УТВЕРЖДАЮ

Заместитель министра здравоохранения СССР, главный санитарный врач СССР

19 апреля 1971 г.

П. Н. Бургасов

ИНСТРУКЦИЯ И МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО КЛИНИЧЕСКОЙ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ЛЕЧЕНИЮ И ПРОФИЛАКТИКЕ ХОЛЕРЫ

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА»
МОСКВА — 1971

gost.e-ecolog.ru

ИНСТРУКЦИЯ
И МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО КЛИНИЧЕСКОЙ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ЛЕЧЕНИЮ И ПРОФИЛАКТИКЕ ХОЛЕРЫ

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА» 1971

УДК 616.932 (083.96)

В составлении инструкции принимали участие:

Е. В. Бунтин, А. С. Васенин, Е. А. Ведьмина, Ю. С. Воронин, Э. И. Варшавский, И. В. Домарадский, З. В. Ермольева, Н. Н. Жуков-Вережников, К. М. Лобан, Л. М. Марчук, Г. М. Мединский, В. Н. Никифоров, Н. С. Огнева, А. В. Павлов, А. Е. Панов, В. И. Покровский, В. Е. Семенов, Б. М. Тавьев, Р. В. Хрулева, К. В. Бунин, М. Ф. Шмутер, Ю. Ф. Щербак

Инструкция и методические указания по клинической и лабораторной диагностике, лечению и профилактике холеры

Техн. редактор *Л. Н. Вязьмина* Корректор *Н. В. Агеева*

Сдано в набор 8/VII 1971 г. Подписано к печати 4/VIII 1971 г. Формат бумаги 84×108/32 печ. л. 5,25 (условных 8,82 л.) 8,84 уч.-изд. л. Бум. тип. № 2 Тираж 30 000 экз. Т-13223. МН—72.

Издательство «Медицина». Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Заказ 1269. Типография № 32 Главполиграфпрома. Москва, Цветной бульвар, 26 Цена 53 коп.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ХОЛЕРЕ

Холера — острая кишечная инфекция, характеризующаяся проявлениями своеобразного гастроэнтерита или энтерита, при общей интоксикации, нарушении водно-солевого обмена, большей или меньшей степени обезвоживания организма, с прогрессирующим падением сердечно-сосудистой деятельности.

Холерой в естественных условиях болеет только человек. От других остро протекающих кишечных инфекций холера отличается тяжестью клинического течения, высокой летальностью и способностью в относительно короткие сроки поражать крупные контингенты населения на обширных территориях. По этим особенностям холера отнесена к группе особо опасных инфекций.

В Советском Союзе нет эндемических очагов холеры. Однако в условиях расширения торговых и культурных связей нашей страны с зарубежными государствами, при современных средствах передвижения людей не исключена вероятность заноса холеры из ее эндемических очагов.

Эндемичными по холере являются населенные пункты, расположенные по долинам индийских рек Ганга и Брахмапутры и на индонезийских островах (холера Эль-Тор). Отсюда она периодически распространяется в другие страны. С 1817 по 1926 г. холера 6 раз принимала характер пандемии, унося десятки миллионов человеческих жизней в странах Азии, Европы, Америки, Австралии и Африки.

Современное распространение холеры характеризуется как седьмая пандемия. Начиная с 1961 г. заболеваемость холерой Эль-Тор в мире значительно возросла, при этом из года в год увеличивается количество стран, пораженных ею.

К 1965 г. холера подошла к южным границам СССР, была зарегистрирована в Афганистане, из которого была занесена на территорию СССР — в Каракалпакскую

АССР и Хорезмскую область Узбекской ССР. В 1970 г. пандемией было охвачено более 40 стран, в том числе и такие, где очаги холеры никогда ранее не регистрировались или заболеваний не было в течение многих лет, такие, как Африканские страны, страны Западной Европы, Советский Союз, где в городах Астрахань, Одесса и Керчь были зарегистрированы вспышки холеры.

Учитывая большое сходство клинического проявления и эпидимиологических особенностей холеры Эль-Тор с типичной азиатской холерой, Всемирная организация здравоохранения на своей ассамблее в мае 1962 г. признала заболевания, вызываемые вибрионом Эль-Тор, холерой и включила их в число карантинных болезней.

В настоящее время в официальных документах Всемирной организации здравоохранения заболевания, вызываемые вибрионом Эль-Тор, трактуются как холера и называются холерой Эль-Тор.

На далекие расстояния за пределы эпидемичного очага из одного населенного пункта в другой холера заносится зараженным человеком, находящимся в инкубационном периоде, больным различными клиническими формами холеры, реконвалесцентом и здоровым вибриононосителем. При этом скорость и дальность распространения холеры определяются быстротой продвижения человека. В соответствии с растущей скоростью следования самолетов, железнодорожных поездов, всех типов судов на водных магистралях и автомашин на международных автотрассах увеличивается вероятность прямого заноса холеры на далекие расстояния (сотни и тысячи километров от действующего очага). Наибольшую опасность в отношении далекого заноса представляет воздушный транспорт. Подчеркивая возможность прямого, без промежуточных этапов далекого выноса холеры по воздушным, железнодорожным, автомобильным и водным путям сообщения, нельзя забывать о том, что по лежащим около очага населенным пунктам холера распространяется постепенно (по этапам), поражая, как правило, сначала более близкие, а затем более отдаленные населенные пункты. И в этом случае холера переносится также зараженным человеком и тоже по путям передвижения со всеми видами местной транспортной связи. При этом необходимо учитывать, что, кроме железнодорожных, водных, автомобильных и воздушных трасс местного значения, население передвигается гуже-

вым транспортом — на лошадях, ослах, верблюдах, а также пешком. Определяя вероятную возможность распространения холеры по этапам, в первую очередь следует обращать внимание на те населенные пункты, которые поддерживают постоянное общение с действующим очагом холеры (туризм, торговые и культурные связи, дома отдыха и курорты, места сбора паломников и т. д.).

Из всего изложенного следует, что при появлении холеры в сопредельных странах, а также в странах, с которыми Советский Союз имеет постоянные транспортные, пассажирские и торговые связи, угрожаемое по холере положение должно быть установлено: а) в местностях, непосредственно примыкающих к границам страны, где зарегистрирована холера; б) в населенных пунктах, имеющих со страной, пораженной холерой, постоянные транспортные связи; в) в населенных пунктах, расположенных по всему протяжению международных воздушных трасс, связывающих СССР с территорией, на которой зарегистрирована эпидемия холеры. При появлении очага холеры в крупном населенном пункте тщательному наблюдению подвергаются также все курортные места независимо от близости их к очагу инфекции.

