МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
ГЛАВНОЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ УПРАВЛЕНИЕ

ЛЕНИНГРАДСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ имени ПАСТЕРА

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ

Ленинград · 1975 г.

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель начальника
Главного
санитарно-эпидемиологического
Управления Министерства
здравоохранения РСФСР
Л. М. Иванова
3 декабря 1974 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ

Ленинград · 1975 г.

Настоящие методические указания составлены на основе «Инструкции по эпидемиологии, клинике, диагностике и профилактике сальмонеллезов среди людей и животных», утвержденной ГСЭУ Министерства здравоохранения РСФСР в 1965 году.

Переиздание данного документа диктуется необходимостью сделать более целенаправленной и эффективной работу органов здравоохранения, санитарной и ветеринарной служб в области борьбы с сальмонеллезами, а также координировать и по возможности унифицировать и улучшить методы и лабораторного выявления, учета и регистрации, эпидемиологического анализа и профилактики этих заболеваний.

В составлении методических указаний принимали участие: Главное санитарно-эпидемиологическое управление Министерства здравоохранения РСФСР, Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Ленинградский ордена Трудового Красного Знамени НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Центральный НИИ эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР, Московская городская санэпидстанция, Ленинградская городская санэпидстанция, Главное управление ветеринарии Министерства сельского хозяйства РСФСР, Республиканская научно-производственная лаборатория.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Роль лабораторных исследований при сальмонеллезах особенно велика, т. к. клиническое течение их отличается большим разнообразием, наличием значительного количества неясных, стертых форм, затрудняющих постановку клинического диагноза. При этих заболеваниях бактериологические, а в отдельных случаях серологические исследования, могут обеспечить точную постановку диагноза и надежный контроль выписки больного из стационара.

Бактериологические исследования

Бактериологическое обследование больного используется в целях подтверждения диагноза сальмонеллезного заболевания или выявления бактерионосительства у переболевших и у лиц, общавшихся с больными, а также у работников пищевых предприятий, детских и лечебных учреждений. Оно может быть использовано для выявления путей передачи инфекции при исследовании объектов внешней среды.

Вероятность получения положительного результата бактериологического обследования зависит от правильного и своевременного сбора материалов для исследования, а также от кратности обследования больного и подбора соответствующих питательных сред.

Материал, подлежащий исследованию, сроки и способы его сбора

Учитывая характер развития инфекционного процесса при сальмонеллезах, возбудители их могут быть выделены из крови, испражнений, рвотных масс и промывных вод желудка, мочи, желчи (дуоденального содержимого), гноя и эксудата воспалительных очагов. В тех случаях, когда заболевание заканчивается летально, бактериологическому исследованию должен подвергаться секционный материал.

Бактериологическое исследование крови проводится во всех случаях, когда заболевание протекает по типу генерализованной инфекции и токсикоинфекции, а также при других показаниях по усмотрению лечащего врача.

Так как период бактериемии при сальмонеллезах как правило очень кратковременный, кровь для бактериологического исследования необходимо брать по возможности в наиболее ранние сроки заболевания. Кровь берут шприцом из локтевой

вены в количестве 5—10 мл (у маленьких детей из пальца, пятки или мочки уха).

Испражнения исследуют начиная с первых часов заболевания, желательно до начала лечения, дальше по мере надобности на протяжении всего периода болезни. При выписке из стационара исследование, испражнений проводят не ранее, чем через 24 часа после последнего приема антибиотиков (если они применялись).

Для обнаружения сальмонелл, которые вызывают патологические изменения в тонком кишечнике, отбор проб следует делать из последней, более жидкой порции испражнений.

Наиболее полноценным материалом для исследования являются испражнения, собранные непосредственно после дефекации. Сбор испражнений производят из суден, горшков, специальных лотков, пеленок и т. д. стерильной палочкой или трубочкой, либо деревянным шпателем. Необходимо следить, чтобы на суднах, горшках и т. п. не оставалось следов дезинфицирующих средств.

Профилактическое обследование здоровых лиц на носительство сальмонелл можно проводить как с предварительной дачей слабительного, так и без него. Испражнения забирают через 2—3 часа после дачи слабительного (25—30 г. сернокислой магнезии), которое является одновременно и желчегонным. Сбор испражнений в этих случаях производится в стерильные эмалированные тарелки или лотки, картонные тарелки или стаканчики.

При массовых обследованиях могут быть использованы ректальные трубки.

Собранные порции испражнений помещают в стерильные баночки или же в пробирки с консервантом (глицериновая смесь).

Для сбора испражнений может быть также использована селенитовая среда обогащения. Как консервант, так и селенитовую среду разливают в пробирки по 5—6 мл, при этом количество фекалий должно составлять не менее $^1/_3$ объема среды.

Рвотные массы и промывные воды исследуют во всех случаях острых кишечных заболеваний. Материал собирают в стерильные банки в количестве не менее 50—100 мл и пересылают в лабораторию.

Рекомендуется по возможности исследовать первые порции промывных вод. В тех случаях, когда промывание желудка производилось с применением марганцево-кислого калия или других дезинфицирующих средств, промывные воды не подле-

жат бактериологическому исследованию. Мочу исследуют у больных, начиная с первой недели заболевания, а также у реконвалесцентов.

Мочу в количестве 20—30 мл собирают в стерильную посуду (банки, флаконы) с соблюдением всех необходимых условий, исключающих внесение посторонней микрофлоры и доставляют в лабораторию.

Исследование желчи (дуоденального содержимого) проводится у больных в период реконвалесценции, с целью контроля освобождения организма от возбудителя, а также у бактерионосителей.

Сбор желчи осуществляется при помощи дуоденального зонда в лечебном учреждении. Вопрос о возможности проведения дуоденального зондирования решается клиницистом индивидуально для каждого обследуемого. Обязательным оно является для декретированных групп населения.

Полученные с помощью зонда три порции желчи (А, В, С) собирают в стерильные пробирки и доставляют в лабораторию.

Исследование пунктата воспалительных очагов (гноя), естественно, проводится в тех случаях, когда заболевание осложняется, при этом преследуется цель выяснить этиологическую обусловленность локального процесса. Пунктат собирают в стерильные пробирки и пересылают в лабораторию.

Исследование секционного материала имеет целью уточнить диагноз. Бактериологическому исследованию подлежат взятые с соблюдением правил асептики кусочки паренхиматозных органов (печень, селезенка, почки), кровь из сердца, желчь, мезентериальные узлы, костный мозг, а также отрезки тонкого и толстого кишечника с содержимым. Материал помещают в стерильную посуду (банки, чашки Петри) и направляют в лабораторию.

Ход исследования

При посеве материала с целью обнаружения сальмонелл необходимо использовать набор элективных плотных и жидких питательных сред, обеспечивающих наиболее благоприятные условия для роста микробов рода сальмонелл (среды Плоскирева и висмут-сульфит агар, а также среды обогащения — Мюллера, селенитовая, магниевая и др.). Использование сред обогащения является обязательным, так как они значительно повышают высеваемость при сальмонеллезах, особенно, когда количество возбудителя в исследуемом материале невелико.

Применяемые питательные среды должны постоянно подвергаться бактериологическому контролю с помощью количественного метода (см. приложение № 1).

Первый день исследования. Кровь в количестве 5—10 мл непосредственно у постели больного или в поликлинике засевают во флаконы с 50—100 мл. 10—20% желчного бульона или в среду Раппопорт. При отсутствии желчи кровь может быть засеяна в обычный мясопептонный бульон, либо по способу Клодницкого и Самсонова в 80—100 мл стерильной дистиллированной или водопроводной воды.

Если кровь не может быть засеяна в питательную среду у постели больного, ее доставляют в лабораторию в пробирке.

В лаборатории отделяют сыворотку от сгустка, последний тщательно измельчают при помощи стеклянной палочки или трубочки и засевают в питательную среду, в соотношении 1 : 10 также как и цельную кровь. Посев помещают в термостат при 37° и через 20—24 часа делают первый высев на чашки Петри с плотной средой (Эндо, Левина или слабощелочной агар). При получении отрицательного результата посевы крови в жидкой среде сохраняют в термостате, а высевы на плотные среды повторяют на 2—5 и 7 сутки.

Посев испражнений проводят на плотные питательные среды (Плоскирева, Левина, висмутсульфит агар) и на одну из упомянутых выше сред обогащения. На каждую чашку следует брать новую порцию посевного материала и в таком количестве, чтобы получить рост изолированных колоний. Посевы помещают в термостат при 37°, чашки со средой Плоскирева и Левина на 18—24 часа, с висмут-сульфит агаром на 24—48 часов, среды обогащения — на 18—24 часа.

В отдельных случаях, требующих особо тщательного исследования, среды обогащения рекомендуется инкубировать 48—72 часа.

Исследуемый материал хранят в холодильнике, пока не будут просмотрены чашки с посевами.

Рвотные массы и промывные воды желудка перед посевом должны быть нейтрализованы 10% раствором соды. Посев рвотных масс и промывных вод производят на те же дифференциальные среды, что и испражнения. Мочу засевают в среду обогащения.

При посеве рвотных масс, промывных вод желудка и мочи используют селенитовый бульон двойной концентрации. Объем посевного материала должен быть равен объему среды. Засеянные среды помещают в термостат при 37°.

Желчь засевают во флаконы с 50 мл питательного бульона и в одну из сред обогащения. Засеянные среды вместе с остатками желчи помещают в термостат, где выдерживают в течение 1—7 дней. Каждая порция желчи (А, В, С) может быть засеяна раздельно, но можно сделать засев смеси двух порций (В и С).

Пунктат воспалительных очагов засевают в желчный бульон и в среду обогащения. При посеве секционного материала кусочки перенхиматозных органов, мезентериальные узлы и отмытые от содержимого кусочки тонкого кишечника тщательно измельчают в стерильных фарфоровых ступках, в которые добавляют 1—2 мл физиологического раствора. После отстаивания взвесь из верхней части надосадочной жидкости засевают пипеткой на те же плотные питательные среды, что и испражнения и в жидкую среду обогащения. Отдельно делают посев содержимого кишечника.

Кровь засевают во флаконы с желчным бульоном или среду Раппопорт и помещают в термостат на 2—7 суток. Все посевы секционного материала инкубируют так же как и посевы испражнений.

Первичный посев на плотные питательные среды и пересев с жидких питательных сред на плотные следует проводить шпателем.

Второй день исследования. Через 18—24 часа проводят просмотр посевов на плотных питательных средах в чашках Петри и отбор подозрительных колоний. Выросшие в чашках Петри с плотными дифференциальными средами колонии рассматривают невооруженным глазом или с помощью лупы с целью отбора подозрительных на сальмонеллы и другие патогенные энтеробактерии.

На среде Плоскирева сальмонеллы растут в виде слегка мутноватых колоний, неокрашенных или слабо окрашенных. На висмут-сульфит-агаре почти все сальмонеллы растут в виде черных колоний, с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды вокруг и под колонией. Исключение в этом отношении составляют сальмонеллы паратифа А, некоторые сальмонеллы из группы «С» и других групп, которые при росте на висмут-сульфит-агаре образуют светлые нежные, зеленоватые колонии. Посевы на среды висмут-сульфит-агар просматривают через 24—48 часов(через 48 часов дифференциация колоний более наглядная). Подозрительные колонии в количестве 3—5 и более с каждой чашки снимают и пересевают на комбинированные

среды (среду Олькеницкого и другие среды). На таких средах посев делают сначала штрихом по скошенной поверхности, а затем уколом в глубь столбика. Одновременно делают посев в пептонную воду для определения индола.

