охлаждения) добавляют 5 мл 1% спиртового раствора химически чистого синтомицина или половинное количество такого же раствора левомицетина.

Порция засеваемого материала может быть несколько увеличена по сравнению с посевом на обычную среду Плоскирева.

2. Серологическая диагностика дизентерии

Методика постановки серологических реакций при дизентерии не отличается от постановки реакции Видаля

при брюшном тифе. Вследствие многообразия видов возбудителей дизентерии серологические реакции необходимо ставить с диагностикумами наиболее распространенных видов.

Диагностическим титром к шигеллам вида Флекснера для взрослых считают 1 : 400, для детей — 1 : 200, а для детей до 3 лет — даже 1:100; в отношении микробов Григорьева—Шига, Зонне и Ньюкестл — для взрослых 1:100. В связи с большим числом неспецифических положительных результатов этой реакции при дизентерии, в особенности в отношении диагностикума бактерий Флекснера, достоверные результаты могут быть получены лишь по нарастанию титров агглютининов при повторных постановках реакции на протяжении болезни.

В ответе указывают: «Реакция агглютинации сыворотки крови с антигеном шигелла вида..... отрицательная», «Реакция агглютинации с антигеном шигелла вида..... дала положительный результат до титра 1 . .....».

3. Серологическая диагностика при колиэнтеритах

Этот метод не имеет широкого применения, так как антитела к энтеропатогенным эшерихиям выявляются редко. Методика реакции агглютинации такая же, как и при постановке реакции Видаля. Сыворотку испытывают, начиная с разведения 1 : 20. Специфичность реакции в низких титрах обоснована тем, что у здоровых людей реакция всегда отрицательная. В качестве антигена используют только гретые (1 час при температуре 100°) культуры наиболее распространенных энтеропатогенных серотипов, лучше аутокультуру. Диагностическая ценность реакции возрастает при нарастании агглютининов в динамике.

4. Реакция нарастания титра фага (РНФ)

Реакция нарастания титра фага, предложенная В. Д. Тимаковым и Д. М. Гольдфарбом в 1955 г., основана на следующей предпосылке: специфический фаг (так называемый индикаторный), за очень редкими исключениями, размножается только при контакте с соответствующими микробами, следовательно, повышение

титра фага, внесенного в исследуемый материал, указывает на вероятное присутствие в нем бактерий, одноименных с фагом.

РНФ не имеет самостоятельного диагностического значения. При положительном результате исследования материала, полученного от людей, ее необходимо подтверждать выделением соответствующей культуры. В качестве сигнальной РНФ можно использовать для обследования окружения больного, у которого выделен определенный возбудитель.

Методика постановки РНФ описана во Временных методических указаниях, утвержденных Министерством здравоохранения СССР 1 марта 1960 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

ПРИМЕНЕНИЕ САЛМОНЕЛЛЕЗНОГО О-БАКТЕРИОФАГА

Салмонеллезный О-бактериофаг обладает широким диапазоном специфического действия в отношении бактерий рода салмонелла и практически неактивен в отношении других представителей энтеробактерий.

Определение чувствительности культур к О-бактериофагу (О-фаготест) является простым, удобным и достаточно надежным вспомогательным методом при исследовании на кишечную группу бактерий. 97,5% заведомо салмонеллезных культур высокочувствительны к О-бактериофагу и только 2,5% могут быть резистентными. Прочие кишечные бактерии (не считая дизентерийных, которые в небольшом проценте случаев могут быть чувствительны к этому бактериофагу) лизируются указанным бактериофагом не более чем в 0,6—0,7% случаев. Среди известных и наиболее распространенных серологических типов салмонелл резистентные встречаются внутри нескольких типов: в небольшом количестве — у *S. derby, S. tennesse* и *S. gallinarum-pullorum*; в большом количестве (иногда до 50%)—у *S. anatum, S. london* и некоторых других серологических типов группы Е.

Методика испытания культур на чувствительность к О-бактериофагу

Две капли 4- или 18-часовой бульонной культуры испытуемого штамма (можно использовать взвесь суточной агаровой культуры на физиологическом растворе) наносят тонко оттянутой пастеровской пипеткой или петлей диаметром 0,4—0,5 мм на хорошо подсушенный слабо щелочной питательный агар (pH=7,2—7,4) в чашке Петри. После подсыхания на одну из капель петлей или пастеровской пипеткой меньшего диаметра наносят О-бактериофаг, а на другую в качестве контроля — каплю бульона.

Фаг наносят неразведенный или в разведении 1 : 5 (в зависимости от указания на этикетке). На одной чашке, таким образом, можно испытать одновременно 8—10 культур. Чашки с нанесенными культурами и О-бактериофагом помещают на 18—20 часов в термостат при температуре 37°, после чего учитывают результаты. Положительный результат реакции при появлении на месте нанесения фага четко очерченной зоны сливного лизиса оценивают на

++++; при наличии отдельных негативных колоний, отчетливо видимых глазом, в зависимости от их количества реакцию оценивают на +++, ++, +.

При отсутствии лизиса в местах нанесения фага будет сплошной рост культуры, как и в контроле.

О-фаг может быть также использован для предварительного испытания культуры. Для этого подозрительные колонии, выросшие на чашке с дифференциальной средой (Плоскирева, Эндо, висмут-сульфитным агаром и др.), снимают и пересевают на один из секторов чашки Петри со слабо щелочным агаром. В центр каждого засеянного сектора тонкой пастеровской пипеткой или петлей наносят каплю О-фага, чашки помещают в термостат и на следующий день производят учет результатов. На одной чашке одновременно может быть испытано 5—6 колоний.