Возбудитель холеры — холерный вибрион, был открыт Р. Кохом в 1883 г. во время вспышки холеры в Египте. Холерный вибрион — грамотрицательная изогнутая палочка, по форме напоминающая запятую; эти запятые расположены поодиночке или группами. Вибрион имеет один полюснорасположенный длинный жгутик, благодаря чему он активно подвижен. Морфология холерного вибриона довольно изменчива, иногда он приобретает шаровидную форму или имеет вид длинных нитевидных палочек. Легко окрашивается всеми анилиновыми красками, спор не образует, аэроб. Хорошо растет на обычных питательных средах щелочной реакции. Разжижает желатину, разлагает крахмал, образует индол, восстанавливает нитраты в нитриты, расщепляет до кислоты, но без газа, мальтозу, сахарозу, маннозу, глюкозу, маннит и не разлагает арабинозу, дульцит. По антигенной структуре и некоторым другим диагностическим реакциям (см. лабораторный диагноз холеры) холерный вибрион делится на серологические типы: Инаба, Огава, Гикошима. В мае 1962 г. ассамблея ВОЗ,

признав заболевания, вызываемые вибрионом Эль-Тор, холерой, дополнила тем самым вид холерного вибриона вариантом Эль-Тор. Большинство штаммов классического варианта холерного вибриона типов Инаба, Огава и Гикошима не лизирует в течение 48 часов эритроцитов барана и козы в жидких средах (методика Грейга), в то время как вибрионы варианта Эль-Тор гемолизируют эритроциты на этой среде. Однако встречается разновидность варианта Эль-Тор, которая не лизирует эритроцитов козы и барана.

Холерный вибрион не патогенен для животных. В естественных условиях он размножается только в организме человека.

Таким образом, единственным источником инфекции при холере являются: а) заразившиеся холерой люди, которые могут выделять холерных вибрионов с испражнениями уже в конце инкубационного периода и в периоде продромальных явлений; б) больные с различными формами холеры; в) реконвалесценты; г) здоровые вибриононосители.

Заражается человек холерой через рот, занося туда холерный вибрион при употреблении зараженной воды и зараженных пищевых продуктов, а также своими руками, загрязненными холерным вибрионом при уходе за больным холерой и при соприкосновении с различными предметами, загрязненными выделениями больных холерой (предметы домашнего обихода, дверные ручки, сливы и стульчаки в санузлах, дворовые уборные, зараженное белье и т. п.). Не исключена возможность заражения при купании в зараженных водоемах и при других формах заноса возбудителя холеры на слизистые оболочки рта.

КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ХОЛЕРОЙ

ПАТОГЕНЕЗ

Заражение человека холерой происходит через рот. Холерные вибрионы, попадая с пищей или водой в желудок, как правило, погибают при действии на них кислого желудочного содержимого. Однако часть вибрионов, попавших в кишечник, может оказаться в жизнеспособном состоянии и размножаться (при анацидности желудочного сока или в комках пищи). Размножение вибрионов происходит и в желчевыводящей системе.

В фильтратах кишечного содержимого и холерного стула находятся токсические факторы, которые в экспериментах на животных вызывают холероподобную диарею. Среди этих факторов наибольшее значение имеют два: 1) ингибирующий реабсорбцию натрия из кишечного канала в кровь; 2) повышающий проницаемость капилляров кишечника. Результатом действия токсических продуктов жизнедеятельности холерного вибриона на организм человека является развитие поноса, рвоты, общей интоксикации, обезвоживания и обессоливания организма. Потери электролитов со стулом происходят в результате нарушения изотонии в кишечнике. Наибольшие потери отмечены для ионов натрия, калия, бикарбонатов и хлора.

Обильный понос и рвота быстро приводят к резкому уменьшению объема циркулирующей крови. Возмещение жизненно необходимого для обеспечения кровообращения объема циркулирующей в сосудах крови происходит за счет перемещения в сосудистую систему воды и солей из межклеточного, а также внутриклеточного пространств. Образуется несовместимая с жизнью потеря тканями организма воды и солей.

Сгущение крови, с одной стороны, замедляет ее продвижение в сосудах, с другой — нарушает обмен веществ на клеточном уровне. Нарушается сократительная деятельность сердца, страдает функция мозга, почек и других органов.

Накопление в организме кислых продуктов обмена и дефицит оснований (BE венозной крови в среднем увеличен до —9,25±0,76 мэкв/л, а артериальной до —8,5±1,8 мэкв/л) способствуют возникновению компенсированного метаболического ацидоза (pH артериальной крови в среднем составляет 7,34±0,29). Вследствие воздействия кислотности на дыхательный центр происходит резкое увеличение объема легочной вентиляции. Компенсаторная гипервентиляция снижает парциальное давление углекислого газа и уменьшает кислотность плазмы, но образует гипокапнию (pCO_2 венозной крови в среднем понижено до 29,94±0,8 мм рт. ст., а артериальной — до 28,32±2,87 мм рт. ст.). Возникает порочный круг в метаболической и дыхательной регуляции кислотно-щелочного баланса у больных холерой, так как следствием гипокапнии являются нарушение денатурации оксигемоглобина и возникновение тканевой гипоксии; ацидоз и гипоксия вызывают рефлекторную гипервентиляцию и усугубление ее — гипокапнию. Оборвать эту цепь связанных между собой нарушений гомеостаза можно с помощью активной регидратационной терапии.

Эпителий слизистой оболочки тонкой кишки, по данным прижизненного патоморфологического исследования, сохраняет свою структуру даже в тяжелом начальном периоде болезни, что подтверждается патофизиологическими исследования по всасыванию растворов глюкозы и натрия при введении их внутрь через зонд.

Патогенез вибрионосительства в настоящее время остается во многом неясным. Носительство при холере по заключению Комитета экспертов ВОЗ (Женева, 1968, с. 267), «может длиться более 1000 дней и не исключается, что вибрион находит себе убежище в желчном пузыре. Было также обнаружено, что даже после успешного лечения больного холерой с применением и без применения антибиотиков последний способен по-прежнему выделять вибрионы...».

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

Патологоанатомические изменения у лиц, умерших от холеры, различны в зависимости от клинических форм, времени наступления смерти. Трупы людей, умерших в алгидном периоде холеры, отличаются значительной синюшностью кожных покровов, рельефностью су-

дорожно сокращенных мышц, резко выраженным трупным окоченением. Все ткани тела обезвожены, сухи. Брюшина покрыта незначительным тягучим, липким слизевидным налетом. Плевральные и околосердечная полости чаще жидкости не содержат. В печени, сердце и почках макроскопически резко выражены дистрофические изменения. Серозные оболочки — брюшина, плевра, перикард — полнокровны, с точечными кровоизлияниями. Тонкий кишечник наполнен жидким содержимым, молочно-белого цвета или цвета мясных помоев. Слизистая желудка, тонких и толстых кишок набухшая, полнокровная, с многочисленными мелкими кровоизлияниями. Лимфатический аппарат кишечника умеренно гиперплазирован. В почках дистрофические изменения эпителия вплоть до некроза. Дистрофические изменения в печени жирового и белкового характера. Желчный пузырь содержит мутноватую или светлую водянистую желчь, в которой нередко находят холерных вибрионов. В сердце имеются кровоизлияния в перикарде, эпикарде и дистрофические изменения, иногда волокнистый некроз отдельных мышечных волокон.