Посев колоний с чашек может быть сделан и на так называемый короткий пестрый ряд, включающий скошенный агар и среды Гисса с лактозой и глюкозой.

Каждая новая серия среды Олькеницкого, столбика с мочевиной и среды Гисса должна быть отконтролирована набором соответствующих культур.

В этот же день делают пересевы со сред обогащения и с других жидких питательных сред на плотные среды. Со среды Мюллера пересев производят на висмут-сульфит-агар, селенитового бульона на среду Плоскирева или висмут-сульфит-агар. Высев со сред обогащения можно делать и на среды Эндо или Левина (при слабом помутнении среды обогащения).

Сальмонеллы на среде Эндо растут в виде прозрачных, нежных колоний голубоватых или слегка розоватых; на среде Левина — в виде прозрачных колоний, иногда с небольшим фиолетовым оттенком.

Посевы крови, пунктата и других материалов после высева из сред обогащения на плотные среды, сохраняют в термостате и при отсутствии роста на плотных средах высев повторяют в сроки указанные выше.

Третий день исследования. Через 48 часов проводят индентификацию выделенных культур по морфологическим и культурально-биохимическим свойствам в коротком пестром ряду, изучение антигенной структуры выделенных культур в реакции агглютинации на стекле с монорецепторными сальмонеллезными сыворотками просмотр чашек с посевами со сред обогащения и отбор подозрительных колоний.

Изучение выделенных культур начинают с учета их подвижности и ферментативной активности (речь идет о выделенной чистой культуре). Если культура ферментирует лактозу и глюкозу с образованием газа или расщепляет мочевину, она не относится к роду сальмонелла.

Расщепление мочевины в столбике с мочевиной устанавливают по изменению цвета на коричневато-фиолетовый, при индикаторе тимоловый синий в сочетании с реактивом Андреде, или до оранжевого при индикаторе ВР; в среде Олькеницкого (индикатор фенол рот) по восстановлению цвета среды до первоначальной окраски (рецепт среды Олькеницкого см. приложение № 2).

Культуры, не ферментирующие лактозу и не расщепляющие мочевину, подозрительные как сальмонеллы, подвергают дальнейшему изучению.

Подвижность культуры определяют при посеве ее уколом в полужидкий агар (0,3—0,5%) или при посеве в полужидкие среды с углеводами. Неподвижные микробы растут только по ходу укола, тогда как подвижные дают диффузный рост и помутнение всей среды. Большинство представителей рода сальмонелла обладают хорошо выраженной подвижностью, но встречаются и неподвижные варианты. Неподвижные культуры, ферментирующие глюкозу без образования газа, подозрительны как дизентерийные, их испытывают в реакции агглютинации на стекле с дизентерийными сыворотками. Подвижные палочки, расщепляющие глюкозу без образования газа, подозрительны, как брюшнотифозные, их испытывают в реакции агглютинации с соответствущими сыворотками.

Подвижные палочки, не ферментирующие лактозу (на среде Олькеницкого — лактозу и сахарозу), ферментирующие глюкозу, образующие газ, и не образующие индол — подозрительны как сальмонеллы и подлежат испытанию в реакции агглютинации с набором монорецепторных агглютинирующих сывороток. Необходимо иметь в виду, что среди сальмонелл встречаются культуры и не образующие газа.

Серологическая идентификация сальмонелл начинается с испытания их в реакции агглютинации на стекле со смесью сальмонеллезных О-сывороток, к антигенам 1, 2, 3, 4, 5, 6_1, 6_2, 7, 8, 9, 10.

В лаборатории не следует готовить самостоятельно смеси из отдельных монорецепторных О- и Н-сывороток, т. к. разведение этих сывороток приводит к снижению их чувствительности. Можно готовить смеси из неадсорбированных сывороток к представителям разных серологических групп сальмонелл (например, из сывороток против сальмонелл: paratyphi A, typhimurium, cholerae suis, newport, enteritidis, london).

В этом случае берут по 1 мл каждой из шести сывороток и добавляют 19 мл физиологического раствора для того, чтобы получить разведение каждой сыворотки 1 : 25.

При отсутствии реакции, культуру испытывают со смесью О-сывороток к редким типам, включающей антитела к антигенам сальмонелл редких групп (11, 13, 22, 23 и др.).

При получении положительной реакции агглютинации со смесью, культуру испытывают с каждой из О-сывороток от-

дельно, для определения принадлежности ее к одной из О-групп по классификации Кауфмана—Уайта (см. приложение № 3).

После установления принадлежности культуры к определенной О-группе (А, В, С, Е и др.), такую культуру испытывают с монорецепторными Н-сыворотками, сначала первой фазы, а затем второй. Начинать следует с Н-сывороток, соответствующих наиболее распространенным в данной местности серотипам сальмонелл. Таким способом устанавливают антигенную формулу выделенной культуры. По антигенной формуле устанавливают серотип, пользуясь схемой Кауфмана—Уайта.

Для агглютинации с О-сывороткой культуру следует брать с верхней части роста на скошенном агаре, для агглютинации с Н-сыворотками — из конденсата или самой нижней части роста культуры (*наиболее подвижные особи*).

Для дальнейшего изучения культуры пересевают на среды Гисса с маннитом, сахарозой и на пептонную воду для определения сероводорода и индола (при использовании скошенного столбика с мочевиной). При работе со средой Олькеницкого достаточно пересеять культуру на среду Гисса с маннитом и на пептонную воду для определения индола. Одновременно можно определять чувствительность культуры к антибиотикам.

Если выделенная культура обладает типичными для сальмонелл морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами и дает четкие результаты в реакции агглютинации с определенными монорецепторными сыворотками, ответ о выделении сальмонеллы того или иного серологического типа может быть дан на третий день.

В этот же день проводится просмотр чашек с посевами на висмут-сульфит-агар и с высевами со сред обогащения с целью отбора подозрительных колоний для дальнейшего изучения.

Если подозрительных колоний нет ни в чашках с прямым посевом, ни в чашках с высевом из сред обогащения, дается ответ об отрицательном результате исследования.

Четвертый день исследования. Является днем выдачи окончательного ответа. Проводят учет ферментативной активности культур, сопоставляют ее с результатами изучения антигенной структуры.

Иногда могут быть выделены культуры сальмонелл, отклоняющиеся от типичной характеристики, требующие для их окончательной идентификации применения дополнительных методов исследования. Эти отклонения могут быть следующими:

а) культура дает четкую агглютинацию с О- и Н-сыворотками, но не типична по ферментативным свойствам;

б) культура типична по ферментативным свойствам, но не агглютинируется или слабо реагирует с О- и Н-сальмонеллезными сыворотками. В таких случаях, прежде всего, необходимо убедиться в чистоте культуры, для чего проводят ее рассев на чашку со слабощелочным агаром, затем отбирают 5—6 наиболее типичных колоний и изучают их биохимические свойства и антигенную структуру. Иногда для получения чистой культуры рассевы необходимо повторять.

Такие культуры целесообразно испытать с сальмонеллезным О-бактериофагом (см. приложение № 4) или поливалентным лечебным сальмонеллезным бактериофагом группы АВСДЕ, производства Горьковского НИИЭМ.

В тех случаях, когда выделенная культура обладает биохимическими свойствами сальмонелл, но не агглютинируются ни О- ни Н-сыворотками и не лизируются О-фагом, необходимо дифференцировать ее от других представителей семейства кишечных бактерий, главным образом, от бактерий цитробактер и гафния.

Для более быстрого выявления ферментации лактозы и сахарозы рекомендуется засеять культуру в среды Гисса с повышенным содержанием углевода (4%) и пониженным пептона (0,2—0,3%).

Необходимо также проверить отношение таких культур к сорбиту, салицину, дульциту и лизину. Сальмонеллы салицин не ферментируют, а дульцит и сорбит чаще всего расщепляют в первые сутки, лизин декарбоксилируют.

Следует иметь ввиду, что S. typhi suis не ферментирует маннита.

В случаях, когда культура типична по своим ферментативным свойствам, но не дает, четкой агглютинации, рекомендуется рассев культуры и повторная агглютинация.

При серологической индентификации сальмонелл иногда возникает трудность в определении жгутикового антигена или одной из его фаз, что может быть связано с угнетением или утратой Н-антигена (потеря подвижности), либо с преобладанием в популяции какой-либо одной фазы. При этом следует помнить, что для некоторых сальмонелл является характерным отсутствие подвижности (например S. gallinarum pullorum) или отсутствие первой фазы (например, S. cholerae suis).

Для выявления одной из фаз жгутикового Н-антигена лучше всего использовать феномен роения в чашках Петри по Свену Гарду.

Для воспроизведения этого феномена используется 0,8—1% слабощелочной агар, разлитый в чашки Петри. При добавлении к агару сыворотки гомологичной фазы, подвижность бактерий, зависящая от этой фазы будет угнетаться, а фаза, не подвергающаяся влиянию сыворотки, будет разрастаться, наплывая на поверхность агара в виде макроколоний чистой культуры.

В центр чашки Петри в виде бляшки петлей наносят испытуемую культуру (18 часового роста на свежескошенном агаре). Чашки Петри помещают в термостат на 18—20 часов. Агглютинацию с Н-сыворотками проводят из краевой части колонии.

В последние годы нередко выделяются культуры S. java, которые по антигенной структуре идентичны с S. paratyphi B. Для дифференциации этих культур лучше всего использовать среду с d-тартратом: S. java в отличие от паратифа В ферментирует d-тартрат.

Для выявления источника инфекции и путей ее передачи в случае групповых заболеваний, вызванных S. typhi murium желательно определить фаготип последних. Набор типовых фагов к S. typhi murium имеется во Всесоюзном центре по изучению сальмонелл, куда и следует направлять культуры.

Необходимо иметь ввиду, что иногда могут быть выделены культуры, окончательная идентификация которых в лабораториях затруднена из-за ограниченного набора сывороток. В таких случаях, с помощью О-сывороток определяется принадлежность культуры к одной из О-групп (А. В, С, Д, Е и т. д.), дается ответ о выделении сальмонеллы той или иной группы, а для окончательного изучения и установления серологического типа культуру отсылают в лаборатории городских, областных, краевых санитарно-эпидемиологических станций или в соответствующие отделы институтов эпидемиологии, микробиологии и гигиены, институтов вакцин и сывороток.

Серологические исследования

Серологическое исследование крови (выявление специфических антител) в диагностике сальмонеллезов может оказать определенную помощь. Известно, что в большинстве случаев у больных происходит выраженное нарастание титра антител, ко второй — третьей неделе заболевания, а у переболевших — их сохранение в течение 1—2 месяцев, а в отдельных случаях и более длительное время.

Серологическое исследование крови может преследовать различные цели:

1. Подтверждение клинического диагноза при получении отрицательного результата бактериологического обследования больного.