Культура, лизировавшаяся фагом, является подозрительной на салмонеллезную и может быть прямо с чашки испытана в реакции агглютинации со смесью салмонеллезных сывороток. В случае положительного результата реакции агглютинации культуру засевают на скошенный агар и на пестрый ряд для изучения биохимических свойств и антигенной структуры (с помощью салмонеллезных монорецепторных сывороток), без чего не представляется возможным дать окончательный ответ о принадлежности культуры к определенному серологическому типу рода салмонелла. Культуры, не чувствительные к О-бактериофагу, подлежат также дальнейшему изучению (биохимическому и серологическому). Большую помощь О-фаг может оказать при изучении атипичных, трудно диагностируемых культур. Атипичные салмонеллезные культуры в большинстве случаев чувствительны к О-фагу, в то время как культуры, лишь сходные с салмонеллезными по биохимическим свойствам (например, лактозонегативные *E. coli*), как правило, не лизируются этим фагом.

Салмонеллезный О-бактериофаг в качестве экспериментального препарата готовится в отделе эпидемиологии кишечных инфекций Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

РЕЦЕПТУРА РЕКОМЕНДУЕМЫХ КОНСЕРВИРУЮЩИХ СМЕСЕЙ, ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И ИНДИКАТОРОВ

1. Консерванты

Глицериновая смесь. К 1 л физиологического раствора добавляют 0,5 л химически чистого нейтрального глицерина и устанавливают pH среды, равный 8,0, добавляя 20% фосфорнокислого натрия (Na_2HPO_4).

Стерилизуют при температуре 112° в течение 15 минут. После стерилизации pH должен быть равен 7,6—7,8.

Желчный бульон. К 800 мл бульона добавляют 200 мл нативной бычьей желчи; pH готового консерванта равен 7,6.

Стерилизуют текучим паром 2 раза по 30 минут.

2. Дифференциальные питательные среды

Среда Плоскирева[1]. Среду готовят по прописи, указанной на этикетке.

Каждую новую серию сухой элективной питательной среды следует проверять при помощи посевов на нее специально зараженных фекалий или дизентерийных культур Зонне и Флекснера.

Если среда работает правильно, при посеве на чашку 0,05 мл физиологического раствора, содержащих 100 микробных клеток бактерий Флекснера и 10 000 клеток кишечной палочки, через 24 часа инкубации при температуре 37° вырастают единичные брусничного цвета колонии кишечной палочки и единичные прозрачные бесцветные колонии шигелл Флекснера.

При полном отсутствии роста кишечной палочки и значительном угнетении роста патогенных бактерий уменьшают количество порошка *на 0,5—2 г на 100 мл среды и заменяют его таким же* количеством сухого питательного агара.

При слишком обильном росте кишечной палочки навеску порошка на 100 мл среды увеличивают на 0,5—1 г.

Среда Рессселя из сухих питательных сред. На 950 мл дистиллированной воды берут 40 г сухого питательного агара с лактозой и индикатором ВР и 5 г питательного агара. Смесь растворяют при нагревании до кипения. Затем в 50 мл дистиллированной воды растворяют 1 г *химически чистой глюкозы и добавляют к приготовленной* смеси.

Разливают в стерильные пробирки по 5—6 мл и стерилизуют текучим паром 2 раза по 30 минут. Среду скашивают так, чтобы остался небольшой столбик (не менее 3 см высотой).

Среду с маннитом и сахарозой готовят по тому же принципу: на 950 мл дистиллированной воды берут 40 г сухого питательного агара с сахарозой и индикатором ВР и прибавляют 1 г маннита, *растворенного в 50 мл дистиллированной воды.*

Цвет среды серовато-розовый, при кислотообразовании меняется на синий.

Среда «сплошенный столбик» из сухих питательных сред. В 100 мл горячей стерильной дистиллированной воды растворяют 4 г сухой среды с лактозой и индикатором ВР, 0,1 г глюкозы и 1 г мочевины.

Полученный раствор разливают в стерильные пробирки и стерилизуют текучим паром в течение 15 минут.

Среду скашивают, как среду Рессселя. Цвет среды *серовато-*розовый. При кислой реакции цвет среды меняется на синий, при щелочной — на оранжевый.

Среда Асель—Либермана. На 1 л агаровой среды добавляют 10 г лактозы и 0,6 г конго красного.

Агар, содержащий 1% лактозы, стерилизуют 2 раза текучим паром. Среду можно приготавливать впрок и длительно хранить в лаборатории.

---

[1] **Изготовляется** Дагестанским институтом питательных сред **в сухом виде.**

Перед употреблением в среду добавляют конго красный. Краситель предварительно растворяют в пробирке с 3—4 мл дистиллированной воды при подогревании над пламенем горелки (не кипятить).

3. Среды обогащения

Селенитовая среда. Основным действующим началом этой среды является кислый селенистокислый натрий, который, с одной стороны, стимулирует рост патогенных бактерий (будучи взятым в строго определенной концентрации), а с другой — подавляет рост сопутствующей флоры.

Состав среды:

натрий кислый селенистокислый (без примеси теллура) ($NaHSeO_3$) — 4 г;

пептон[1] — 5 г;

натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный (Na_2HPO_4) — 7 г;

натрий фосфорнокислый однозамещенный (NaH_2PO_4) — 3 г;

лактоза (химическая чистая) — 4 г;

дистиллированная вода — 1000 г.

Приготовление среды. Среду готовят из двух основных растворов. Сначала экспериментально определяют точную пропорцию Na_2HPO_4 и NaH_2PO_4, которая с используемым образцом пептона и кислого селенистокислого натрия давала бы pH не выше 7,0 (6,9—7,1), что регулируется изменением соотношения фосфатов. Такую предварительную подтитровку необходимо делать всякий раз, когда меняется серия любого из входящих в среду основных ингредиентов (пептон, кислый селенистокислый натрий, фосфаты).

Когда такое соотношение установлено, к приготовленному раствору фосфатов добавляют пептон и лактозу.

Разливают во флаконы по 50 мл и стерилизуют текучим паром в течение 2 дней по 30 минут или при температуре 112° в течение 30 минут.

Отдельно на стерильной дистиллированной воде готовят 10% раствор кислого селенистокислого натрия. Перед началом работы на каждый флакон с 50 мл основного раствора добавляют 2 мл раствора кислого селенистокислого натрия.