Если смерть наступает в более поздние периоды болезни от каких-либо осложнений, то при осмотре трупа на первый план выступают изменения, характерные для того или иного осложнения (пневмония, сепсис, сердечно-сосудистые расстройства и т. д.).

С помощью бактериологического исследования может быть проведена дифференциальная диагностика со сходными заболеваниями, характеризующимися тяжелыми гастроэнтеритами (отравление семенами клещевины, мышьяком, пищевые токсикоинфекции и т. д.).

КЛИНИКА

Инкубационный период при холере длится от 1—2 до 5 дней и в исключительно редких случаях несколько дольше.

Заражение холерным вибрионом (классическим или Эль-Тор) может вызвать весьма различную клиническую картину болезни — от бессимптомного носительства до состояния алгида.

Типичная клиника холеры начинается обычно с внезапного появления водянистого профузного поноса. В редких случаях болезнь может начинаться с некоторых

продромальных явлений в виде вялости, понижения аппетита, головокружения, дискомфорта, урчания в животе, иногда даже болей в области пупка, легкого поноса, который через сутки или двое становится типичным.

При холере стул не имеет неприятного запаха и представляет собой беловатую водянистую жидкость, с плавающими хлопьями, напоминающую по виду рисовый отвар. Однако стул может иметь желтоватый, коричневатый и даже красноватый оттенок. Вначале стул не частый, испражнения сохраняют каловый характер и запах, иногда содержат кусочки непереваренной пищи, вскоре они становятся кашицеобразными и, наконец, жидкими. С этого момента стул становится беспрерывным и непроизвольным. Понос, как правило, не сопровождается болями в животе и тенезмами, хотя незначительные боли могут иметь место.

Вскоре к поносу присоединяется рвота, которая не сопровождается тошнотой. Вначале рвотные массы содержат остатки пищи, а затем становятся водянистыми, иногда с примесью желчи. Рвота обычно обильная в виде фонтана. Мочеотделение резко уменьшается, может иметь место олигурия, а затем анурия.

Потеря жидкости, которая достигает 8—10% от веса больного, а также потеря значительного количества хлористого натрия и хлористого калия приводят к развитию у больного состояния, известного как алгид. В клиническом отношении алгид характеризуется падением артериального давления, вплоть до исчезновения, слабым, частым пульсом, резчайшей одышкой, цианозом кожных покровов, тоническими судорогами мышц конечностей, олигурией или анурией, выраженной гипертонией малого круга кровообращения (высокие «легочные» зубцы *P* во II и VF отведениях электрокардиограммы, выбухание дуги легочной артерии по данным рентгенограммы грудной клетки). Черты лица заострившиеся, глаза и щеки запавшие, язык сухой, слизистые рта сухие, голос сиплый, вплоть до полной афонии. Температура тела, как правило, снижается до субнормальных цифр. Кожа холодная на ощупь, тургор ее резко снижен, кожная складка не расправляется. Пальцы кистей рук и стоп морщинистые и напоминают «руки прачки». Рвота и понос при этом состоянии могут отсутствовать.

Изменения физико-химического свойства крови у больных в алгидном состоянии отражают степень обезвоживания, обессоливания и являются объективными показаниями к регидратационной терапии. В состоянии алгида масса циркулирующей плазмы уменьшена в среднем до 33,98±1,6 мл на 1 кг веса тела больного (норма 42—45 мл). За счет сгущения крови увеличены удельный вес плазмы в среднем до 1032±0,5 (норма 1024±0,35), индекс гематокрита — до 65,8±3,7 (норма 43,8±0,7), вязкость — в среднем до 9,2±0,02 единицы (норма 4,8±0,17 единицы).

Сгущенная кровь алгидных больных теряет способность свертываться, легко и часто лизируется в пробирке за счет повышения фибринолитической активности крови. Время фибринолиза уменьшается в среднем до 140,0±11,9 минуты (при норме 208,0±6,6 минуты). С другой стороны, время свертываемости, рекальцификации, гепариновое время уменьшаются, а протромбиновый индекс и фибриноген увеличиваются. Кислотно-щелочное равновесие нарушено и характеризуется метаболическим ацидозом, гипокапнией и дыхательным алкалозом артериальной и венозной крови (BE венозной крови в среднем увеличено до 9,25±0,76, а артериальной — до 8,5±1,8 мэкв/л, pH 7,3±0,3, pCO_2 венозной крови в среднем понижено до 29,9±0,8 мм, а артериальной — до 28,32±2,37 мм рт. ст.).

Движение электролитов характеризуется гипокалиемией плазмы, равной в среднем 3,5 мэкв/л (норма 5 мэкв/л), гипохлоремией плазмы — в среднем 83,3 мэкв/л (норма 100 мэкв/л), гипонатриемией плазмы — в среднем 125 мэкв/л (норма 134 мэкв/л) и эритроцитов — в среднем 17,4 мэкв/л (норма 28 мэкв/л), гиперкалиемией эритроцитов — в среднем до 85 мэкв/л (норма 84 мэкв/л). Эти данные, учитывая сгущение крови, на самом деле являются измененными в значительно большей мере.

Больные с алгидом требуют немедленной массивной регидратационной терапии, без которой исход заболевания весьма сомнителен.

В диагностическом отношении типичный холерный алгид не представляет больших трудностей в распознавании. Наибольшие диагностические затруднения возникают при легком течении холеры, которую без помощи бактериологических исследований трудно, а порой да-

же невозможно отличить от желудочно-кишечных заболеваний другой этиологии, сопровождающихся поносом.

Предопределяющей тактику врача у постели больного является степень тяжести болезни, что зависит от величины обезвоженности и потери солей.

При легком течении холеры жидкий стул и рвота могут быть однократными, а обезвоженность почти не выражена. Самочувствие у таких больных сохраняется удовлетворительным, жалобы сводятся к ощущению сухости во рту и повышенной жажде. Длительность болезни ограничивается обычно 1—2 днями, при таком течении холеры больные, как правило, не обращаются за медицинской помощью, и выявление их представляет значительные трудности.

В случаях со средней тяжестью течения холеры у больных, как правило, имеются характерные признаки болезни. Заболевание начинается чаще всего внезапно с появления профузного поноса, который становится все более частым — до 15—20 раз в сутки, теряет каловый характер и приобретает вид рисового отвара. Иногда заболевание может начаться с легкого поноса, который через 1—2 суток становится типичным для холеры. С момента присоединения рвоты наблюдается быстрое нарастание явлений обезвоживания. У больных появляются тонические судороги отдельных групп мышц, в особенности икроножных, пальцев рук и ног, живота. Голос становится охрипшим, язык сухим. При пальпации живота определяется урчание, а иногда и шум плеска жидкости. Больные жалуются на недомогание, резкую слабость, нехватку воздуха, значительно выраженную сухость во рту и жажду, которая плохо утоляется.

При средней тяжести течения холеры больные, как правило, вынуждены обращаться за медицинской помощью, и выявление их не представляет больших трудностей. Заболевание затягивается в среднем до 5—7 дней, и, хотя в ряде случаев возможно выздоровление без всякого лечения, больные обычно нуждаются в проведении регидратационной терапии для возмещения потерянной жидкости и солей.