2. Ретроспективное подтверждение диагноза сальмонеллеза.

Кровь для серологического исследования берут из локтевой вены или из пальца.

Специфические антитела могут быть выявлены с помощью:

а) реакции агглютинации по типу реакции Видаля. В качестве антигенов могут быть использованы живые культуры сальмонелл (включая аутоштаммы), стандартные групповые бактериальные диагностикумы и монорецепторные О- и Н-диагностикумы;

б) реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) со стандартными эритроцитарными диагностикумами.

В настоящее время Московский НИИЭМ выпускает комплексный эритроцитарный сальмонеллезный О-диагностикум основных серо-групп сальмонелл (А, В, C_1, C_2, Д, Е) и набор эритроцитарных О-диагностикумов отдельных серогрупп: А — 1, 2, 12; В — 4, 12; C_1 — 6, 7; C_3 — 6, 8; Д — 9, 12 и Е — 3, 10.

Для постановки РПГА используют либо круглодонные агглютинационные пробирки одного диаметра, либо полистироловые пластинки.

Сначала исследуемые сыворотки проверяют в РПГА с комплексным эритроцитарным сальмонеллезным О-диагностикумом. Далее, при наличии агглютинации с комплексным О-диагностикумом, РПГА ставят раздельно с эритроцитарными О-диагностикумами групп А, В, C_1, C_2, Д и Е.

Методика постановки реакции и техника учета результатов изложены в наставлении, прилагаемом к набору диагностикумов. Достоверные результаты серологического исследования крови могут быть получены при повторных испытаниях сыворотки крови больных в динамике инфекционного процесса. Первую сыворотку получают от больного на 1—3 день болезни, вторую на 7—14 день.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

За последние 20 лет в СССР и за рубежом отмечается рост заболеваний сальмонеллезной этиологии. Увеличилось и число циркулирующих патогенных для людей и животных серологических типов сальмонелл.

На состояние заболеваемости сальмонеллезами оказывает влияние степень инфицированности сальмонеллами отечественных пищевых продуктов; объем и ассортимент ввозимой импортной пищевой продукции; санитарное состояние пищевых объектов; водопроводных и канализационных сооружений, а также степень санитарной грамотности населения.

Несмотря на ряд новых данных об источниках и путях распространения сальмонеллезов, эпидемиология их остается еще недостаточно изученной.

Сальмонеллезы регистрируются на протяжении всего года, рост заболеваний отмечается в период с июня по октябрь месяцы. Возникновение заболеваний связано в основном с нарушениями санитарно-гигиенических и технологических правил сбора, обработки и изготовления пищевых продуктов, транспортировки и их хранения в предприятиях мясо-молочной промышленности, торговли, общественного питания, детских учреждений и в быту.

Сальмонеллезы встречаются в виде разрозненных спорадических случаев, групповых заболеваний и вспышек.

Групповые заболевания и вспышки, возникающие чаще всего в результате употребления какого-либо одного пищевого продукта, характеризуются коротким инкубационным периодом, в среднем от 12 до 24 часов (наблюдается укорочение инкубации до 6—8 часов и удлинение до 48—72 часов), внезапным началом, острым и коротким течением, выделением, как правило, одного и того же серотипа сальмонелл у заболевших. В этих случаях сравнительно легко выявляется общий для заболевших источник инфекции и путь передачи.

Значительные трудности представляет расшифровка спорадических заболеваний, в связи с большим числом возможных источников и путей передачи инфекции, поздним их выявлением, а следовательно несвоевременным расследованием причин заболеваний.

Спорадические случаи также, как групповые заболевания и вспышки, чаще всего связаны с употреблением зараженных пищевых продуктов, особенно в теплое время года.

Заболевания людей сальмонеллезами связано с широкой циркуляцией разнообразных серотипов сальмонелл среди животных разных видов, являющихся основным резервуаром сальмонеллезной инфекции в природе.

Источником инфекции при сальмонеллезах являются в основном окружающие человека животные и птицы — носители сальмонелл. Наибольшее эпидемиологическое значение пред-

ставляют те из них, мясо или другие продукты которых используются человеком для питания.

В соответствии с патогенезом и эпизоотологией (по данным профессора И. В. Шура) различают следующие формы сальмонеллезов у животных: первичные формы с ясно выраженной клинической картиной, свойственной определенному виду животных и вызванные специфической для данного заболевания сальмонеллой (паратиф телят; свиней, тиф поросят, инфекционный аборт лошадей и овец, белый понос цыплят); вторичные сальмонеллезы животных наиболее распространенные и наиболее опасные для людей, в связи с трудностями их диагностики. Не являясь самостоятельными заболеваниями животных, они наслаиваются на желудочно-кишечную патологию, поражение органов дыхания, травмы, септико-пиемические процессы и истощение; бактерионосительство, при котором внешне здоровые животные выделяют сальмонеллы с калом, мочой, носовой слизью, слюной.

Происхождение сальмонеллезного бактерионосительства у животных мало изучено, но бактериовыделение у них по-видимому может быть длительным.

Сальмонеллы обнаруживаются у крупного и мелкого рогатого скота, а также свиней, домашней птицы, голубей, домашних (собаки, кошки) и диких животных и птиц, пресмыкающих, рыб, моллюсков (устриц, улиток).

Важно отметить большое разнообразие выделяемых животными, в том числе и рогатым скотом серологических типов сальмонелл с преобладанием S. dublin и нередко typhimurium, у свиней — S. cholerae suis, нередко S. anatum, S. muenchen, S. dublin и др.

Как резервуар инфекции наименьшее значение имеют по-видимому овцы, но и у них обнаруживают различные сальмонеллы: S. abortus bovis, S. typhimurium, S. anatum, S. newport.

Источником сальмонеллезных заболеваний могут быть собаки, кошки, среди которых по данным разных авторов носительство отмечается в пределах от 3 до 10%.

Большая роль в эпидемиологии сальмонеллезов принадлежит повсеместно распространенным мышевидным грызунам, среди которых нередко возникают эпизоотии и длительное бактерионосительство (в отдельных случаях до 20—40%).

Особенно часто носителями сальмонелл становятся крысы и мыши в местах убоя животных и в пищевых объектах. В числе выделяемых у грызунов сальмонелл превалируют S. typhimu-

rium, S. enteritidis. Считают, что грызуны являются источником загрязнения сальмонеллами арычной воды.

Значительная зараженность сальмонеллами отмечается у домашних и диких птиц, особенно у водоплавающих (утки, гуси и чайки), являющихся мощным резервуаром различных серотипов сальмонелл, в том числе и наиболее патогенной для человека S. typhimurium. Разнообразные серотипы сальмонелл (кроме S. pullorum и S. gallinarum) обнаружены у кур и индеек.

Заражение людей возможно не только через птицепродукты (яйца, мясо), но и при контакте с больными птицами.

Следует особо отметить распространенность сальмонеллезной инфекции среди голубей, вызванной в основном S. typhimurium. В связи с этим значительную опасность представляет рассеивание с пылью высохшего на чердаках инфицированного голубиного помета, при засасывании в вентиляционные короба.

Сальмонеллы обнаружены у ящериц, черепах, змей, лягушек, крабов. У рыб, обитающих в естественно и искусственно зараженной воде, выделены S. enteritidis, S. suis, S. typhimurium, при этом микробы избирательно локализовались в печени.

В эпидемиологии сальмонеллезов наряду с животными известную роль как источник инфекции играют люди, которые могут быть носителями разнообразных типов сальмонелл. Бактерионосительство часто формируется после перенесенного заболевания и может возникать при общении с инфицированными животными и птицами, а также и зараженными продуктами. Следует отметить, что бактерионосительство у людей может нередко протекать без клинических проявлений болезни.

Выделение сальмонелл у реконвалесцентов после исчезновения клинических проявлений болезни продолжается до 3-х месяцев. В отдельных случаях наблюдается длительное выделение возбудителя до 2-х и более лет. Хроническое носительство формируется у 2—2,5% переболевших. По данным ряда авторов бактерионосительство и бактериовыделение, особенно часто встречается у работников мясоперерабатывающей промышленности.

У лиц, обследуемых при поступлении на работу в пищевые учреждения, выявленные носители сальмонелл составляют 0,8—0,9% к числу обследованных.

Основным фактором передачи сальмонеллезов является пища, инфицирование которой может произойти разнообразными путями.

Инфицированное мясо больных или бактерионосителей животных и птиц, зараженные яйца, рыба, молоко являются основ-

ными факторами распространения сальмонеллезов. Нарушение правил раздельного хранения и приготовления сырой и готовой продукции приводит к обсеменению готовой пищи.

Мясо, молоко и другие продукты могут оказаться инфицированными в результате заболевания животного или бактерионосительства. Заражение мяса может произойти содержимым кишечника животного при разделке туши, при нарушении правил кулинарной обработки и т. д., а также при заражении пищевых продуктов человеком-бактерионосителем.

Заражение алиментарным путем возникает в основном при употреблении в пищу массивно инфицированных продуктов.

Наблюдения показывают, что значение разных пищевых продуктов в распространении сальмонеллезов не одинаково. Ведущее место занимает инфицированное мясо и мясные продукты, являющиеся причиной сальмонеллезов в 60—70% случаев.

Значительная роль в распространении сальмонеллезов принадлежит мясу крупного рогатого скота, что связано по-видимому как с преимущественным употреблением мяса этих животных, так и с наибольшим распространением среди них вторичных сальмонеллезных заболеваний.

Заражение мяса крупного рогатого скота при жизни животного может произойти в результате ослабления защитных свойств организма и проникновения бактерий из кишечника в мышцы (при истощении, длительной транспортировке, плохом предубойном содержании). У здорового животного мышцы практически стерильны.

Весьма важное значение в эпидемиологии сальмонеллезов имеют способы кулинарной обработки мяса.

Измельчение мяса (приготовление фарша) при наличии сальмонелл в лимфатической системе может привести к его заражению, а длительное хранение такого измельченного полуфабриката при комнатной температуре к быстрому размножению в ней бактерий.

Пищевые продукты (мясные, рыбные, молочные, яйца и т. д.) могут остаться зараженными при недостаточной термической обработке.

Особую опасность представляют инфицированные пищевые продукты, употребляемые без термической обработки (салаты, винегреты, колбасы, студни, пудинги, творог, молоко, рыбные продукты, яйца, майонез). Большая роль в распространении сальмонеллезной инфекции принадлежит студню, являющемуся прекрасной питательной средой для бактерий. Фактором рас-

пространения сальмонеллезов могут быть вареные колбасы, особенно низкосортные (ливерные, кровяные, мясорастительные). Следует отметить, что даже обильное размножение сальмонелл в продуктах не отражается на их органолептических качествах. Цвет, вкус, запах, вид остаются без изменения, что особенно опасно.

Молоко и молочные продукты значительно реже вызывают сальмонеллезы, чем мясо. Однако за последние годы частота заболеваний, связанных с употреблением этих продуктов возросла. Инфицирование молока может быть экзогенным, при загрязнении выделениями животных оборудования, рук доярок, с последующим бурным размножением сальмонелл в молочных продуктах и эндогенным, при наличии тяжелых форм вторичных сальмонеллезов, когда сальмонеллы выделяются больными коровами с молоком.