Приготовленную среду разливают в стерильные пробирки по 5—7 мл и закрывают плотно пригнанными пробками.

Стерилизация в автоклаве готовой среды не допускается, так как при этом происходит редукция селенита натрия, выпадает красный осадок и среда становится непригодной.

Основной раствор среды может храниться в холодильнике в течение 1—2 месяцев.

Испражнения вносят в пробирки со средой в таком количестве, чтобы по отношению к среде они составили примерно $^1/_5$, перемешивают и помещают на 18—20 часов в термостат, после чего делают высев на чашки со средой Плоскирева.

---

[1] Для приготовления этой среды пригодны: чешский пептон фирмы Спофа или венгерский — фирмы Рихтер, а также пептон из бычьего сердца, приготовленный по рецепту Московского НИИВС имени Мечникова.

При использовании селенитовой среды для исследования мочи, рвотных масс или промывных вод среду следует готовить с удвоенной концентрацией входящих в нее составных элементов и исследуемый материал засевать в соотношении к среде 1 : 1.

Примечания. 1. Раствор кислого селенистокислого натрия готовят ex tempore.

2. Если для приготовления среды употребляют фосфаты с кристаллизационной водой, то соотношение их соответственно должно быть изменено.

Среда Мюллера. В стерильные флаконы отвешивают по 4,5 г мела, стерилизуют сухим жаром. Наливают в каждый флакон по 90 мл бульона и стерилизуют при 1 атм. в течение 30 минут. В асептических условиях ex tempore добавляют 2 мл раствора Люголя и 10 мл раствора серноватистокислого натрия ($Na_2S_2O_3$).

Для приготовления среды Мюллера используют бульон из перевара Хоттингера, содержащий 130—150 мг% аминного азота. Очень важное значение имеет также pH среды. В связи с тем что некоторые сорта мела вызывают довольно значительные изменения pH бульона после автоклавирования, следует обязательно проверять реакцию каждой новой партии среды после стерилизации для установления pH = 7,2—7,4. С этой целью достаточно произвести проверку в одном из флаконов и определить необходимый для подтитровки данного количества среды объем кислоты (или щелочи).

Раствор Люголя: 100 мл дистиллированной воды, 20 г йодистого калия и 25 г йода.

Раствор серноватистокислого натрия: в измерительный цилиндр насыпают 50 г серноватистокислого натрия и добавляют дистиллированной воды до 100 мл. Переливают в бутыль.

Стерилизуют текучим паром.

Среда Кауфмана. К 500 мл стерильной среды Мюллера добавляют 25 мл стерильной бычьей желчи и 5 мл 0,1% водного раствора бриллиантового зеленого. Разливают в стерильные пробирки.

Среда Раппопорт. К 1 л бульона с 10% бычьей желчи добавляют 2% глюкозы и в качестве индикатора 1% раствора Андредэ или 0,1% спиртового раствора бромкрезолпурпурного. Разливают по 50 мл во флаконы, куда вкладывают поплавок.

Стерилизуют текучим паром в течение 3 дней по 30 минут.

4. Дополнительные дифференциальные среды для идентификации шигелл и салмонелл

Синтетическая лакмусовая сыворотка (лакмусмольке). Для приготовления синтетической лакмусовой сыворотки следует в 1 л дистиллированной воды растворить:

пептона лучшего качества	0,05 г
хлористого натрия (химически чистого) . . .	5 г
лимоннокислого натрия	2 г
сернокислого аммония	1 г
фосфорнокислого натрия двузамещенного . . .	0,5 г

глюкозы (химически чистой)	0,4 г
лактозы (химически чистой)	20 г
азолитмина	0,3 г

(азолитмин можно заменить настойкой лакмуса, добавив 1—2% хорошо окрашенного раствора).

Азолитмин плохо растворим, для улучшения его растворимости крупные кристаллы азолитмина предварительно растирают в ступке, затем растворяют при кипячении в течение 10 минут. К растворенному азолитмину добавляют остальные компоненты. Недостаточное растворение азолитмина может служить причиной плохой работы среды.

Среду разливают в стерильные пробирки по 1,5—2 мл и стерилизуют однократно текучим паром в течение 30 минут.

Цвет среды фиолетовый. При образовании кислоты меняется на розовый, при щелочеобразовании среда синеет.

Приготовление настойки лакмуса. В ступке тщательно растирают 10 г лакмуса в кусках, заливают 50 мл 96° спирта и ставят в термостат на сутки.

На 2-й день спиртовую вытяжку сливают в отдельный флакон, осадок опять заливают 96° спиртом и снова ставят в термостат на сутки.

На 3-й день сливают вторую спиртовую вытяжку и присоединяют к первой порции, а осадок заливают 50 мл дистиллированной воды и ставят на сутки в термостат. На 4-й день процедуру повторяют. На 5-й день первую и вторую водные вытяжки присоединяют к спиртовым. Смесь фильтруют через бумажный фильтр и слегка подкисляют до фиолетового цвета. Можно добавить несколько капель хлороформа.

Цитратная среда Кристенсена

Лимоннокислый натрий	3 г
Глюкоза	0,2 г
Дрожжевой экстракт	22 мл
Цистин солянокислый	0,1 г
Фосфорнокислый калий однозамещенный	1 г
Хлористый натрий	5 г
Феноловый красный 0,4% водный раствор	3 мл
Агар-агар	15 г
Дистиллированная вода	1000 мл

pH среды не устанавливается, среду стерилизуют в течение 15 минут при 1 атм.

Для приготовления среды все соли предварительно растворяют в малых количествах воды. Затем соединяют с агаром, оставляют до набухания агара. Состав кипятят до полного растворения агара, фильтруют и добавляют 0,4% водный раствор фенолового красного (3 мл на 1 л среды). При щелочеобразовании среда краснеет.

Приготовление дрожжевого экстракта для среды Кристенсена. В 1 л воды растворяют 500 г хлебных дрожжей, кипятят в течение 1 часа, после чего фильтруют через

бумажный фильтр. Стерилизуют в течение 30 минут при 0,5 атм. Добавляют 22 мл экстракта на 1 л среды Кристенсена.