Тяжелое течение холеры по своей клинической картине весьма близко к алгиду, но при тяжелой форме степень обезвоженности не доходит до такой крайней степени, как при алгиде. Вследствие этого у больных сохраняются частый, обильный водянистый понос и рвота,

температура не снижается до субнормальных цифр. В остальном тяжелое течение холеры, как и при алгиде, характеризуется падением артериального давления, слабым пульсом, вплоть до его исчезновения, одышкой, цианозом кожных покровов, тоническими судорогами мышц конечностей, олигурией и анурией. Черты лица у них заострившиеся, глаза и щеки запавшие, язык сухой, голос сиплый вплоть до афонии. Тургор кожи резко сниженный, кожная складка не расправляется, пальцы кистей рук и пальцы ног морщинистые. Живот вздутый, при пальпации по ходу кишечника определяется выраженное урчание и шум плеска жидкости. Больные жалуются на резчайшую слабость, недомогание, неутолимую жажду.

При тяжелом течении болезни больные нуждаются в экстренной, массивной регидратационной терапии. При запоздалой медицинской помощи и дальнейшей потере жидкости у больных обычно развивается состояние алгида, клиническая картина которого описана выше. Выявление этих больных и установление истинного диагноза болезни затруднений не вызывают.

Особую диагностическую трудность представляет бессимптомное вибриононосительство. Вибриононосители являются практически здоровыми в клиническом отношении людьми и выявление их основывается лишь на положительных бактериологических находках. Они не нуждаются в регидратационной терапии и получают лечение лишь антибиотиками для прекращения выделения возбудителя.

При установлении диагноза холеры указывают биотип возбудителя (классической холеры — Огава, Инаба; биотип Эль-Тор — Огава, Инаба) и тяжесть течения болезни (легкая, средней тяжести и тяжелая, алгид), а также вибриононосительство, с указанием биотипов. При этом необходимо придерживаться международной классификации болезней, травм и причин смерти. По этой классификации холера входит в рубрику 000 и подразделяется:

000,0—классическая холера;
000,1—холера Эль-Тор;
000,9—холера неуточненная.

Диагноз холеры устанавливается в первую очередь на основании клинической картины болезни с учетом данных эпидемиологической обстановки и бактериологического подтверждения.

При определенных условиях (очаг холеры, приезд и нахождение на территории, неблагополучной по холере) диагноз холеры может быть поставлен на основании только клинической картины без бактериологического подтверждения.

ЛЕЧЕНИЕ

Принцип лечения основан на патогенезе холеры и заключается в восстановлении водно-солевого баланса организма больного.

Терапия холеры наиболее эффективна в первые часы от начала заболевания и сразу же должна быть крайне энергичной. При этом лечение делится на регидратацию и коррекцию продолжающихся потерь воды и солей.

Регидратационная терапия направлена на немедленное восстановление водно-солевого баланса организма больного и в этом плане приравнивается к реанимационным мероприятиям.

В регидратационное отделение или регидратационную палату больные, нуждающиеся в неотложной терапии, направляются, минуя приемное отделение. Здесь больные взвешиваются и помещаются на «холерные койки». В течение 5 минут от момента поступления больному должны быть сосчитаны пульс, дыхание, определено кровяное давление, взята кровь из вены для определения удельного веса плазмы крови, содержания K, Na, Cl, величины ацидоза и начато струйное внутривенное введение стандартного солевого раствора № 1 состава 5.4.1 [1].

Тяжелые больные нуждаются в немедленном введении солевого раствора в количестве, равном 10% его веса. Сначала жидкость вводится с очень большой скоростью — до 100 мл в минуту (первые 2 л), а затем скорость введения постепенно снижается и через $1^1/_2$—2 часа доводится до 5—10 мл в минуту.

Необходимая объемная скорость струйного внутривенного введения раствора до 100 мл в минуту обеспечивается применением систем для переливания жидкостей одноразового пользования. В некоторых случаях для увеличения объема необходимо пользоваться двумя

[1] Состав и приготовление раствора № 1 см. в разделе: «Приготовление стандартных солевых растворов», стр. 18.

и более такими системами и вводить жидкость в вены не только рук, но и ног.

При невозможности венепункции должна быть произведена венесекция.

Обычно через 15—25 минут от начала введения солевого раствора у больного начинают определяться пульс и кровяное давление. Через 30—45 минут исчезает одышка, значительно уменьшается цианоз, становится влажным язык, появляется голос, восстанавливается пульс. В этот период может иметь место однократная или двукратная рвота.

Через 4—6 часов от начала введения солевого раствора состояние больного значительно улучшается: больной самостоятельно пьет, восстанавливаются пульс и кровяное давление. К этому времени объем введенного раствора № 1 в среднем в $2^1/_2$ раза превышает потери организмом жидкости с поносом, рвотой и мочой и составляет, как правило, при тяжелых случаях у взрослого больного 6—10 л. Это ведет к снижению удельного веса плазмы крови в среднем до $1020{,}2 \pm 0{,}67$, уменьшению индекса гематокрита до $40{,}9 \pm 1{,}3$ и вязкости крови до $3{,}48 \pm 0{,}46$ единицы.

В период регидратационной терапии в ряде случаев у больного может быть отмечен переход гипокалиемии в гиперкалиемию (больше 6 мэкв/л), что сопровождается появлением неприятных ощущений в области сердца, нарушениями предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости (увеличение *P—Q, QRS* на ЭКГ). При этих явлениях стандартный солевой раствор № 1 состава 5.4.I временно заменяется стандартным солевым раствором № 2 состава 6.4 [1]. Обратный переход на введение раствора № 1 делается при восстановлении нормальной концентрации калия в плазме.

Однако значительно чаще приходится иметь дело с выраженной гипокалиемией в силу того, что стандартный солевой раствор № 1 состава 5.4.I не всегда полностью компенсирует недостаток калия. В таких случаях коррекция содержания калия в плазме крови производится добавлением 1% раствора хлористого калия в раствор № 1 в миллилитрах, определяемых по формуле:

$$P \cdot 1{,}44(5-x) = V,$$

[1] Состав и приготовление раствора № 2 см. в разделе «Приготовление стандартных солевых растворов», стр. 19.

где P — вес больного (в кг), x — содержание калия в плазме крови (в мэкв/л), V — количество миллилитров 1% раствора хлористого калия. Например: вес больного 50 кг, содержание калия в плазме 3 мэкв/л:

$$50 \cdot 1{,}44(5-3) = 144 \text{ мл.}$$

В данном случае больному необходимо дополнительно с раствором № 1 ввести 144 мл 1% раствора хлористого калия.

Дефицит оснований, недостаток натрия и хлора в организме больного надежно восстанавливаются внутривенным введением стандартных растворов № 1 и № 2.