Рыба и рыбные продукты вызывают обычно единичные спорадические случаи или вспышки сальмонеллезов, при этом возбудителем чаще всего является S. typhimurium, S. enteritidis. Овощи, фрукты и ягоды могут инфицироваться при удобрении почвы зараженными стоками, навозом и послужить причиной заболеваний при употреблении их.

В продуктах растительного происхождения сальмонеллы интенсивно не размножаются, однако размножение их значительно возрастает при прибавлении к сырым овощам продуктов содержащих животный белок (мясо, молоко, яйца).

Фактором заражения могут быть и инфицированные кондитерские изделия (торты, пирожные с кремом и мороженое).

Птицы домашние и дикие водоплавающие, в том числе голуби и чайки являются природным резервуаром S. typhimurium, зараженными могут быть как яйца, так и мясо больных птиц.

Наряду с основным алиментарным путем распространения сальмонеллезов за последние годы признается контактно-бытовой (фекально-оральный механизм передачи), особенно часто наблюдающийся среди детей раннего возраста, ослабленных, больных и пожилых людей.

Сальмонеллезные групповые заболевания и вспышки фекально-орального происхождения имели место в родильных домах у новорожденных, в детских больницах, где источником заражения являлись дети, медицинский персонал и матери, больные или бактерионосители.

В этих случаях среди выделенных от больных серотипов сальмонелл превалировали S. typhimurium, S. heidelberg, обла-

дающие относительно высокой степенью патогенности и часто являющиеся причиной генерализованных процессов сальмонеллезной инфекции, особенно у детей, с последующим длительным носительством.

В настоящее время имеются данные об эпидемиологическом значении воздушно-пылевого заражения сальмонеллезом. Проявляя высокую устойчивость к высушиванию сальмонеллы обнаруживались в пробах воздуха взятых из палат, где находились больные сальмонеллезом.

Немаловажное значение в распространении сальмонеллезов имеет водный путь при использовании населением для хозяйственно-питьевых целей воды источников и открытых водоемов, загрязненных стоками предприятий мясоперерабатывающей промышленности и животноводческих хозяйств.

К заражению пищевых продуктов может привести использование при их изготовлении инфицированной воды и пищевого льда.

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМУ ВЫЯВЛЕНИЮ, РЕГИСТРАЦИИ, УЧЕТУ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМУ ОБСЛЕДОВАНИЮ БОЛЬНЫХ И БАКТЕРИОНОСИТЕЛЕЙ

1. Выявление больных

Для более полного выявления и учета больных сальмонеллезом, а также с целью упорядочения и унификации их диагностики, бактериологическому обследованию на патогенные энтеробактерии, в т. ч. на сальмонеллез, подлежат:

а) все больные острыми кишечными расстройствами неустановленной этиологии, с первичными диагнозами: клиническая дизентерия, колит, энтерит, диспепсия и острые респираторные заболевания с парэнтеральными явлениями и др., независимо от возраста и места лечения (дома, в больнице);

б) больные с диагнозом «сальмонеллез», «пищевое отравление», «пищевая токсикоинфекция», «пищевая интоксикация», находящиеся в стационарах или дома;

в) дети в возрасте до 2-х лет, поступающие в соматические или инфекционные больницы, независимо от диагноза;

г) лица, независимо от возраста, находящиеся в соматических и инфекционных больницах (отделениях), родильных домах и в лечебно-профилактических учреждениях, в случае появления у них дисфункции кишечника или повышения температуры неясного происхождения;

д) лица, подвергающиеся дуоденальному зондированию в амбулаторных и стационарных условиях (исследование желчи).

При возникновении одномоментных групповых заболеваний (вспышек) для выявления этиологии и с целью более полного выявления бактерионосителей и случаев заболевания, протекающих в скрытой (стертой) форме, бактериологически обследуются не только заболевшие, но и все лица, подвергшиеся риску заражения, т. е. употреблявшие пищу, воду, заподозренную как причина вспышки, а также общавшиеся с заболевшими (в семье, детском учреждении, палате и др.).

2. Регистрация и учет

Обязательной регистрации и учету подлежат сальмонеллезы, подтвержденные лабораторно, а также эпидемиологически (при групповых заболеваниях и вспышках с установленным возбудителем).

В лечебно-профилактических учреждениях учет сальмонеллезов ведется в журнале по ф. 60 леч. «Журнал регистрации инфекционных заболеваний».

Сведения о сальмонеллезах передаются в районную (городскую) санитарно-эпидемиологическую станцию, где также вносятся в журнал по ф. 60 СЭС «Журнал регистрации инфекционных заболеваний». Подтвержденные лабораторно и эпидемиологически как разрозненные (спорадические), так и групповые заболевания сальмонеллезами (вспышки, а также выявленные бактерионосители) обязательно учитываются в эпидемиологическом отделе.

Отчет о движении сальмонеллезов (за месяц, год) ведется по ф. 85. Эпидемиологический анализ состояния заболеваемости дается в объяснительной записке к отчетной ф. 85.

Одновременно с этим групповые заболевания (вспышки) сальмонеллезной этиологии подлежат обязательной регистрации и учету в гигиенических отделах санэпидстанций.

Районные (городские) санитарно-эпидемиологические станции составляют годовой отчет о пищевых отравлениях по ф. 36 (разделу V, таблица № 10).

3. Выявление бактерионосителей

Выявление бактерионосителей имеет определенное эпидемиологическое значение. Особую опасность могут представлять острые и хронические бактерионосители, имеющие отношение к сбору, транспортировке, хранению, переработке, изготовлению и реализации пищевых продуктов на предприятиях мясоперерабатывающей промышленности, молочных фермах и молокоперерабатывающих заводах; предприятиях торговли и общественного питания, пищеблоках детских и лечебных учреждений, молочных кухнях.

Острые бактерионосители-реконвалесценты — лица, переболевшие сальмонеллезом, у которых продолжается выделение возбудителя после исчезновения клинических проявлений болезни до 3-х месяцев.

Хронические бактерионосители — лица, переболевшие сальмонеллезом и выделяющие микробы свыше 3-х месяцев после клинического выздоровления. Подозрение о хроническом носительстве должны вызывать также лица, не имеющие в анамнезе диагносцированного заболевания, но у которых сальмонеллы были выделены однократно из желчи, мочи или повторно из испражнений в период свыше 2-х недель от первой находки возбудителя.

К бессимптомным (транзиторным) бактерионосителям относятся лица, у которых отсутствуют какие-либо признаки заболевания, а сальмонеллы обнаруживаются однократно, реже двукратно, и выделяются только из испражнений.

Обследование с целью выявления носителей сальмонелл проводится с профилактической целью и по эпидемиологическим показаниям. Бактериологическому обследованию с профилактической целью подлежат:

а) переболевшие сальмонеллезом перед выпиской из больницы или по выздоровлении, в случае госпитализации на дому;

б) лица, впервые поступающие на работу в предприятия и учреждения по сбору, изготовлению, транспортировке, хранению и реализации пищевых продуктов в детские, лечебно-профилактические и дошкольные учреждения;

в) дети, поступающие в детские ясли, сады и дома ребенка.

Целесообразны внеплановые выезды на предприятия и учреждения.

По эпидемиологическим показаниям обследованию подвергаются:

а) лица, общавшиеся с больными в очаге сальмонеллеза (семья, детские учреждения и др.);

б) работники пищевых и приравненных к ним предприятий, в случае, если есть основания заподозрить их в качестве источника инфекции, либо предположить у них заболевание стертой формой сальмонеллеза.

4. Эпидемиологическое обследование

Эпидемиологическое обследование очагов с разрозненными, спорадическими случаями сальмонеллезов и выявленного бактерионосительства проводится эпидемиологами санэпидстанций, с привлечением, в случае необходимости, санитарного врача по гигиене питания и специалиста ветеринарной службы.

В случаях групповых заболеваний (вспышек) расследование проводят санитарные врачи по гигиене питания совместно с эпидемиологами, бактериологами с участием инфекционистов, педиатров и врачей смежных специальностей (в зависимости от места, где произошло заболевание, например, врачей по гигиене детей и подростков при заболевании в детских учреждениях), а также работников ветеринарной службы.

Расследование вспышек ведется в соответствии с действующей «Инструкцией о порядке расследования и учета пищевых отравлений», утвержденной Министерством здравоохранения СССР в 1974 году и инструктивно-методическими указаниями в помощь врачам эпидемиологам «Организация и методы обследования вспышек дизентерии» от 07.03.1972 года МЗ РСФСР.

Каждый случай заболевания сальмонеллезом и бактерионосительства подлежит эпидемиологическому обследованию по месту жительства. Кроме того, в зависимости от места инфицирования и пребывания заболевшего или носителя, эпидемиологическому обследованию подвергаются детские и лечебные учреждения, место работы, учебы и питания.

Эпидемиологическое обследование во всех случаях ставит своей задачей:

а) выявить источник инфекции;

б) установить пути и факторы распространения инфекции;

в) принять меры к ликвидации очага.

Эпидемиологическое обследование проводится в день регистрации заболевания или выявления носительства. На каждого заболевшего и бактерионосителя заполняется карта эпидемиологического обследования (ф. 171). Эпидемиологическое обследование начинается с опроса больного и лиц, окружающих его

(в случае заболевания ребенка — родителей или ухаживающего персонала) о времени появления первых признаков заболевания, о продуктах, которые пострадавший употреблял в пищу за последние 2—3 дня до заболевания, о степени и характере общения с животными (наличие больных животных, вынужденно забитых сельскохозяйственных животных, птиц и др.).

При возникновении вспышек и групповых заболеваний в коллективах, связанных общим местом питания, анализируется меню-раскладка за последние 2—3 дня и проверяется режим на пищеблоке.

Особое внимание следует обращать на связь заболевания с употреблением в пищу изделий и блюд из мяса и мясных продуктов, субпродуктов (готовые блюда из рубленного мяса и мясных полуфабрикатов, студень, колбасы), изделий из мяса домашней птицы, яиц и яичного порошка, меланжа, молока и молочных продуктов, а также на условия их хранения, приготовления и использования.

Одновременно особо тщательной дезинфекции в этих случаях подвергаются пищеблоки и пищевые объекты. Проводится генеральная уборка помещения с применением дезрастворов, кипячение инвентаря, обработка дезсредствами оборудования.

Реализация продуктов, заподозренных в качестве фактора передачи инфекции, запрещается.

С целью выяснения возможного источника инфекции и выявления других случаев заболеваний и носительства в очаге необходимо проводить бактериологическое обследование лиц, общавшихся с больным, а в отдельных, особых случаях по эпидпоказаниям и домашних сельскохозяйственных животных и птиц, а также домашних и диких голубей, грызунов и др., если они имеются в очаге (в индивидуальном хозяйстве, на ферме, в колхозе, совхозе и т. д.). Клиническое и бактериологическое обследование животных, птиц в этих случаях проводится учреждениями ветеринарной службы совместо с медицинской службой.