Бульон с мочевиной. К 100 мл мясо-пептонного или хоттингеровского бульона (pH строго равен 7,0) добавляют 1 г мочевины и 0,2 мл 1,6% спиртового раствора крезолового красного. Разливают в стерильные пробирки по 2—3 мл. Стерилизуют текучим паром в течение 10—15 минут. Цвет среды желтый. При расщеплении мочевины среда краснеет.

Среда для посева по Свену Гарду. Бульон мясопептонный или на перевяре Хоттингера — 100 мл. Агар-агр 0,5—0,8%.

Отмытый и отжатый агар-агар добавляют в бульон, кипятят до расплавления агар-агара, проверяют pH (7,2—7,4).

Фильтруют через бумажный фильтр, разливают в стерильные большие пробирки по 20 мл. Стерилизуют при 1 атм. в течение 30 минут.

Молоко. Свежее молоко доводят на огне до кипения, оставляют в прохладном месте на сутки. Снимают верхний жирный слой. Вторично кипятят, оставляют еще на сутки, опять снимают верхний слой.

Разливают по 2—3 мл. Стерилизуют текучим паром в течение 2 дней по 30 минут.

Среда с повышенным содержанием лактозы

Вода дистиллированная	100 мл
Пептон	0,5%
Хлористый натрий	0,5%
Реактив Андреде	1%
Лактоза	4%

Стерилизуют при 0,5 атм. в течение 20 минут, лучше текучим паром 3 дня подряд по 20 минут.

При разложении лактозы среда краснеет.

Среда с глицерином

Вода дистиллированная	100 мл
Пептон	1%
Хлористый натрий	0,5%
Реактив Андреде	1%
Агар-агар	0,5%
Глицерин	2%

Стерилизуют текучим паром в течение 20 минут.

При расщеплении глицерина среда краснеет.

Приготовление индикаторных бумажек

а) На индол

Смешивают:

парадиметил-амидобензальдегид	3—5 г
спирт 96°	50 мл
фосфорную кислоту (очищенную концентрированную)	10 мл

Затем дают раствориться порошку. Полученной тепловатой жидкостью смачивают полоски фильтровальной бумаги, высушивают и нарезают узкими полосками.

Цвет бумажки желтый. При наличии индола цвет бумажки меняется — от сиренево-розового до интенсивно малинового. Появление других цветов на индикаторной бумажке не учитывают.

б) На сероводород

Лист фильтровальной бумаги смачивают в следующем растворе:

дистиллированной воды	100 мл
уксуснокислого свинца	20 мл
двууглекислой соды	1 г

Бумагу высушивают, нарезают полосками. После обработки бумага остается белой, при наличии сероводорода чернеет.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

ПЕРЕЧЕНЬ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ, ВЫПУСКАЕМЫХ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИМИ ИНСТИТУТАМИ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК И ИНСТИТУТАМИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ[1]

I. Агглютинирующие, диагностические сыворотки кишечной группы

1. Агглютинирующая адсорбированная салмонеллезная поливалентная О-сыворотка (группы A, B, C, D, E).
2. Агглютинирующая адсорбированная салмонеллезная поливалентная О-сыворотка редких групп.
3. Агглютинирующая адсорбированная салмонеллезная О-сыворотка (рецепторы 1, 2, 3... 53).
4. Агглютинирующая адсорбированная салмонеллезная Н-сыворотка (рецепторы a, в, c... Z; 1... 7).
5. Агглютинирующая родоспецифическая салмонеллезная О-сыворотка.
6. Агглютинирующая неадсорбированная брюшнотифозная сыворотка.
7. Агглютинирующая неадсорбированная паратифозная А-сыворотка.
8. Агглютинирующая неадсорбированная паратифозная В-сыворотка.
9. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам тифимуриум.

---

[1] Приказ Министерства здравоохранения СССР № 616 от 6 августа 1966 г.

10. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам гейдельберг.

11. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам холера суис.

12. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам ньюпорт.

13. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам энтеритидис.

14. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Салмонеллам анатум.

15. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам дизентерии 1 и 2 Григорьева—Шига и Штуцера—Шмитца).

16. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам дизентерии 3, 4, 5, 6, 7.

17. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам дизентерии 8, 9, 10.

18. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам дизентерии 1 (Григорьева—Шига).

19. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам дизентерии 2 (Штуцера—Шмитца).

20. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам дизентерии 3, 4, 5, 6, 7.

21. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам дизентерии 8, 9, 10.

22. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам Флекснера.

23. Агглютинирующие адсорбированные сыворотки к Шигеллам Флекснера (типовые рецепторы I, II, III, IV, V; групповые рецепторы 3, 4, 6, 7, 8).

24. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам Ньюкестл (типовой рецептор VI).

25. Агглютинирующие адсорбированные поливалентные сыворотки к Шигеллам Бойда (типы 1, 2, 3, 5, 6; 4, 6 и др.).

26. Агглютинирующие адсорбированные сыворотки к Шигеллам Бойда (типы 1, 2, 3... 15).

27. Агглютинирующая адсорбированная сыворотка к Шигеллам Зонне.

28. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам Флекснера, Ньюкестл, Зонне.

29. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Шигеллам 1 (Григорьева—Шига).

30. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Шигеллам 2 (Штуцера—Шмитца).

31. Агглютинирующая неадсорбированная поливалентная сыворотка к Шигеллам Флекснера.

32. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Шигеллам Ньюкестл.

33. Агглютинирующая неадсорбированная сыворотка к Шигеллам Зонне.

34. Агглютинирующая поливалентная ОВ коли-сыворотка O26B6, O55B5, O111B4, 145 (O20K84); O125B15; O126B16; O127B8 и др.

35. Агглютинирующая неадсорбированная ОВ коли-сыворотка [типы O18K..., O25K..., O26B6, O44L74, O55B5, O111B4, O119B14,

O124B17, O125B15, O126B16, O86B7, O127B7, O128B12, «145» (O20K84), «408», «9» и др.].