Надо иметь в виду, что успех терапии во многом определяется не только правильно проведенной регидратацией, но и полноценностью коррекции продолжающихся потерь воды и солей, осуществляемую длительное время, в тяжелых случаях — в течение нескольких суток. По окончании регидратации при поддерживающей терапии объем вводимой жидкости коррелируется скоростью ее потерь и находится в прямой зависимости от объема испражнений и рвотных масс. При усилении рвоты и поноса скорость введения жидкости соответственно увеличивается.

За первые сутки больной должен получить 10—15 л, а в отдельных случаях и значительно большее количество литров раствора. Общий объем вводимого раствора за 3—5 дней лечения взрослого больного может составить 30—100 л.

Учет степени обезвоживания и дефицита электролитов производится как путем прямого измерения количества выделенных испражнений, рвотных масс и мочи, так и путем измерения удельного веса плазмы, определения индекса гематокрита, вязкости крови, величины ацидоза.

Наблюдение за содержанием ионов калия в организме больного, по данным электрокардиограммы, является ненадежным методом. Изменения величины и формы зубцов T в стандартных, увеличенных и грудных отведениях у больных холерой не соответствуют ортодоксальным электрокардиографическим признакам гипер- или гипокалиемии.

Движение электролитов исследуется с помощью плазменного фотометра или экспресс-диагностики, и данные

электрокардиограмм должны дополняться показателями содержания калия в плазме.

Для определения необходимого количества солевого раствора при поддерживающей терапии можно пользоваться формулой Филлипса, основанной на определении удельного веса плазмы крови:

$$4 \cdot 10^3 \ (D-1{,}025)P = V,$$

где D — удельный вес плазмы крови больного, P — вес больного (в кг), V — необходимое количество солевого раствора (в мл).

При появлении на введение солевых растворов реакции (озноб, повышение температуры тела) введение жидкости не прекращается. В этих случаях раствор вводится более медленно и для снятия озноба, неприятных ощущений в перфузионную систему добавляется промедол с пипольфеном или димедролом (1—2 мл). При резко выраженных реакциях необходимо дополнительно к этому добавить 30—60 мг преднизолона.

Для лечения детей, особенно раннего возраста, применяется раствор с включением в него глюкозы или декстрозы.

На 1 л апирогенной воды берется 4,5 г NaCl, 50 г декстрозы или глюкозы, 4 г $NaHCO_3$, 1 г KCl.

В противоположность весьма интенсивным регидратационным мероприятиям у взрослых регидратация у детей растягивается на 6—8 часов. После определения веса с точностью до граммов необходимое количество солевого раствора, равное 10% веса ребенка, вводится следующим образом. В первый час вводится лишь 4%, а остальные 6% солевого раствора — в течение 5—7 часов.

Применение сердечно-сосудистых препаратов с целью выведения больных из алгида противопоказано. Особенно противопоказаны прессорные амины, которые способствуют у тяжелых больных холерой развитию почечной недостаточности.

Противопоказанным является применение крови, плазмы и их производных. Не имеется показаний и к применению кровезаменителей. Как исключение короткое время можно вводить физиологический раствор с обязательным последующим переходом на введение стандартного солевого раствора № 1.

При лечении тяжелых форм холеры антибиотики самостоятельной роли не играют и без регидратационной терапии их не назначают.

Присоединение к регидратационной терапии антибиотиков сокращает на $^1/_3$ длительность поноса в часах и объем стула в литрах, в 3—4 раза сокращает длительность вибрионовыделения.

Антибиотики назначаются внутрь. Парентеральное введение антибиотиков по сравнению с энтеральным преимуществ не имеет.

Наиболее широко из антибиотиков используются препараты тетрациклинового ряда — окситетрациклин, тетрациклин, хлортетрациклин, которые назначаются внутрь после прекращения рвоты по 300 000 ЕД 4 раза в день в течение 5 дней. В случаях продолжающегося вибрионовыделения после окончания лечения тетрациклином проводится повторный курс лечения антибиотиками, но не тетрациклином, а левомицетином по 0,5 г 4 раза в сутки в течение 5 дней. Детям антибиотики назначаются в дозах соответственно их возрасту и весу.

Лечение легких форм холеры ограничивается назначением обильного питья и тетрациклина по указанной выше схеме.

Назначение антибиотиков при легких формах вибрионосительства проводится по той же схеме, что и при лечении тяжелых больных.

Специальной диеты для больных холерой не требуется. В первые сутки лечения больному показано обильное питье, а со следующего дня больной может получать общий стол в половинном объеме и в последующие дни с полным рационом.

Приготовление солевых стандартных растворов. 1. Стандартный солевой раствор № 1. Раствор приготовляется на апирогенной бидистиллированной воде. На 1 л воды берут 5 г хлористого натрия (NaCl), 4 г бикарбоната натрия ($NaHCO_3$) и 1 г хлористого калия (KCl). Все соли должны быть химически чистыми. Полностью приготовленный раствор нестоек и сохраняет годность в течение 6 часов. Для длительного хранения (до 1 месяца) заготовляют стерильный раствор, содержащий хлористый натрий и хлористый калий, к которому придается стерильная навеска бикарбоната натрия.

Бикарбонат натрия растворяется в подогретом до 38—40° растворе непосредственно перед употреблением. Необходимым условием хранения солевых растворов является посуда из нейтрального химически чистого стекла или пластика.

Жидкость вводят через систему для переливания жидкостей одноразового пользования.

2. Стандартный солевой раствор № 2. Раствор приготовляют на апирогенной бидистиллированной воде. На 1 л воды берут 6 г хлористого натрия (NaCl), 4 г бикарбоната натрия ($NaHCO_3$).

Условия приготовления, хранения и введения точно такие же, как и стандартного солевого раствора № 1.

Методика определения удельного веса плазмы крови. Необходимые реактивы: медный купорос ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) и дистиллированная вода.

Приготовление маточного и насыщенного раствора медного купороса: 720 г медного купороса ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) растворяют в воде и доливают в литровую колбу до метки. Колбу закрывают и энергично встряхивают 5 минут. Раствор быстро фильтруют через большую воронку, оставляя кристаллы в колбе.

Для приготовления маточного раствора 489 мл насыщенного раствора ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) доливают дистиллированной водой до 1 л. Удельный вес такого раствора при 20° равен 1100.

Из маточного раствора приготавливают серию растворов с удельным весом от 1015 до 1039.

В колбу емкостью 100 мл наливают расчетное количество маточного раствора (например, для приготовления раствора с удельным весом 1023 берут 24 мл маточного раствора, для приготовления раствора с удельным весом 1045 берут 46 мл маточного раствора и т. д.). Если рабочий раствор получается с меньшим удельным весом, чем требуется, то добавляют по каплям маточный раствор до получения требуемого удельного веса. Если рабочий раствор получается с большим удельным весом, чем требуется, то добавляют по каплям дистиллированную воду до получения требуемого удельного веса.

Полученные растворы переливают в бутылочки емкостью 200 мл, закрывающиеся резиновыми пробками, и снабжают их этикетками с указанием удельного веса.

Для определения удельного веса плазмы крови используют растворы с удельным весом от 1015 до 1039.

Удельный вес маточного и рабочего растворов проверяют в цилиндрах емкостью 100 мл с помощью денситометра.