Для установления факторов и путей передачи инфекции бактериологическому обследованию подвергаются изъятые в очаге заподозренные продукты или их остатки; смывы с посуды, в которой хранилась пища, смывы с кухонного инвентаря, оборудования и предметов домашнего обихода, с внутренней поверхности холодильников и др. В случае, когда в качестве факторов передачи инфекции, заподозрен продукт, изготовленный каким-либо пищевым предприятием (мясо-птицекомбинат, молокозавод, комбинат по изготовлению полуфабрикатов, предприятие по изготовлению яичного порошка и др.), необходимо провести

обследование этого предприятия (бактериологическое исследование сырья и выпускаемой продукции, контроль по ходу технологического процесса; условий хранения, транспортировки и реализации продукции, а также работающих на предприятии).

В больнице или детском учреждении целесообразно бактериологически исследовать питательные смеси, растворы для питья, лекарства местного приготовления, смывы с медицинского оборудования, аппаратуры, а также воздух палат.

Эпидемиологическое обследование должно сопровождаться разъяснением окружающим необходимости соблюдения правильного режима приготовления и хранения пищи, борьбы с грызунами, соблюдения правил личной гигиены, организации необходимых санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий.

5. Мероприятия в очаге инфекции

Госпитализация больных сальмонеллезом, а в отдельных случаях и бактерионосителей, проводится по клиническим и эпидемическим показаниям.

Вопрос об оставлении больного на дому решается участковым врачом и согласовывается с эпидемиологом. Обязательной госпитализации подлежат работники пищевых предприятий, детских и лечебно-профилактических учреждений и приравненные к ним лица.

После госпитализации больного сальмонеллезом обращается особое внимание на уничтожение или обеззараживание остатков инфицированной пищи (после отбора проб для лабораторного исследования). Кроме того в помещении должна быть проведена общая генеральная уборка. Инструктаж населения проводится участковым врачом.

В отношении лиц, общавшихся с больным сальмонеллезом, в случае его оставления на дому, разобщение не применяется. Работники пищевых и приравненных к ним предприятий, дети, посещающие детские учреждения, а также дети детских домов и школ-интернатов подвергаются однократному бактериологическому обследованию.

При выявлении носителей сальмонелл среди прочих групп населения они допускаются к работе и повторному обследованию и наблюдению не подвергаются.

Последующее наблюдение за очагом должно проводиться в течение недели. Посещение осуществляется участковой мед-

сестрой на 2—5—7 дни после выявления больного с целью дополнительного выявления заболевших в очаге.

Выписка из больницы (или по выздоровлении при оставлении на дому) лиц, переболевших сальмонеллезом, проводится после полного клинического выздоровления и двукратного бактериологического исследования кала с интервалом в 1—2 дня с отрицательным результатом.

Выписка из больницы работников пищевых и приравненных к ним предприятий проводится после полного клинического выздоровления и трехкратного бактериологического исследования кала с отрицательным результатом. Первое исследование проводится не раньше третьего дня после окончания лечения, а последующие с интервалом в 1—2 дня.

Результаты бактериологического обследования реконвалесцентов указываются в учетной ф. 27 «Выписка из истории болезни стационарного больного», которая передается в поликлинику по месту жительства реконвалесцента.

Работники пищевых и приравненных к ним предприятий, а также дети детских учреждений, детских домов, школ-интернатов, школ и оздоровительных учреждений после выписки из больницы допускаются к работе и в детские учреждения без дополнительного обследования. Эти лица подлежат диспансерному наблюдению в течение трех месяцев с ежемесячным однократным исследованием кала.

Остальные категории реконвалесцентов диспансерному наблюдению не подлежат.

Выписка реконвалесцентов-выделителей сальмонелл из больницы допускается с разрешения санитарно-эпидемиологической станции с учетом профессии, жилищно-бытовых условий и гигиенических навыков. Реконвалесценты — работники пищевых предприятий и лица, приравненные к ним, продолжающие выделять сальмонеллы после выписки из больницы или выделившие сальмонеллы в процессе трехмесячного диспансерного наблюдения, не допускаются (отстраняются) к основной работе в течение 15 дней наблюдения и устраиваются на работу, не представляющую эпидемиологической опасности. В этот период проводится пятикратное исследование кала и однократное исследование желчи. При повторном положительном результате такой же порядок обследования повторяется еще в течение 15 дней. При установлении бактерионосительства более трех месяцев, эти лица, как хронические носители сальмонелл, переводятся на другую работу на срок не менее 1 года.

За этот период они обследуются два раза (1 раз в 6 месяцев). По истечении этого срока при отрицательных результатах обследований они подвергаются дополнительному обследованию (3 исследования кала) и однократное исследование желчи с интервалом 1—2 дня. При отрицательных результатах исследования желчи лица допускаются к основной работе и снимаются с учета.

При получении хотя бы одного положительного результата исследований после одного года наблюдений эти лица рассматриваются как хронические бактерионосители и отстраняются от работы по специальности. Они должны состоять на учете в санэпидстанции по месту жительства. Кроме того, данные о хроническом носительстве сальмонелл должны быть занесены в амбулаторную карту в поликлинике по месту жительства и сообщены в кабинет инфекционных заболеваний поликлиники. Дальнейшему диспансерному наблюдению такие лица не подлежат.

При переезде хронического носителя в другой населенный пункт или район города данные о нем сообщаются в санэпидстанцию по новому месту жительства (пересылается копия карты ф. 30-а).

Ребенок допускается в ясли (дом ребенка) после прекращения бактериовыделения, но его продолжают обследовать в течение 3-х месяцев (1 раз в месяц кал) и при отрицательном результате исследований снимают с учета.

Дети-бактерионосители, посещающие детские сады, могут быть допущены в детские учреждения, но за ними устанавливается наблюдение (исследование кала 2 раза в месяц). После прекращения бактериовыделения наблюдение снимается.

Дети, посещающие ясли, дома ребенка — выделители сальмонелл после выписки из больницы не допускаются в коллектив в течение 15 дней (проводится 3-х кратное исследование кала с интервалом в 1—2 дня). В случае выделения возбудителя в этот период срок наблюдения продлевается еще на 15 дней. Дети — хронические бактерионосители в детские ясли, дома ребенка не допускаются.

Дети, посещающие общеобразовательные школы, в т. ч. живущие в школах-интернатах, в случае бактерионосительства после выписки из больницы (или выявленные как бактерионосители) допускаются в коллективы. Эти дети в течение 3-х месяцев обследуются бактериологически 1 раз в месяц (кал) в течение этого периода они не допускаются к дежурству в пищеблоках и столовых. При продолжающемся бактериовыделе-

нии срок наблюдения за этими детьми продлевается до 6 месяцев и более.

Результат обследования детей вносится в карту развития ребенка.

Выявленные при профилактических (или по эпидемическим показаниям) бактерионосители, работники пищевых предприятий и лица к ним приравненные, подлежат госпитализации для выяснения характера бактерионосительства (острое, хроническое или транзиторное). Им проводится в течение 2-х недель 5 бактериологических анализов кала с интервалами в 1—2 дня, 2 серологических анализа и одно исследование дуоденального содержимого. В случае установления хронического бактерионосительства такие лица подвергаются диспансерному наблюдению и обследованию, как указывалось ранее.

Лица с установленным диагнозом транзиторного носительства допускаются к работе без дополнительных обследований.

Диспансеризация переболевших и носителей сальмонелл проводится участковым врачом, при консультации врача кабинета инфекционных заболеваний или заведующего отделением. На каждого наблюдаемого заводится карта диспансерного наблюдения по ф. 30-а. В карту вносятся сведения о результатах клинического наблюдения и лабораторных исследований. Данные о работниках пищевых предприятий и лиц к ним приравненных, кроме того, вносятся в журнал отраслевых отделов (городской, районной санэпидстанции).

6. Предупреждение распространения инфекции в детских больницах (отделениях), в палатах для новорожденных, домах ребенка и яслях

В случае внутрибольничного заражения сальмонеллезом в детском стационаре, а также в родовспомогательном учреждении в целях своевременного установления причины заболеваний и принятия соответствующих мер по недопущению распространения инфекции, обеспечивается немедленная информация в вышестоящие органы здравоохранения (районные, городские, республиканские).

Больные дети (и матери) переводятся в инфекционную больницу или в специально развертываемое для них отделение (боксы).

При групповых заболеваниях (вспышках) возможна временная организация специального отделения на месте с привлечением для обслуживания больных педиатра-инфекциониста.

Прием новых детей в это учреждение (отделение) до купирования вспышки и проведения противоэпидемических мероприятий прекращается.

При обнаружении больных сальмонеллезом в детском учреждении (детские ясли, ясли-сады, дома ребенка, детские сады) заболевшие немедленно госпитализируются.

При подозрении на внутрибольничное заражение с целью своевременного выявления бессимптомных носителей, которые могут служить в дальнейшем источником инфекции, необходимо провести бактериологическое обследование детей, персонала и матерей, ухаживающих за детьми (кратность обследования определяется эпидемиологом).

В больницах для детей с острыми кишечными заболеваниями должны быть предусмотрены изолированные отделения (палаты, боксы) в зависимости от этиологии заболевания, а также для больных с заболеваниями невыясненной этиологии. Особое внимание следует уделить изоляции детей с сальмонеллезом, вызванным S. typhimurium.

Персонал, обслуживающий больных детей, должен быть закреплен за соответствующими отделениями (палатами, боксами).

В отделениях устанавливается строгий санитарно-гигиенический и противоэпидемический режим:

персонал и матери после каждого пеленания ребенка, а также перед кормлением и мытьем его должны тщательно мыть руки;

предметы ухода закрепляются за каждым ребенком;

соски, шпатели, посуда и другие предметы ухода подлежат кипячению;

сбор и хранение грязного белья проводится в строго определенном месте, в таре, защищенной от мух, с разграничением потоков и мест хранения чистого и грязного белья;

стирка белья и пеленок проводится с обязательным кипячением и глажением;

хранение уборочного инвентаря в палатах, коридорах и туалетах должно быть раздельным;

проводится регулярная влажная уборка помещений палат, боксов и коридоров;

в родовспомогательных, инфекционных больницах и отделениях обеспечивается правильная и бесперебойная работа вентиляционных устройств;

принимаются систематические меры по предупреждению залета мух и проникновению грызунов в помещения, истребление

диких голубей на чердаках и территориях детских больниц, родовспомогательных и детских дошкольных учреждениях и обеспечение должного санитарно-гигиенического режима в чердачных и подвальных помещениях.

При возникновении заболеваний в стационарах и детских учреждениях дезинфекционные мероприятия проводятся, как и при других острых кишечных инфекциях, с обращением особого внимания на обеззараживание выделений больных, постельных принадлежностей и посуды, белья для отправки в прачечную, ванн и обмывных вод после туалета детей, предметов ухода и уборочного инвентаря. Сбор пеленок и белья, загрязненных выделениями от больных проводится раздельно от остального белья.

В отделении проводится генеральная уборка силами персонала учреждения.

При возникновении более трех случаев заболевания не одномоментно, а с интервалом 2—3 дня, проводится заключительная дезинфекция отделом очаговой дезинфекции дезотделений.