36. Агглютинирующая адсорбированная ОВ коли-сыворотка для ускоренного метода с применением жидких сред (поливалентная и типовые).

37. Агглютинирующая адсорбированная поливалентная сыворотка алкалесценс.

38. Агглютинирующие адсорбированные сыворотки алкалесценс типовые.

Люминесцирующие антитела

1. Люминесцирующие антитела к Салмонеллам тифа.
2. Люминесцирующие антитела к Салмонеллам паратифа А.
3. Люминесцирующие антитела к Салмонеллам паратифа В.
4. Люминесцирующие антитела к Шигеллам Флекснера.
5. Люминесцирующие антитела к Шигеллам Зонне.
6. Люминесцирующие антитела против сывороточных глобулинов: человека, лошади, барана, кролика, морской свинки.

II. Диагностикумы и антигены

1. Диагностикум из Салмонелл тифа.
2. Диагностикум из Салмонелл паратифа А.
3. Диагностикум из Салмонелл паратифа В.
4. Диагностикум из Салмонелл холера суис.
5. Диагностикум из Салмонелл тифимуриум.
6. Диагностикум из Салмонелл ньюпорт.
7. Диагностикум из Салмонелл энтеритидис.
8. О-диагностикум из Салмонелл тифа.
9. Салмонеллезные О-диагностикумы.
10. Салмонеллезные Н-диагностикумы.
11. Эритроцитарный V-диагностикум.
12. Диагностикум из Шигелл Григорьева—Шига.
13. Диагностикум из Шигелл Штуцера—Шмитца.
14. Диагностикум из Шигелл Флекснера.
15. Диагностикум из Шигелл Ньюкестл.
16. Диагностикум из Шигелл Зонне.

III. Диагностические бактериофаги

1. Бактериофаги для индикации Салмонелла тифи.
2. Бактериофаги для типирования Салмонелла тифи.
3. Бактериофаги для типирования Салмонелла паратифа В.
4. Бактериофаги для индикации и идентификации Шигелл.

IV. Сухие диагностические питательные среды

1. Сухой питательный агар.
2. Сухой агар Эндо.
3. Сухой бактоагар Плоскирева.
4. Сухой агар с эозином и метиленовой синей (Левина).
5. Висмут-сульфитагар.
6. Среда с индикатором ВР и:
   а) глюкозой
   б) лактозой
   в) мальтозой
   г) маннитом
   д) сахарозой.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

ТАБЛИЦЫ БИОХИМИЧЕСКИХ И СЕРОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА КИШЕЧНЫХ

Условные обозначения:

+	расщепляют, образуют в 1-е сутки;
—	не расщепляют, не образуют;
(+)	замедленно расщепляют;
±	большинство штаммов расщепляет;
∓	большинство штаммов не расщепляет;
(±)	большинство штаммов замедленно расщепляет;
(∓)	большинство штаммов не расщепляет, остальные расщепляют замедленно;
+ (+)	большинство штаммов расщепляет в 1-е сутки, остальные замедленно;
— (+)	большинство штаммов не расщепляет или расщепляет замедленно, остальные расщепляют;
+ + (+) —	большинство штаммов расщепляет в 1-е сутки или замедленно, остальные не расщепляют;
++	расщепляют с образованием кислоты и газа;
+—	расщепляют с образованием кислоты без газа;
++ +—	большинство штаммов и типов расщепляет с образованием кислоты и газа, некоторые — с образованием только кислоты;
х	разные биохимические типы;
к	кислотообразование в лакмусовой среде или среде Кристенсена;
щ	щелочеобразование в тех же средах;
к (щ)	большинство штаммов образует кислоту;
...	нет данных.

Таблица 5

Биохимические свойства возбудителей дизентерии, не ферментирующих маннит

Обозначения по советской схеме 1962 г.		Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Разжижение желатины	Индол	Обозначения по международной схеме	
вид	типовой антиген																серотип	подгруппа
Григорьева—Шига	1	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	*Shigella dysenteriae* Подгруппа А
Штуцера—Шмитца	2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	2	
Лардж—Сакса	3	—	+	—	—	(−)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	
	4	—	+	—	—	(+)	—	—	—	(+)	—	—	—	—	—	—	4	
	5	—	+	—	—	—	—	(+)	—	+	—	—	—	—	—	+	5	
	6	—	+	—	—	(+)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	6	
	7	—	+	—	—	(+)	—	—	—	+	—	(+)	—	—	—	+	7	
Провизорные	8	—	+	—	—	+	—	—	(+)	+	(+)	(+)	—	—	—	+	8	
	9	—	+	—	—	(+)	—	—	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—	—	9	
	10	—	+	—	—	(+)	—	—	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—	—	10	

Таблица 6

Биохимические свойства возбудителей дизентерии, ферментирующих маннит

Обозначение по советской схеме 1962 г.			Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Разжижение желатины	Индол	Обозначения по международной схеме	
вид	подвид	типовой антиген																серотип	подгруппа
Флекснера	Флекснера	1—5	—	—	+	— (+)	— (+)	—	—	— (+) +	(+) —	—	—	—	—	—	+ —	1—5	B *Shigella flexneri*
	Ньюкестл	6	—	+	+ —	—	— (+)	—	(+) —	— (+)	(+)	—	—	—	—	—	—	6	C *Shigella boydii*
	Бойда	1	—	+	+	—	—	—	—	(+)	—	(+)	—	—	—	—	—	1	
		2	—	+	+	—	— (+)	—	— (+)	— ( )	+ (+)	—	—	—	—	—	—	2	
		3	—	+	+	—	—	—	—	(+) +	+	— (+)	—	—	—	—	—	3	
		4	—	+	+	—	(+)	—	— (+)	— (+)	+ (+)	—	—	—	—	—	—	4	
		5	—	+	+	—	— (+)	—	—	( ) —	(+)	— (+)	—	—	—	—	+	5	
		6	—	+	+	—	—	—	(+)	(+) —	+	(+)	—	—	—	—	—	6	
		7	—	+	+	—	— (+)	—	—	(+) +	+	(+) +	—	—	—	—	+	7	