Методика определения удельного веса заключается в закапывании исследуемой крови или плазмы крови в рабочие растворы. При найденном удельном весе исследуемая капля свободно плавает в рабочем растворе, не всплывая и не погружаясь вниз.

Методика быстрого определения сывороточного калия. Необходимые реактивы: 1) реактив А состоит из 3 мэкв/л KCl и 140 мэкв/л NaCl; приготовление реактива А: 0,224 г KCl и 8,12 г NaCl растворяют в 1 л дистиллированной воды; раствор содержит 11,7 мг% калия, что является контролем — нормой; 2) реактив Б состоит из 5 мэкв/л KCl и 140 мэкв/л NaCl; приготовление раствора Б: 0,373 г KCl и 8,12 г NaCl растворяют в 1 мл дистиллированной воды; раствор содержит 19,5 мг% калия; 3) раствор кобальтнитрита натрия 15% (Na_2CoNO_2).

Необходимые материалы: микропипетки 0,1—0,2 мл 2 шт.; пипетки Сали — 1 шт.; предметные стекла с одним или несколькими углублениями (по числу предполагаемых исследований); стеклянные палочки — 1 шт.; черная бумага 15×15 см — фон для чтения результатов исследования на предметном стекле.

Методика исследования. Забирают 1 мл венозной крови в центрифужную пробирку, центрифугируется 7—10 минут немедленно после забора крови при 2500—3000 об/мин. Сыворотку отделяют. Пипетками Сали берут две пробы по 0,02 мл полученной сыворотки и переносят в два разных углубления предметного стекла. Затем микропипеткой берут 0,2 мл стандартного раствора А и 0,2 мл стандартного раствора Б, которые переносят на два других углубления предметного стекла.

В каждое из четырех углублений добавляют микропипеткой 0,01 мл кобальтнитрита натрия ($NaCoNO_2$) последовательно: 1) в исследуемую сыворотку; 2) в стандартную с 3 мэкв/л калия (реактив А); 3) в стандартную с 5 мэкв/л калия (реактив Б); 4) в исследуемую сыворотку. Каждую из проб перемешивают стеклянной палочкой в течение 5 секунд, чтобы равномерно распределить преципитат в капле. Предметное стекло накладывают на черный фон для сравнения интенсивности образующегося осадка со стандартным раствором.

Стандарт с 5 мэкв/л калия дает диффузный беловато-желтоватый осадок через 10 секунд после перемешивания.

Стандарт с 3 мэкв/л калия образует периферический бледно-белый осадок через 20 секунд после перемешивания.

Исследования должны проводиться при температуре окружающей среды, не превышающей 25—27°. При более высокой температуре воздуха предметные стекла должны быть предварительно охлаждены в холодильнике.

Определение концентрации калия в сыворотке

Концентрация калия, мэкв/л	Характеристика осадка в пробах
<3	Осадка нет или он выражен слабее, чем в стандарте с 3 мэкв/л
3	Периферический бледно-белый осадок, сходный со стандартом в 3 мэкв/л
>3<5	Интенсивность осадка более выражена по сравнению со стандартом в 3 мэкв/л и менее выражена по сравнению со стандартом в 5 мэкв/л
5	Беловато-желтоватый осадок, сходный со стандартом в 5 мэкв/л
<5	Беловато-желтый осадок, более выраженный по сравнению со стандартом в 5 мэкв/л

УСТРОЙСТВО И РЕЖИМ ХОЛЕРНОГО СТАЦИОНАРА

Холерный стационар может быть создан на базе любых лечебных учреждений (районные, областные, городские больницы), школ, общежитий, домов отдыха, санаториев, пионерских лагерей, некоторых общественных зданий, палаточных городков и т. д. При организации стационара предпочтение отдается зданиям, имеющим водопровод и канализацию.

Количество коек и структура стационара находятся в прямой зависимости от размеров вспышки или эпидемии холеры.

В холерном стационаре предусматриваются следующие подразделения.

1. Приемное отделение. Оно должно быть достаточно просторным с хорошими подъездными путями и обо-

рудовано необходимым твердым и мягким инвентарем, медицинским инструментарием. В приемном отделении находятся стол, стул, кушетка, медицинский шкаф для инструментария и медикаментов, медицинские весы, дезрастворы. Желательно иметь ванную или душ. В приемном отделении производится сортировка больных по тяжести заболевания. Больные с тяжелой, очень тяжелой и алгидной формами направляются немедленно без всякой обработки и записи в истории болезни в реанимационное отделение (палату). Больные с легкой и среднетяжелыми формами взвешиваются, осматриваются врачом, на них заполняется история болезни; они проходят санитарную обработку и после этого направляются в отделение (палату) для легких или среднетяжелых больных.

Одежда больных упаковывается в специальные мешки и направляется для проведения дезинфекции.

2. Реанимационное — регидратационное отделение (палата). Оснащается специальными «холерными» кроватями, достаточным количеством стандартных солевых растворов, системами одноразового пользования для внутривенных введений, штативами к ним, стерильными наборами хирургического инструментария для производства венесекции, стерилизаторами, биксами со стерильными материалами, набором шприцев и игл, тонометрами на каждого больного. Необходимо иметь мерную посуду для учета выделений больного, тазы для рвотных масс, баки для дезинфекции выделений, посуду для замочки белья.

В отделении должны быть амбарные весы для взвешивания больного на носилках. В этом отделении больной при поступлении взвешивается, укладывается на «холерную» койку, раздевается, и ему немедленно начинается внутривенное введение стандартных солевых растворов.

У каждого больного в реанимационном отделении устанавливается круглосуточный пост медицинской сестры, один врачебный круглосуточный пост на 2 больных и пост санитарки на одну палату. В палате реанимационного отделения может находиться от 1 до 6 больных. Количество больных зависит от площади имеющихся палат.

Больные из реанимационного отделения (палаты) после проведения реанимационных мероприятий и окон-

чания регидратации переводятся в отделение (палату) для больных со средней тяжестью течения болезни.

3. Отделение (палата) для больных со средней тяжестью течения холеры оснащается обычными койками. Предусматривается выделение туалетных комнат с индивидуальными подкладными суднами или ночными горшками (могут быть использованы небольшие ведра, кастрюли и т. д.). В туалетных комнатах устанавливаются баки для обеззараживания выделений больных и дезинфекции суден и горшков.

Так как отдельные больные могут нуждаться во введении стандартных солевых растворов, предусматривается выделение процедурной комнаты с необходимым запасом стандартных солевых растворов, систем одноразового пользования для внутривенных вливаний жидкостей и другой медицинский инструментарий (шприц, стерилизатор, иглы), тонометры, биксы со стерильным материалом, различные медикаменты, антибиотики.

В обязательном порядке предусматривается буфетная комната для раздачи пищи больным, оборудованная баками для кипячения посуды от больных и обеззараживания остатков пищи и мойки для мытья посуды. При этом отделении желательно иметь ординаторскую, комнату старшей медицинской сестры, комнату сестры-хозяйки и кладовую, комнату для младшего персонала, помещение для временного хранения грязного белья.