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ, ОСУЩЕСТВЛЯЕМЫЕ ОРГАНАМИ ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО НАДЗОРА СОВМЕСТНО С ВЕДОМСТВЕННЫМИ САНИТАРНЫМИ СЛУЖБАМИ

А. Санитарно-гигиенические мероприятия

Основной задачей санитарного надзора по профилактике сальмонеллезов является контроль за производством предприятиями пищевой промышленности продуктов питания для населения (правильная и надежная технологическая и тепловая обработка), а также надлежащими условиями хранения, транспортировки их, исключающими возможность заражения и размножения в них сальмонелл.

Государственный санитарный надзор проводится органами и учреждениями санитарно-эпидемиологической службы в тесном контакте с органами и учреждениями министерств и ведомств, осуществляющих производство, реализацию продуктов питания, контроль за ветеринарно-санитарным состоянием животноводческих ферм, молочных заводов, мясокомбинатов, холодильников и др.

Мероприятия по санитарному надзору включают:

а) составление комплексных планов с хозяйственными организациями и ветеринарной службой по предупреждению сальмонеллезов у людей и животных;

б) предупредительный санитарный надзор при экспертизе проектов строительства и реконструкции, а также контроль в процессе строительства и при приеме в эксплуатацию пищевых предприятий, обеспечивающих гигиенические условия технологического процесса приготовления пищи, хранения и реализации пищевых продуктов. Основным требованием является разделение потоков сырья и готовых продуктов на всех этапах;

в) плановую санитарно-оздоровительную работу — планы-задания по оснащению пищевых предприятий холодильными установками, новейшим технологическим оборудованием, по улучшению санитарно-технологического состояния пищевых объектов;

г) текущий целенаправленный санитарный надзор с углубленным обследованием и изучением технологии, проведением необходимых организационных мероприятий, применение санкций. Контроль за соблюдением гигиенических норм и правил на предприятиях при изготовлении, выпуске, хранении, транспортировке и реализации продуктов питания, а также за гигиеническими показателями их качества; за качеством используемой предприятиями питьевой воды.

При осуществлении текущего санитарного надзора особое внимание должно быть обращено на следующее.

На мясокомбинатах, мясоперерабатывающих предприятиях, птицефабриках: на соблюдение ветеринарно-санитарных и санитарных правил при убое животных и птиц; на реализацию условно-годного мяса и субпродуктов, гигиенических требований к технологическому процессу изготовления студня и колбас, особенно ливерных, кровяных, мясорастительных; на постановку лабораторного контроля в производственных лабораториях; на соблюдение правил изготовления яичного порошка, меланжа, исключающих обсеменение их сальмонеллами.

На молочных фермах, молочных заводах и других молокоперерабатывающих предприятиях; на санитарные условия сбора, хранения и транспортировки молока; качество обработки молочной посуды, инвентаря, оборудования; соблюдение правил нормализации молока (обязательно до пастеризации); исправность и эффективность работы пастеризаторов; правильную маркировку творога и других продуктов из непастеризованного

молока; режим охлаждения молока и молочных продуктов; постановку лабораторного контроля на местах, соответствие выпускаемой продукции по гигиеническим показателям, государственным стандартам и ТУ. На сыродельных предприятиях обращать внимание на процесс посола, хранения сыра в камерах созревания, температурный режим, влажность и т. д.

Особого контроля требуют фермы колхозов и совхозов, поставляющие молочную, мясную продукцию и птиц по прямым поставкам в торговую сеть, детские, лечебные и др. учреждения. Необходимо запретить указанным учреждениям и руководителям строительных студенческих отрядов производить закупку продуктов без справок о ветеринарном благополучии хозяйств.

На предприятиях общественного питания, торговли, базах, холодильниках и рынках особому контролю подлежит выполнение требований по изоляции сырых мясопродуктов от прочих продуктов и, особенно, от готовых изделий при транспортировке, хранении и отпуске. Необходимы раздельные помещения, секции, отделы, маркированная тара и инвентарь, обеспеченность объектов холодо-оборудованием, правильная эксплуатация его, соблюдение установленных условий и сроков реализации особо скоропортящихся продуктов.

На предприятиях общественного питания, торговли, в пищевых блоках лечебных и детских учреждений осуществлять контроль за соблюдением правил раздельной обработки сырых изделий (в первую очередь мяса и птицы) от готовых изделий и компонентов для изготовления холодных закусок (салат, винегрет и пр.); отдельные помещения, специально выделенные столы и маркированные разделочные доски, ножи, инвентарь, в т. ч. и уборочный; наличие 2-х мясорубок. Контроль за правильностью тепловой обработки блюд, особенно изделий из субпродуктов, фарша, яичных продуктов и «опасных» блюд (макароны по-флотски, блинчики с мясным фаршем, пирожки, студни, паштеты). Нельзя допускать приготовления самокваса, использование творога из непастеризованного молока без достаточной термической обработки и др.

Запрещается реализация в торговой сети, на рынках и предприятиях общественного питания утиных и гусиных яиц и устанавливается контроль за правильностью использования их в предприятиях хлебопекарной и кондитерской промышленности; за порядком укладки утиных и гусиных яиц отдельно от яиц другой домашней птицы в птицехозяйствах, за четкой маркировкой тары с утиными и гусиными яйцами, выпускаемыми птицехозяйствами.

Особое внимание уделяется контролю за проведением на пищевых предприятиях и объектах мероприятий по борьбе с грызунами в связи с тем, что наряду с механическими, химическими, биологическими методами борьбы с ними значительное место занимает бактериологический (применение бактокумарина) с использованием бактерий из рода сальмонелл (бактерии Данича—Исаченко—Прохорова). В СССР запрещено использование этого метода в пищевых объектах, детских садах, яслях и лечпрофучреждениях.

Применение бактокумарина в местах хранения мяса и в местах содержания сельскохозяйственных животных требует особой осторожности.

Лабораторный контроль

Плановое бактериологическое обследование технологических процессов изготовления пищевых продуктов и санитарного режима работы на пищевых объектах.

Проверяется лабораторным путем состояние личной гигиены работников, чистоты мойки и обработки посуды, инвентаря, тары для готовых изделий (исследование смывов).

При осуществлении санитарно-бактериологического контроля отмечается выборочно частота находок сальмонелл в сыром мясе, субпродуктах, в импортных продуктах животного происхождения, в продукции детских молочных кухонь.

Изучается и исследуется молоко, молочные продукты, колбасы и кулинарные изделия, холодные блюда, закуски, мясные рыбные полуфабрикаты, яйца, меланж, яичный порошок.

Для определения этапов обсеменения мясной продукции необходимо проводить на мясоперерабатывающих предприятиях бактериологическое исследование по ходу технологического процесса убоя, обработки мясо-сырья и т. д.

Санитарно-химический контроль за качеством термической обработки готовых продуктов (методом ферментных реакций).

Б. Санитарно-ветеринарные мероприятия

Наблюдение за санитарным состоянием и дезинфекцией транспортных средств и тары, подлежащей возврату для исследования при перевозках пищевых продуктов животного происхождения (мяса, туш, мясных полуфабрикатов, готовых мясных кулинарных изделий, молочных продуктов и пр.).

Плановая дезинфекция и дератизация в животноводческих хозяйствах, мясоперерабатывающих и молочных предприятиях, холодильниках, пищевых сырьевых складах с последующим выборочным бактериологическим исследованием трупов грызунов на сальмонеллы.

Контроль за обезвреживанием сточных вод на мясоперерабатывающих предприятиях.

Контроль правильности эксплуатации непроточных и малопроточных водоемов, используемых для разведения водоплавающей птицы. При планировании размещения ферм по разведению водоплавающей птицы следует иметь ввиду, что наилучшими санитарно-гигиеническими условиями обладают неглубокие проточные водоемы с хорошо развитыми процессами самоочищения.

К мероприятиям по предупреждению загрязнения сальмонеллами водоемов водоплавающей птицей относятся следующие:

Места для разведения водоплавающей птицы в малопроточных водоемах необходимо располагать ниже забора воды для хозяйственно-питьевых нужд и водопоя скота.

Водоемы, используемые для разведения водоплавающей птицы, должны обязательно периодически очищаться.

Запрещение использования забора воды непроточных водоемов, в которых разводится водоплавающая птица, для питьевого водоснабжения, для переработки пищевых продуктов, мытья молочных бидонов и прочих целей.

Систематический бактериологический контроль воды открытых водоемов на наличие сальмонелл.

Проведение санитарно-просветительной работы среди населения по вопросам предупреждения сальмонеллезов у людей и животных.

В случаях обнаружения сальмонеллеза в хозяйствах среди животных и птиц ветеринарные работники должны ставить в известность местные медицинские органы, при вспышках сальмонеллеза среди людей медицинские работники должны сообщать в местные ветеринарные органы.

В. Санитарно-бактериологические исследования

При осуществлении планового санитарно-бактериологического контроля подлежат исследованию: пищевые продукты, вода питьевая, вода открытых водоемов и сточная жидкость, воздушная среда закрытых помещений, смывы с поверхности инвентаря, оборудования, рук и спецодежды персонала и др.

Эффективность санитарно-бактериологических исследований в значительной мере зависит от правильности выемок проб.

Исследование пищевых продуктов, воды, смывов должны проводиться в соответствии с требованиями официальных методических документов.

Согласно правилам выемки проб пищевых продуктов, утвержденных Главным Государственным санитарным инспектором СССР 2 сентября 1949 года.

Отбор проб воды исходя из требований ГОСТа 18963—73 «Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа».

Производство смывов следует осуществлять в соответствии с «Методикой санитарно-бактериологического контроля на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами», утвержденной Заместителем Главного Государственного инспектора СССР Лебедевым 21.04-1956 года.

При проведении бактериологических исследований пищевых продуктов, воды и смывов нельзя ограничиваться посевами, рассчитанными только на выявление сальмонелл, необходимо проводить посевы для установления наличия (в смывах) или степени обсеменения (вода, пищевые продукты) другими патогенными и условно-патогенными энтеробактериями.

1. Методика исследования пищевых продуктов

Подготовка проб пищевых продуктов к исследованию заключается прежде всего в отборе навески, которая должна отражать характеристику всей доставленной пробы.

При посеве продукта плотной консистенции навеску берут с поверхности и из глубины доставленной пробы, исходя из возможного локализованного расположения бактерий. У тушек птиц навеску готовят из кусочков, отобранных из участков, прилегающих к кишечнику.

Не исключена возможность исследований навески, состоящей из кусочка продукта, отобранной только из глубины доставленной пробы (мяса), либо взятой с поверхностных слоев пробы.

Пищевые продукты плотной консистенции перед посевом нарезают мелкими кусочками и растирают в ступке до однородной консистенции, куда добавляют среду обогащения (селенитовый бульон или магниевую среду). Обе среды обычной концентрации в количестве 100 мл. Исходный материал приобретает более однородную консистенцию, если навески подвергать встряхиванию в течение 10—15 мин. в аппарате для встряхивания.

Для получения однородного гомогенизированного посева материал лучше всего подвергать обработке в гомогенизаторе (размельчитель тканей).

Навеска продукта должна быть не менее 25—30 г., но в случае доставки пробы в меньших количествах (остатки пищи от пострадавших) для посева используют весь доставленный материал.

Жидкие и полужидкие продукты в специальной подготовке не нуждаются.