Продолжение табл. 6

Обозначение по советской схеме 1962 г.			Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Разжижение желатины	Индол	Обозначения по международной схеме	
вид	подвид	типовой антиген																серотип	подгруппа
Флекснера	Бойда	8	—	+	+	—	—	—	1	— (+)	+	(+)	—	—	—	—	—	8	
		9	— (+)	+	+	—	— (+)	—	—	+ (+)	(+)	— (+)	— (+)	—	—	—	+	9	
		10	—	+	+	—	— (+)	—	(+)	+	+	(+)	—	—	—	—	—	10	
		11	—	+	+	—	(+)	—	—	— (+)	— +	— (+)	—	—	—	—	(+)	11	
		12	—	+	+	— (+)	— (+)	—	—	— (+)	+	—	—	—	—	—	—	12	
		13	—	+	+	—	—	—	—	(+)	+	—	—	—	—	—	+	13	
		14	—	+	+	—	— (+)	—	—	+	+	(+)	—	—	—	—	—	14	
		15	—	+	+	—	—	—	—	— (+)	(+)	—	—	—	—	—	+	15	
Зонне			(+)	+	+	(+) —	+ (+)	—	—	—	+	— +	+ (+)	—	—	—	—		*D Shigella sonnei*

Таблица 7

Новая отечественная классификация дизентерийных бактерий (род шигелл) и их антигенная структура

	Новая советская классификация 1962 г.						Временная советская классификационная схема 1953 г.		
	вид	подвид	тип	подтип	типовой антиген	групповые антигены	вид	подвид	тип
Не расщепляющие маннит	Григорьева—Шига	—	1	—			Григорьева — Шига	—	—
	Штуцера—Шмитца	—	2	—			Штуцера—Шмитца	—	—
	Лардж—Сакса	—	3	—					
	" "	—	4	—					
	" "	—	5	—					
	" "	—	6	—					
	" "	—	7	—			Не включены в схему		
	Провизорные	—	8	—					
	"	—	9	—					
	"	—	10	—					
Расщепляющие маннит	Флекснера	Флекснера	1	1а	I	3,4	Флекснера	Флекснера	—
				1в		3,4; 6			f
			2	2а	II	3,4			c
				2в		7,8			b

Продолжение табл. 7

	Новая советская классификация 1962 г.						Временная советская классификационная схема 1953 г.		
	вид	подвид	тип	подтип	типовой антиген	групповые антигены	вид	подвид	тип
Расщепляющие маннит	Флекснера	Флекснера	3	3a	III	6; 7, 8	Флекснера	Флекснера	e
				3в		3, 4; 6; 7, 8			—
				3c		(3, 4); 6			d
			4	4a	IV	3, 4			a (Бойд 103)
				4в		3, 4; 6			—
			5	5 (X +)	V	7, 8			g (Бойд 119)
				5 (X —)		(3, 4)			—
			—	X[1]	—	7, 8			
			—	Y[1]	—	3, 4			

[1] Лишены типовых антигенов, дифференцируются по групповым.

Продолжение табл. 7

	Новая советская классификация 1962 г.						Временная советская классификационная схема 1953 г.		
	вид	подвид	тип	подтип	типовой антиген	групповые антигены	вид	подвид	тип
Расщепляющие маннит	Флекснера	Ньюкестл Бойда	—	—	VI[2]	3,4		Ньюкестл Бойд— Новгородской	—
			1	—					I
			2	—					V
			3	—					—
			4	—					III
			5	—					VII
			6	—					—
			7	—					II
			8	—					—
			9	—					—
			10	—					IV
			11	—					—
			12	—					VI
			13	—					—
			14	—					—
			15	—					—
Медленно расщепляющие лактозу	Зонне	—	—	—			Зонне	—	—

[2] Ряд ферментативных типов.

Таблица 8

Биохимические свойства салмонелл групп A, B, C, D, E

Серологическая группа		Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Мочевина	Разжижение желатины	Индол	H_2S
A		—	++	++	—	+	—	+ (+)	+ (+)	+	—	+	—	—	—	—	—	— +
B		—	++	++	—	+	—	+ (+) —	+	+ —	— —	+ (+)	—	×	—	— (+)	—	+
C	1	—	++	++[1]	—	+	—	+ (+)	+ (+)	+ —	+	+ (+)	—	×	—	— (+)	—	+ —
	2	—	++	++	—	+	—	+	+	+	+	+	—	×	—	—	—	+
D		—	++ +—	++ +—	—	+	—	+ —	+ (+)	+ —	+ —	+ —	—	— +	—	— (+)	—	+ —
E		—	++	++	—	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+

[1] S. typhi suis не расщепляет маннит.