4. Отделение (палата) для больных с легким течением холеры. Оборудуется и оснащается так же, как и отделение для больных со среднетяжелым течением болезни.

5. Отделение (палата) для вибриононосителей. Оборудуется так же, как и отделение для больных со среднетяжелым течением холеры.

6. Лаборатория функциональной диагностики. Оснащается пламенным фотометром, аппаратом «Микроаструп», электрокардиографом, центрифугой.

7. Клиническая лаборатория. Оснащается необходимым оборудованием для проведения общеклинических исследований (кровь, моча, кал).

8. Аптека. Оснащается аппаратурой для получения стерильных стандартных солевых растворов на апирогенной воде.

9. Пищеблок.

10. Столовая для медицинского персонала.

11. Санпропускник.
12. Прозекторская.
13. Административно-хозяйственная часть.
14. Прачечная с дезинфекционной камерой.

Госпиталь должен иметь ограждение и охраняться с соблюдением пропускного режима.

Описанная структура холерного стационара предусмотрена для стационара не менее чем на 50 коек. Стационары с меньшим количеством коек могут не иметь некоторых подразделений. Так, больные с легкими и средней тяжести формами болезни могут госпитализироваться вместе в одну палату; может не быть ординаторских, комнат для старших медицинских сестер и т. д.

Персонал холерного стационара работает по режиму, установленному для отделений с острыми желудочно-кишечными заболеваниями.

Посещение больных родственниками запрещается, однако передача продуктов в фабричной упаковке (печенье, сахар, варенье, сгущенное молоко, кофе, какао и т. д.), фруктов (моются предварительно персоналом), газет, журналов, книг больным разрешается. Врачи и медицинские сестры носят общепринятую в Советском Союзе форму (халат, косынку или шапочку, тапочки).

При производстве туалета больному, взятии реактивного материала надеваются резиновые перчатки. Младший медицинский персонал, помимо описанной одежды, надевает клеенчатый фартук, резиновую обувь, а при работе с выделениями носит маску. После работы персонал принимает гигиенический душ.

Обеззараживание выделений больных, суден и остатков пищи от больных производится 5% раствором лизола, 10% раствором хлорной извести, 2—3% раствором хлорамина с экспозицией 2 часа.

Столовую посуду (тарелки, чашки, ложки, вилки, ножи и т. д.) после употребления кипятят не менее 15 минут, после чего посуду моют и хранят до новой раздачи пищи.

Влажную уборку палат производят 2 раза в день тряпкой, смоченной в 0,5% растворе хлорамина, 0,2% осветленном растворе хлорной извести или 3% растворе лизола. У порога каждой палаты и выходных дверей госпиталя кладутся коврики, смоченные дезинфицирующим раствором, которые постоянно должны быть влажными.

В отделении должны быть вода для мытья рук, мыло и при выходе из отделения свежий дезинфицирующий раствор для рук — 0,2% раствор хлорамина.

Истории болезни заполняются врачами чернилами, как в любом инфекционном отделении для острых желудочно-кишечных заболеваний.

Выделения больного спускаются в канализацию после соответствующей дезинфекции или выносятся в специально вырытую выгребную яму.

Казарменное пребывание медицинского персонала при работе в холерном стационаре не обязательно.

При составлении штатов холерного стационара необходимо исходить из следующих потребностей:

1) реанимационное отделение — 1 круглосуточный врачебный пост на 2 больных, 1 круглосуточный сестринский пост на одного больного, 1 санитарка на палату;

2) отделение для больных средней тяжести, с легким течением холеры и вибриононосителей — 1 круглосуточный врачебный пост на 8—10 больных, 1 круглосуточный сестринский пост на 15 больных, 1 санитарка на 15 больных;

3) ответственный дежурный для отделений с больными легкой и средней тяжестью болезни;

4) приемное отделение — бригада в составе врача, сестры и няни — круглосуточно при приеме 10—15 больных в сутки;

5) остальной персонал стационара рассчитывается по существующим штатным расписаниям.

УСТРОЙСТВО И РЕЖИМ ПРОВИЗОРНОГО СТАЦИОНАРА

Организация провизорного стационара предусматривает обеспечение госпитализации всех без исключения больных с желудочно-кишечными заболеваниями для установления истинного диагноза болезни.

Провизорный стационар, как и холерный, может быть размещен в любом отдельно расположенном здании. При этом предпочтение отдается зданиям, имеющим водопровод и канализацию.

Количество коек в провизорном стационаре зависит от уровня заболеваемости острыми желудочно-кишечными инфекциями, в среднем количество коек должно

быть примерно в 10 раз больше, чем в холерном стационаре.

Провизорный стационар должен иметь:

1) приемное отделение;
2) отделение для лихорадящих больных;
3) отделения для больных с желудочно-кишечными проявлениями;
4) ректороманоскопический кабинет;
5) рентгенологический кабинет;
6) клиническую лабораторию;
7) пищеблок;
8) аптеку.

Приемное отделение оборудуется необходимым твердым и мягким инвентарем, медицинским инструментарием (стол, стул, кушетка, медицинский шкаф для инструментария и медикаментов, медицинские весы, дезрастворы), должно иметь ванну или душ. В приемном отделении производится сортировка больных по характеру и тяжести заболевания. Больные взвешиваются, осматриваются врачом, на них заполняется история болезни, они проходят санитарную обработку и после этого направляются в одно из отделений в зависимости от характера заболевания.

Отделение для лихорадящих больных по возможности должно иметь небольшие палаты, рассчитанные на 1—2 больных.

Больные обеспечиваются индивидуальными подкладными суднами или ночными горшками, которыми пользуются в зависимости от состояния в палате или в специально выделенной туалетной комнате. В туалетных комнатах устанавливаются баки для обеззараживания выделений больных и дезинфекции суден и горшков. После дезинфекции выделения больных могут быть слиты в общую канализацию.

При отделении должна быть организована процедурная комната с запасом систем одноразового пользования для внутривенных вливаний жидкостей, шприцы, иглы, стерилизаторы, зонды для взятия желчи и желудочного содержимого, биксы со стерильным материалом и т. д.

Рядом с процедурной необходимо иметь специально оснащенную комнату для ректороманоскопии.

В обязательном порядке предусматривается буфетная комната для раздачи пищи больным, оборудованная баками для кипячения посуды от больных, обеззаражи-

вания остатков пищи и мойками для мытья чистой посуды. Если имеется возможность, то в отделении устраивается столовая для больных. При столовой должно быть помещение с баками для кипячения посуды от больных, дезинфекции остатков пищи и моечная для мытья посуды.

В отделении желательно иметь ординаторскую, выписную, комнату старшей медицинской сестры, комнату сестры-хозяйки с кладовой, комнату для младшего персонала, помещение для временного хранения грязного белья, комнату для замочки грязного белья в дезинфицирующих растворах.

Отделение для больных с желудочно-кишечными проявлениями оборудуется и оснащается так же, как и отделение для лихорадящих больных.