Масло сливочное и кремы перед посевом растапливают в термостате или водяной бане при температуре 45° и для посева используют пахтанье, т. е. нижний слой растопленного масла.

После 18—20 часов инкубации при 37° из сред обогащения проводят пересевы на плотные дифференциальные среды (висмутсульфит агар и среда Плоскирева по две чашки каждой среды).

Посев производят петлей штрихами на целую чашку, при этом используют материал не менее трех петель. Чашки с посевами помещают в термостат при 37° на 24 часа (посевы на висмут-сульфитном агаре просматривают и через 48 часов).

Дальнейший ход исследования — выделение и идентификация культур сальмонелл производится в соответствии с инструкцией «по микробиологической диагностике кишечных заболеваний, вызванных шигеллами, сальмонеллами и энтеропатогенными кишечными палочками», утвержденной Главным санитарно-эпидемиологическим управлением Министерства здравоохранения СССР от 11 мая 1966 г.

Примечание: В случае необходимости количественного определения сальмонелл в пищевых продуктах и в воде следует пользоваться методическими рекомендациями по применению магниевой среды Методика разработана Институтом им. Эрисмана, утверждена Главным санитарно-эпидемиологическим управлением МЗ СССР 20.06 1973 г.

2. Методика исследования питьевой воды, воды открытых водоемов и сточной жидкости

Исследование питьевой воды предусматривает посевы не только для выявления бактерий рода сальмонелл, но и проведение санитарно-бактериологического анализа по методике ГОСТа 18963—73.

Для проведения исследования питьевой воды на сальмонеллы объем воды должен быть от 1000 до 1500 мл, но не менее 500 мл.

Исследование может быть проведено как с использованием метода мембранных фильтров, так и путем посева определенных объемов воды на среды обогащения.

3. Методика исследования питьевой воды с использованием мембранных фильтров

Ход исследования. Питьевую воду фильтруют через мембранные фильтры № 3 в объемах:

а) 500 мл на один или два фильтра в зависимости от скорости фильтрации воды;

б) 1000—1500 мл на несколько фильтров, количество которых определяется так же скоростью фильтрации.

По окончании фильтрации:

а) мембранные фильтры с профильтрованным объемом 500 мл воды накладывают на поверхность среды Эндо и помещают в термостат на 37°;

б) остальные мембранные фильтры с профильтрованным объемом 1000 мл накладывают на поверхность висмут-сульфит агара, а также среду Эндо. Количество фильтров на обеих средах должно быть одинаковым. Инкубация также при 37°. После 18—20 часов инкубации просматривают выросшие колонии.

На мембранах с посевами в объеме 500 мл воды для определения коли-титра учитывают колонии группы кишечной палочки. Изолированные колонии микроскопируют при окраске мазков по Граму и высевают на 2-бродильную пробу. Дальнейший ход исследования по определению количества бактерий группы кишечных палочек регламентирован указаниями ГОСТа 18963—73. После высева колоний фильтры (один или два) помещают в среды обогащения — селинитовый бульон или магниевую среду (обе среды одинарной концентрации). Среды обогащения с фильтрами инкубируют при 37°.

Одновременно просматривают посевы воды на мембранных фильтрах, где объем профильтрованной воды составлял 1000—1500 мл. Подозрительные на патогенные энтеробактерии отсевают на среду Ресселя.

Независимо от наличия или отсутствия роста колоний на мембранных фильтрах, последние обязательно помещают в среды обогащения.

Через 18—20 часов со сред обогащения проводят высевы на плотные дифференциальные среды — висмут-сульфит агар, среды Эндо и Плоскирева.

Дальнейшее выделение и изучение культур проводят по общепринятой методике.

4. Методика исследования воды питьевой, открытых водоемов и сточной жидкости при использовании сред обогащения

Для выделения сальмонелл используют в качестве сред обогащения одновременно селенитовый бульон и магниевую среду. Обе среды приготовляют двойной концентрации, разливают во флаконы по 100 мл.

Ход исследования. Питьевую воду исследуют в объеме не менее 1000—1500 мл, засевая при этом во флаконы со средой обогащения по 100 мл — 5—6 флаконов с селенитовым бульоном и 5—6 флаконов с магниевой средой.

Воду открытых водоемов и сточную жидкость исследуют в объеме 200—500 мл и засевают по 100 мл в один флакон с селенитовым бульоном и в один флакон с магниевой средой.

Посевы инкубируют при 37° в течение 18—20 часов, после чего проводят высевы на плотные дифференциальные среды — висмут-сульфит агар и среду Плоскирева. Высевы производят петлей из каждого флакона на отдельную чашку, количество посевного материала не менее 3 петель.

Посевы на плотных питательных средах инкубируют при температуре 37° в течение 18—20 часов, после чего посевы просматривают и выделяют культуры для их идентификации. Выделение изолированных с висмут-сульфит агара колоний проводят через 24 и 48 часов.

Дальнейший ход исследования проводят по общепринятым методикам.

5. Методика исследования воздушной среды

Бактериологическое исследование воздушной среды закрытых помещений (палаты больниц, помещения различных детских учреждений и др.) включают отбор проб воздуха.

Наиболее эффективным методом отбора следует считать метод, основанный на аспирации.

Для отбора проб воздуха может быть использован бактериоуловитель Речменского, прибор Киктенко. Просасывание воздуха осуществляется с помощью пылесоса или аспиратора

любой системы, обеспечивающие протягивание воздуха со скоростью не менее 12—15 литров в 1 минуту.

Бактериоуловитель Речменского или прибор Киктенко непосредственно перед отбором проб воздуха заполняют селенитовым бульоном или магниевой средой, количество ее около 15—20 мл.

Количество воздуха, подвергнутого исследованию, должно быть не менее 250—300 л.

Жидкие среды, используемые при протягивании воздуха с помощью прибора Речменского или Киктенко, доставляют в лабораторию и инкубируют при 37° в течение 18—20 часов, после чего проводят пересевы по общепринятой методике на чашки с плотными дифференциальными средами.

К аспирационным методам отбора проб воздуха относится и отбор, осуществляемый с помощью аппарата Кротова.

Отбор проб воздуха следует осуществлять непосредственно на чашки с плотными дифференциальными средами — висмут-сульфит агар, среды Эндо и Плоскирева. Количество протягиваемого воздуха на каждую из указанных сред должно быть не менее 2 м^3.

Чашки с плотными дифференциальными питательными средами, используемые при отборе проб аппаратом Кротова, инкубируют при температуре 37° — 18—20 часов, чашки с висмут-сульфит агаром до 48 часов. Выделение и идентификации культур проводятся по общепринятым методикам.

Примечание. В исключительных случаях допускается отбор проб воздуха седиментационным методом. При этом используют одновременно несколько чашек с различными плотными дифференциальными средами. Чашки с открытыми крышками устанавливают в местах с наименьшим движением воздуха, а также в непосредственной близости от вентиляционных решеток, в углах наиболее отдаленных от окон и дверей. Экспозиция 1 час, после чего чашки закрывают и доставляют их в лабораторию для дальнейшего исследования.

6. Методика исследования смывов

Бактериологическое исследование смывов осуществляется в целях обнаружения на поверхности контролируемых объектов бактерий группы кишечных палочек и патогенных энтеробактерий, в том числе салмонелл.

Смывы берутся с помощью увлажненных тампонов или марлевых салфеток, которые непосредственно перед смывом

увлажняют 2,0 мл стерильной водопроводной воды или физиологического раствора.

Контролируемые поверхности тщательно протирают, смачивая тампон в процессе взятия смыва несколько раз.

Смыв производят в тех местах инвентаря и оборудования, которые имеют углы, пазы, щели, предпочтительно брать смывы с шероховатых поверхностей.

У предметов с гладкой поверхностью целесообразно смывы брать со всей поверхности. При контроле мелких предметов — столовые приборы, стаканы, тарелки тампоном протирают всю поверхность, причем одним тампоном берут смыв с 3-х одноименных предметов, с крупных предметов смывы берут в 4—5 местах. Общая площадь контролируемой поверхности должна быть не менее 100 $см^2$.

Материалом для посева служит смывная жидкость и непосредственно сам тампон.

Для выявления сальмонелл посевы производят в пробирки с селенитовым бульоном и магниевой средой; обе среды одинарной концентрации.

В одну из указанных сред погружают тампон, в другую засевают 0,5—1,0 мл смывной жидкости. Оставшуюся смывную жидкость засевают в 10% желчный бульон или среду Кесслера для выявления бактерий группы кишечных палочек.

Посевы на селенитовом бульоне и магниевой среде инкубируют при температуре 37° и через 18—20 часов из них производят пересевы на плотные дифференциальные среды, используя для каждой пробирки отдельные чашки.

Дальнейший ход исследований проводится по общепринятой методике.

Приложение № 1

КОНТРОЛЬ СРЕД ОБОГАЩЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Пригодность среды определяется по двум критериям:

1. По энергичному размножению сальмонелл, при засеве даже минимальных количеств возбудителя (единиц и десятков клеток).

2. По подавлению роста кишечных палочек разных видов при внесении в среду очень больших количеств жизнеспособных микробных клеток (десятков миллионов).

Контроль может осуществляться как с использованием чистых культур сальмонелл и кишечных палочек, так и с помощью естественно инфицированных испражнений. В практических лабораториях более доступна работа с чистыми культурами. Для засева единиц и десятков клеток сальмонелл (лучше брать наиболее распространенные в данной местности сальмонеллы), суточная бульонная культура последовательно разводится стерильным физиологическим раствором в миллион и десять миллионов раз (6-я и 7-я пробирка при десятикратном коэффициенте).

Если исходить из микробного числа сальмонелл, то в одном мл бульона должно содержаться примерно 400—600 миллионов клеток возбудителя, а в 0,1 мл 6-го и 7-го разведений — по 40—60 и 4—6 клеток соответственно. Эти дозы засевают в пробирки с контролируемой средой обогащения. Для определения количества жизнеспособных микробных клеток, внесенных в среду обогащения одновременно производят контрольный посев по 0,1 мл из тех же разведений на чашки (по 2 чашки из каждого разведения) с мясо-пептонным агаром.

Среда считается вполне удовлетворительной,если посев даже единичных клеток возбудителя через 24 часа дает положительный результат (помутнение среды). Если помутнение среды в первые сутки наступает только при посеве десятков клеток, а единичные клетки дают заметное помутнение на более поздние сроки (к 48—72 часам) — среда удовлетворительная. Если и в эти сроки посев единиц клеток сальмонелл не дал положительного результата — среда обогащения не пригодна для употребления.

Кишечные палочки (не менее 8—10 штаммов, можно «с посевных» чашек) засевают на среду обогащения из неразведенной суточной бульонной культуры по 0,5 мл, что соответствует, приблизительно, 30—40 миллионам клеток.

Результаты учитываются по помутнению среды через 18—24 часа инкубации посевов при 37°. Среда считается удовлетворительной, если большая часть испытанных культур (6—8) не вырастает (среда прозрачная) или дает чуть заметное помутнение.

Для выявления ингредиента, послужившего причиной брака среды, следует повторить ее контроль, последовательно заменяя один из ингредиентов новым.