Таблица 9

Схема антигенной структуры некоторых сальмонелл*

Группа	Тип	О-антиген	Н-антиген	
			фаза 1	фаза 2
A	*S. paratyphi A*	1, 2, 12	*a*	—
B	*S. paratyphi B*	1, 4, 5, 12	*b*	1, 2
	S. typhi murium	1, 4, 5, 12	*i*	1, 2
	S. stanley	4, 5, 12	*d*	1, 2
	S. heidelberg	4, 5, 12	*r*	1, 2
	S. reading	4, 12	*e, h*	1, 5
	S. derby	1, 4, 12	*f, g*	—
	S. abortus equi	4, 12	—	*e, n, x*
	S. abortus ovis	4, 12	*c*	1, 6
	S. brandenburg	4, 12	*e, v*	*e, n, z_{15}*
	S. bispebjerg	1, 4, 12	*a*	*e, n, x*
	S. abony	1, 4, 5, 12	*b*	*e, n, x*
	S. kisangani	1, 4, 5, 12	*a*	1, 2
	S. altendorf	4, 12	*c*	1, 7
	S. saint paul	1, 4, 5, 12	*e, h*	1, 2
	S. stanleyville	4, 5, 12	*z_4, z_{23}*	1, 2
C	*S. paratyphi C*	6, 7, *Vi*	*c*	1, 5
	S. choleræ suis	6, 7	*c*	1, 5
	S. thompson	6, 7	*k*	1, 5
	S. virchow	6, 7	*r*	1, 2
	S. oranienburg	6, 7	*m, t*	—
	S. potsdam	6, 7	*l, v*	*e, n, z_{15}*
	S. tennesse	6, 7	*z_{28}*	—
	S. mission	6, 7	*d*	1, 5
	S. bareilly	6, 7	*y*	1, 5
	S. infantis	6, 7	*r*	1, 5
	S. newport	6, 8	*e, h*	1, 2
	S. bovis morbificans	6, 8	*r*	1, 5
	S. glostrup	6, 8	*z_{10}*	*e, n, z_{15}*
	S. muenchen	6, 8	*d*	1, 2
	S. kentucky	(8), 20	*i*	*z_6*
	S. chailey	6, 8	*z_4 z_{23}*	—
D	*S. typhi*	9, 12, *vi*	*d*	—
	S. enteritidis	1, 9, 12	*g, m*	—
	S. dublin	1, 9, 12	*g, p*	—
	S. rostok	1, 9, 12	*g, p, u*	—

Продолжение табл. 9

Группа	Тип	О-антиген	Н-антиген	
			фаза 1	фаза 2
D	*S. moskow*	9, 12	*g, q*	—
	S. sendai	1, 9, 12	*a*	1, 5
	S. dar-es-salaam	1, 9, 12	*l, w*	*e, n*
	S. eastbourne	1, 9, 12	*e, h*	1, 5
	S. panama	1, 9, 12	*l, v*	1, 5
	S- gallinarum-pullorum	1, 9, 12	—	—
E	*S. senftenberg*	1, 3, 19	*g, s, t*	—
	S. london	3, 10	*l, v*	1, 6
	S. anatum	3, 10	*e, h*	1, 6
	S. lexington	3, 10	z_{10}	1, 5
	S. wellevreden	3, 10	*r*	z_6
	S. meleagridis	3, 10	*e, h*	*l,w*
	S. give	3, 10	*l, v*	1, 7
	S. amager	3, 10	*y*	1, 2
	S. muenster	3, 10	*e, h*	1, 5
	S. newington	3, 15	*e, h*	1, 6
	S. selandia	3, 15	*e, h*	1, 7
	S. illinois	(3), (15), 34	z_{10}	1, 5
F	*S. aberdeen*	11	*i*	1, 2
	S. rubislaw	11	*r*	*e, n, x*
G	*S. worthington*	1, 13, 23	*z*	*l, w*
	S. poona	13, 22	*z*	1, 6
H	*S. carrau*	6, 14, 24	*y*	1, 7
	S. onderstepoort	(1), 6, 14, 25	*e,* (*h*)	1, 5
	S. buzu	(1), 6, 14, 25	*i*	1, 7
J	*S hvittingfoss*	16	*b*	*e, n, x*
	S. gaminara	16	*d*	1,7
Другие группы	*S. kirkee*	17	*b*	1,2
	S. minnesota	21	*b*	*e, n, x*
	S. 37021	28	*i*	*e, n,* z_{15}
	S. inverness	38	*k*	1,6
	S. champaign	39	*k*	1,5
	S. riogrande	40	*b*	1,5
	S. millesi	1,40	*l, v*	1,2

[1] Более полный перечень серологических типов салмонелл см. в книгах: Кауфман. Семейство кишечных бактерий, 1954 (русск. пер. 1959 г.); И. В. Шур. Заболевания салмонеллезной этиологии. М., 1964.

Таблица 10

Антигенное строение, ферментативная характеристика наиболее часто встречающихся энтеропатогенных кишечных палочек

Условное обозначение	Антигены			Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Мочевина	Разжижение желатины	Индол	Фотес Проскауер	Метилрот	Цитрат аммония
	O	K	H																			
Не имеют	111	K58(B4)	(2)	+ −	++ +−	++ +−	+	+	−	(+)	(+)	+	+ (+)	+	(+)	−	−	−	+	−	+	−
	111	K58(B4)	(12)	+	++	++	−	+	−	(+)	(+)	+	+	(+)	(+)	−	−	−	+	−	+	−
	55	K59(B5)	(6)	+	++	++	+	×	−	(+)	−	+	+	+	−	−	−	−	+ −	−	+	−
	26	K60(B6)	(11)	+	++	++	+	+	−	− +	+	+	+	− +	×	−	−	−	+	−	+	−
	86	K61(B7)	(34)	+	++	++	+	+	−	+	−	+	+	+	×	−	−	−	+	−	+	−
	119	K69(B14)	6	+	++	+	+	−	−	+	+	+	+	−	(+)	−	−	−	+	−	+	−
	124	K72(B17)	16, 19 30, 32	(+)	++	+	− (+)	+	−	×	+	+	+	×	− (+)	−	−	−		−	+	−

Продолжение табл. 10

Условное обозначение		Антигены O	Антигены K	Антигены H	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Мочевина	Разжижение желатины	Индол	Фогес Проскауер	Метилрот	Цитрат аммония
Не имеют		127	K68(B8)	—	+	++	++	+	+	—	(+)	—	+	+	+	—	—	—	—	(+)	—	+	—
		126	K67(B12)	(2)	+	++	++	(+)	+	—	(+)	(+)	+	+	+	(+)	—	—	—	+	—	+	—
Описаны советскими авторами	«408»				+	++	++	—	+	—	+	+	+	+	+	···	—	—	—	+	—	+	—
	«9»				+	++	++	+	+	—	(+)	+	+	(+)	+	(+)	—	—	—	+	—	+	—
	«145»	20	K84(B)	34	+	++	++	(+)	+	—	+ (+)	+	+	+	+	(+)	—	—	—	+	—	+	—
	«561»				+	++	++	—	+	···	—	+	+	—	+	···	—	—	—	+	—	+	—

Таблица 11

Дифференциальные биохимические признаки некоторых представителей семейства кишечных бактерий

Род, вид бактерий	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Сахароза	Мальтоза	Адонит	Дульцит	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза	Салицин	Инозит	Малонат	Разжижение желатины	Лакмусмолоко или цитратная среда Кристенсена	Створаживание молока	Индол	H_2S
Шигеллы	—[1]	+[2]	×	— (+)	— (+)	—	— (+)	×	×	— (+)	×	—	—	—	—	К	—	— +	—
Алкалесценс-диспар типы О:1, О:2	×	+	+	×	+	—	×	+ —	+	+	+ —	— (+)	—	—	—	Щ	—	+	—
Алкалесценс-диспар типы О:3,О:8	×	+	+	×	+	—	×	+ —	+	+	+ —	— (+)	— +	—	—	К (Щ)	+ —	+	—
Сальмонеллы	—	++ +—	++ +—	—	+ (+)	—	+ —	+	+ —	+ —	+ —	—	×	—	— (+)			—	+
Аризона	+ (±)	++ +—	++	—	+	—	—	+	+	+	+ —	— (+)	—	—	+			—	+
Цитробактер	+ (±)	++	++	— (+)	+	—	×	+	+	+	+	— (+)	— (+)	— (+)	—			—	+

[1] Шигеллы Зонне медленно разлагают лактозу.
[2] Некоторые биотипы шигеллы Ньюкестл образуют газ в глюкозе.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

СХЕМА ХОДА ИССЛЕДОВАНИЯ ИСПРАЖНЕНИЙ, МОЧИ, ТРУПНОГО МАТЕРИАЛА НА ШИГЕЛЛЫ И САЛМОНЕЛЛЫ

1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день
1. Регистрация исследуемого материала	—	—	—	—	—
2. Первичный посев на плотные питательные среды	Просмотр чашек и отсев подозрительных колоний на среду Рассела или «скошенный столбик»[1]	Серологическая идентификация выделенных культур. Посевы на пестрый ряд и для определения чувствительности к антибиотикам и фагу	Учет биохимических свойств, чувствительности к антибиотикам и фагу. Выдача положительного ответа	—	—
3. Посев в среды обогащения: селенитовая среда	Высев на среду Плоскирева	Просмотр чашек. Отсев подозрительных колоний[1]	Серологическая идентификация выделенных культур. Посевы на пестрый ряд и для определения чувствительности к антибиотикам и фагу	Учет биохимических свойств, чувствительности к антибиотикам и фагу. Выдача положительного ответа	—

[1] При отсутствии подозрительных колоний на чашках может быть выдан отрицательный ответ: на 2-й день—если не производили посев в среды обогащения; на 3-й и 4-й — после просмотра чашек с высевом из сред обогащения, если результат прямого посева также был отрицательным.

Продолжение приложения 5

1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день
Среда Мюллера (Кауфмана и др.)	Высев на висмут-сульфитный агар	а) Первый просмотр чашек. Отсев подозрительных колоний	а) Серологическая идентификация выделенных культур. Посевы на пестрый ряд и для определения чувствительности к антибиотикам и фагу	а) Учёт биохимических свойств, чувствительности к антибиотикам и фагу. Выдача положительного ответа.	—
		б) Чашки оставляют в термостате еще на 24 часа	б) Повторный просмотр чашек с висмут - сульфитным агаром. Отсев подозрительных колоний[1]	б) Серологическая идентификация выделенных культур. Посевы на пестрый ряд и для определения чувствительности к антибиотикам и фагу	Учет биохимических свойств, чувствительности к антибиотикам и фагу. Выдача положительного ответа

[1] При отсутствии подозрительных колоний на чашках может быть выдан отрицательный ответ: на 2-й день — если не производили посев в среды обогащения; на 3-й и 4-й — после просмотра чашек с высевом из сред обогащения, если результат прямого посева также был отрицательным.

СОДЕРЖАНИЕ

I. Общие сведения

II. Микробиологическая диагностика

1. Материал для исследования 6
2. Ход исследования испражнений, мочи, дуоденального содержимого, трупного материала 10
3. Исследование крови для ранней диагностики брюшного тифа, паратифов А и В и других салмонеллезных заболеваний 24
4. Сроки выдачи и формулировка ответов 25
5. Затруднительные случаи идентификации выделенных культур 27
6. Фаготипирование брюшнотифозных бактерий . . . 35
7. Фаготипирование паратифозных В бактерий (S. paratyphi B) 38

III. Серологическая диагностика кишечных заболеваний салмонеллезной этиологии

1. Реакция агглютинации (Видаля) при брюшном тифе, паратифах и прочих салмонеллезах 41
2. Реакция пассивной Vi-гемагглютинации (ViРПГА) . . 44

IV. Дополнительные исследования

1. Применение сред с антибиотиками для выделения шигелл 47
2. Серологическая диагностика дизентерии 47
3. Серологическая диагностика при колиэнтеритах . . 48
4. Реакция нарастания титра фага (РНФ) 48

Приложения

1. Применение салмонеллезного О-бактериофага . . . 50
2. Рецептура рекомендуемых консервирующих смесей, питательных сред и индикаторов 51
3. Перечень диагностических препаратов, выпускаемых научно-исследовательскими институтами вакцин и сывороток и институтами эпидемиологии и микробиологии для диагностики кишечных инфекций 57
4. Таблицы биохимических и серологических свойств бактерий семейства кишечных 60
5. Схема хода исследования испражнений, мочи, трупного материала на шигеллы и салмонеллы 73

Редактор М.А.Смирнова-Мутушева
Техн.редактор А.М.Миронова
Корректор Н.П. Задорнова

Инструкция перепечатана Свердловской городской санитарно-эпидемиологической станцией

Ответственный за выпуск
АСТАХОВА А.Г.

НС 18191 Подписано к печати 24/У-68 г.
Тираж 180 Заказ 1040 Цена 26 коп.
Цех № 4 объединения "Полиграфист",
ювск., Университетская пл., 9

gost.e-ecolog.ru