Приложение № 2

МЕТОДИКИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СРЕД

Среда И. С. Олькеницкого

К одному литру питательного агара pH 7,2—7,4 прибавляют 10 г лактозы; 0,2 г соли Мора; 0,3 г гипосульфита; 10 г сахарозы, 1 г глюкозы, 10 г мочевины и 4 мл фенолового красного (0,4% раствор). Соль Мора и гипосульфит предварительно растворяют в дистиллированной воде в пробирках (для изготовления среды используют химически чистые ингредиенты). Углеводы и мочевину также растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды в колбе на водяной бане. Все ингредиенты хорошо перемешивают с агаром, а затем фильтруют через стерильный ватно-марлевый фильтр и устанавливают pH 7,2—7,4, добавляют индикатор, разливают в стерильные пробирки по 5—6 мл и стерилизуют при 0,2 атмосферы 20 мин. Для приготовления раствора индикатора 0,1 г фенолового красного растворяют в 25 мл стерильной дистиллированной воды. Раствор можно хранить в холодном месте до 10 дней. Если феноловый красный щелочерастворимый то 0,1 г его растирают в ступке с 5,7 мл 1/20 нормального раствора едкого натра. На литр среды добавляют 4 мл индикатора.

Трехуглеводная среда с мочевиной, гипосульфитом и индикатором ВР (по рецепту бактериологической лаборатории московской городской санэпидстанции)

Сухая среда Гисса с лактозой и индикатором ВР.	—	45 г
Глюкоза х. ч.	—	1,1 г
Сахароза х. ч.	—	10 г
Мочевина х. ч.	—	10 г
Гипосульфит х. ч.	—	1 г
Вода дистиллированная	—	1000 мл

Сухой препарат с лактозой и индикатором ВР добавляют в кипящую воду в виде заранее приготовленной болтушки (вода для ее приготовления берется из того же объема, т. е. литра). Затем прибавляются глюкоза, сахароза, мочевина и гипосульфит. Среду слегка прокипятить, затем профильтровать через ватно-марлевый фильтр, разлить в стерильные пробирки по 5—6 мл и стерилизовать при 0,5 атмосферы 20 минут. Цвет среды серовато-розовый. Скашивают таким образом, чтобы длина скошенной поверхности была равна длине столбика.

Среда для посева по Свен Гарду

Для посева по Свену Гарду в маленькие колбочки разливают по 15 мл 2% агара и хранят их в холодильнике. Перед постановкой опыта агар растапливают и к нему добавляют 16 мл отдельно разлитого в пробирки мясопептонного бульона (можно Хоттингера), при этом получается примерно 0,8% агар. К этому объему охлажденного до 40—50° агара добавляют 4—5 капель нужной сыворотки, затем все перемешивают и выливают в чашку Петри. После того, как агар в чашках застывает, его нужно подсушивать в течение 10—15 минут в термостате.

Приложение № 3

СХЕМА КАУФМАНА — УАЙТА (сокращенная)

Тип	О-антиген	Н-антиген	
		1 фаза	2 фаза
Группа А			
S. paratyphi A.	1, 2, 12	a	—
Группа В			
S. bispebjerg	1, 4, 5, 12	a	e, n, x
S. abortus equi	4, 12	—	e, n, x
S. paratyphi B.	1, 4, 5, 12	b	1, 2
S. java	1, 4, 5, 12	b	(1, 2)
S. abony	1, 4, 5, 12	b	e, n, x
S. abortus bovis	1, 4, 12, 27	b	e, n, x
S. stanley	4, 5, 12	d	1, 2
S. duisburg	1, 4, 5, 12, 27	d	e, n, $^{z}15$
S. saint-paul	1, 4, 5, 12	eh	1, 2
S. reading	4, 5, 12	eh	1, 5
S. chester	4, 5, 12	eh	e, n, x
S. san diego	4, 5, 12	eh	$^{e,n,z}15$
S. derby	1, 4, 12	f, g	—

Продолжение

Тип	О-антиген	Н-антиген	
		1 фаза	2 фаза
S. essen	4, 12	g, m	—
S. budapest	1, 4, 12	gt	—
S. typhi murium	1, 4, 5, 12	i	1, 2
S. bredeney	1, 4, 12, 27	l, v	1, 7
S. heidelberg	1, 4, 5, 12	r	1, 2
S. indiana	1, 4, 12	z	1, 7
S. stanleyville	1, 4, 5, 12	^{z}4,^{z}23	(1, 2)
S. haifa	1, 4, 5, 12	^{z}10	1, 2
	Группа С		
S. oslo	6, 7	a	e, n, x
S. brazzaville	6, 7	b	1, 2
S. paratyphi C.	6, 7 (Vi)	c	1, 5
S. cholerae suis	6, 7	c	1, 5
S. typhi suis	6, 7	c	1, 5
S. mission	6, 7	d	1, 5
S. amersfoort	6, 7	d	e, n, x
S. lomita	6, 7	eh	1, 5
S. braenderup	6, 7	eh	^{e,n,z}15
S. montevideo	6, 7	g, m, s	—
S. oranienburg	6, 7	m, t	—
S. thompson	6, 7	k	1, 5
S. concord	6, 7	l, v	1, 2
S. irumu	6, 7	l, v	1, 5
S. potsdam	6, 7	l, v	^{e,n,z}15
S infantis	6, 7	r	1, 5
S. inganda	6, 7	^{z}10	1, 5
S. tennessee	6, 7	^{z}29	—
S. muenchen	6, 8	d	1, 2
S. manhattan	6, 8	d	1, 5
S. newport	6, 8	e, h	1, 2
S. cottbus	6, 8	e, h	1, 5
S. manchester	6, 8	l, v	1, 7
S. bovis morbificans	6, 8	r	1, 5
S. tananarive	6, 8	y	1, 5
S. virginia	(8)	d	[1, 2]
S. kentucky	(8), 20	i	^{z}6
S. amherstiana	(8)	l, (v)	1, 6
	Группа Д		
S. sendai	1, 9, 12	a	1, 5
S. durban	9, 12	a	e, n, ^{z}15
S. onarimon	1, 9, 12	b	1, 2
S. typhi	9, 12, Vi	d	—
S. ndolo	9, 12	d	1, 5
S. eastbourne	1, 9, 12	e, h	1, 5
S. enteritidis	1, 9, 12	g, m	—

Продолжение

Тип	О-антиген	Н-антиген	
		1 фаза	2 фаза
S. blegdam	9, 12	g, m, q	—
S. pensacola	9, 12	m, t	—
S. dublin	1, 9, 12	g, p	—
S. rostock	1, 9, 12	g, p, u	—
S. moscow	9, 12	g, q	—
S. panama	1, 9, 12	i, v	1, 5
S. gallinarum-pullorum	1, 9, 12	—	—
Группа E			
S. oxford	3, 10	a	1, 7
S. birmingham	3, 10	d	1, w
S. muenster	3, 10	e, h	1, 5
S. anatum	3, 10	e, h	1, 6
S. nyborg	3, 10	e, h	1, 7
S. newlands	3, 10	e, h	e, n, x
S. meleagridis	3, 10	e, h	1, w
S. london	3, 10	1, v	1, 6
S. give	3, 10	1, v	1,7
S. uganda	3, 10	1, ^{z}13	1, 5
S. lexington	3, 10	^{z}10	1, 5
S. newington	3, 15	e, h	1, 6
S. minneapolis	(3), (15), 34	e, h	1, 6
S. liverpool	1, 3, 19	d	^{e,n,z}15
S. simsbury	1, 3, 19	—	^{z}27
Другие группы			
S. marseille	11	a	1, 5
S. aberdeen	11	i	1, 2
S. maracaibo	11	1, v	1, 5
S. ibadan	13, 22	b	1, 5
S. bristol	13, 22	z	1, 5
S. mississippi	1, 13, 23	b	1, 5
S. havana	1, 13, 23	f, g, [s]	—
S. fanti	13, 23	^{z}38	—
S. heves	6, 14, 24	d	1, 5
S. caracas	(1), 6, 14, 25	g, m, s	—
S. siegburg	6, 14, 18	^{z}4,^{z}23	—
S. vancouver	16	c	1, 5
S. orientalis	16	k	^{e,n,z}15
S. shanghai	16	1, v	1, 6
S. berlin	17	d	1, 5
S. minnesota	21	b	1, 5
S. taunton	28	k	e, n, x
S. chicago	28	r	1, 5
S. pomona	28	y	1, 7
S. urbana	30	b	e, n, x
S. adelaide	35	f, g	—

Продолжение

Тип	О-антиген	Н-антиген	
		1 фаза	2 фаза
S. colombo	38	y	1, 6
S. wandsworth	39	b	1, 2
S. caramoja	40	z41	1, 2
S. leipzig	41	z10	1, 5
S. landata	41	z10	1, 6
S. kampala	1, 42	c	z6
S. detroit	42	z	1, 5
S. graz	43	a	1, 2
S. christianborg	44	z4,z24	—
S. dugbe	45	d	1, 6
S. saka	47	b	—
S. bootle	47	k	1, 5
S. dahlem	48	k	e,n,z15
S. dougi	50	y	1, 6
S. meskin	51	e, h	1,2
S. utrecht	52	d	1, 5
S. midhurst	53	1,z28	z39
S. rossleben	54	e, h	1, 6
S. aztis	56	b	—
S. locarno	57	z29	z42
S. basel	58	1,z13, z28	1, 5
S. betioky	59	k	(z)
S. luton	60	z	e, n, x
S. culbek	61	i	z
S. arisonae	64	k	1, 5, 7
S. arisonae	65	l, v	1, 5, 7

Приложение № 4

Инструкция по применению сальмонеллезного О-бактериофага

Сальмонеллезный О-бактериофаг обладает широким диапазоном специфического действия в отношении бактерий рода сальмонелла и практически не активен в отношении других представителей энтеробактерий.

Определение чувствительности культур к О-бактериофагу (О-фаготест) является простым, удобным, быстрым и достаточно надежным вспомогательным методом при исследованиях на кишечную группу бактерий — 97,5% заведомых сальмонеллезных культур высоко чувствительны к О-бактериофагу и только 2,5% могут быть резистентными. Прочие кишечные бактерии (не считая дизентерийных, которые в небольшом проценте случаев чувствительны к этому бактериофагу) могут

быть лизированы указанным бактериофагом не более чем в 0,6—0,7% случаев. Среди известных и наиболее часто встречающихся серологических типов сальмонелл, резистентные встречаются внутри нескольких типов: в небольшом количестве у S. derbi, S. tennessee 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 четырех- или восемнадцатичасовой культуры (бульонной) испытуемого штамма (можно использовать взвесь суточной агаровой культуры в физиологическом растворе) наносят тонко оттянутой пастеровской пипеткой или петлей (диаметр 0,4—0,5 мм) на хорошо подсушенный слабощелочной агар pH 7,2—7,4 в чашки 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 37°, после чего учитывают результаты. Положительную реакцию (наличие лизиса) определяют по появлению на месте нанесения фага четко очерченной зоны сливного лизиса (++++) или большего или меньшего количества отдельных негативных колоний, отчетливо видимых глазом. При отсутствии лизиса в местах нанесения фага будет сплошной рост культуры, как и в контроле.

gost.e-ecolog.ru