Рентгенологический кабинет оснащается обычной аппаратурой и обслуживает оба отделения стационара.

Клиническая лаборатория оборудуется аппаратурой, необходимой для производства общеклинических исследований (крови, мочи, кала). Бактериологические исследования проводятся или в специально организованной бактериологической лаборатории при провизорном стационаре, или в существующих лабораториях города.

Пищеблок оборудуется необходимым инвентарем и укомплектовывается поварским и вспомогательным составом в зависимости от коечного фонда.

Аптека оснащается необходимой аппаратурой для получения стерильных растворов на апирогенной воде и необходимым запасом медикаментов.

Персонал провизорного стационара работает по режиму, установленному для отделений с острыми желудочно-кишечными заболеваниями.

Настоящая карта заполняется в двух экземплярах

ЭПИКРИЗ

больного холерой, находившегося в клинике, больнице

_____

_____

I. Паспортная часть

1. Фамилия, имя, отчество _____

2. Возраст _____ пол _____

3. Номер истории болезни _____, койко-день _____

4. Дата и время заболевания (указать часы) _____

5. Дата и время госпитализации _____

6. Клинический диагноз _____

7. Форма болезни:

   а) легкая (энтерит)

   б) среднетяжелая (гастроэнтерит)

   в) тяжелая (алгид)

   г) клинически здоров (вибриононоситель)

8. Бактериологическое подтверждение (кал, рвотные массы), вид возбудителя _____

_____

9. Сопутствующие заболевания _____

10. Осложнения: _____

II. Эпидемиологический анамнез

Контакт с больным холерой (семейный, производственный, неизвестен), употребление сырой воды, купание.

III. Клинические проявления при поступлении

1. Вес тела до болезни———, при поступлении———, перед выпиской———
2. Начало: острое, подострое
3. Слабость, головокружение, обморочное состояние
4. Тошнота, рвота, неприятные ощущения в животе, боли в животе (в эпигастрии, в области слепой и сигмовидной кишок, разлитые)
5. Стул в первые сутки болезни, его характер: бескаловый, водянистый или с примесью слизи, оформленный; до 3 раз, от 4 до 10 раз, более 10 раз.
6. Рвота до 3 раз, от 4 до 10 раз, без счета.
7. Общее количество потерянной жидкости со рвотой и испражнениями в 1-е———, на 2-е ———, 3-и ——— 4-е——— 5-е сутки ——— и всего за время болезни———
8. Судороги: пальцев, кистей, стоп, конечностей, общие.
9. Афония: да, нет, сиплый голос.
10. Цианоз губ, акроцианоз, общая синюшность.
11. Температура тела в 1-й———, на 2-й ———, 3-й——— день болезни и далее.
12. Анурия: да, нет.
13. Тургор кожи: нормальный, понижен, резко понижен, «руки прачки».
14. Сухость слизистых: слабая, умеренная, выраженная, резкая.
15. Запавшие глаза — «темные очки», заострившиеся черты лица.
16. Язык: сухой, влажный, обложенный.
17. Живот: вздутый, втянутый, болезненный при пальпации в области———урчание.
18. Сердечно-сосудистая система: пульс———ударов в минуту, ритмичный.

Артериальное давление_____мм рт. ст.; тоны сердца ясные, приглушены, глухие.

19. Частота дыхания_____в минуту.

20. Анализ крови: эр. Hb л. э. ю. п. с. л. м. РОЭ

а) при поступлении _____

б) при выписке_____

_____

21. Анализ мочи: удельный вес белок эр. лейк. почечный эпителий цилиндры

а) при поступлении_____

б) при выписке_____

IV. Лечение

1. Введение солевых растворов:

а) № 1 внутривенно струйно в количестве_____в течение_____часов, капельно в количестве _____в течение _____часов

б) № 2 внутривенно в количестве_____в течение_____ часов

в) только внутрь в количестве_____

2. Общее количество введенной жидкости (в литрах): 1-е сутки_____, 2-е сутки_____, 3-и сутки_____, всего _____

3. Антибиотики:

а) тетрациклин внутримышечно

б) тетрациклин внутрь

в) левомицетин

г) антибиотики не получал

д) повторные курсы лечения антибиотиками:

тетрациклин, левомицетин _____

антибиотик отменен (указать причину) _____

V. Эффективность терапии

(При тяжелой форме указываются часы, при легкой — сутки заболевания)

1. Выход больного из состояния алгида через _____часов от начала лечения, на _____день болезни.
2. Рвота исчезла через _____ часов от начала лечения.
3. Стул: с примесью кала появился через _____часов от начала лечения. Нормализовался через _____часов от начала лечения. Запоры в период реконвалесценции (да, нет).
4. Цианоз исчез через _____часов от начала лечения.
5. Появление мочеотделения через _____часов от начала лечения.
6. Тургор кожи нормализовался через _____ часов от начала лечения.
7. Урчание в животе исчезло на _____день болезни; 1-й, 2-й 3-й, 4-й, 5-й день лечения.
8. Нормализация пульса через _____часов от начала лечения.
9. Нормализация артериального давления через _____часов от начала лечения.
10. Выделение возбудителя прекратилось:

а) до начала лечения антибиотиками на _____день болезни.

б) на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й день лечения антибиотиками

в) на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й день лечения после окончания применения антибиотиков.

г) после повторного курса лечения (по дням лечения)_____

VI. Реакция на введение растворов

Озноб, повышение температуры тела до _____, боль за грудиной, отечность, отек легких.

VII. Примечание

_____

_____

_____

_____

_____

_____

Подписи врачей, заполнивших карту: _____

разборчиво

Главный врач больницы _____

Руководитель клиники _____

Главный инфекционист области, города, района _____

(Необходимые сведения подчеркиваются или вносятся в соответствующие пункты).

Карта лечения больного холерой

Фио ..... Возраст ..... Пол .....

	Заболел	Поступил	Выписался
Дата	.....	.....	.....
Час	.....	.....	.....

Часы и дни лечения			1												Всего	2												Всего	3											
			2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24		2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24		2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Д	П	Т																																						
35	110	40°																																						
30	100	39°																																						
25	90	38°																																						
20	80	37°																																						
18	70	36°																																						
16	60	35°																																						
Антибиотики																																							
Солевые растворы	Внутривенно																																						
	Per os																																						
Вес																																							
Артериальное давление																																							
Объем стула																																							
Объем мочи																																							
Объем рвотных масс																																							
Характер стула																																							

ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Весь комплекс профилактических мероприятий по предупреждению заноса и распространения холеры на территории СССР проводится на основании «Правил по санитарной охране территории СССР от завоза и распространения карантинных и других инфекционных заболеваний», утвержденных Приказом министра здравоохранения СССР от 5 августа 1967 г., № 617.

1. Составляется и ежегодно корректируется каждым министерством здравоохранения союзных и автономных республик, краевым, областным и городским отделами здравоохранения совместно с ведомственными органами здравоохранения комплексный противоэпидемический план по республике, краю, области, городу и району. План утверждается Советами Министров союзных и автономных республик, краевыми, областными, городскими и районными исполкомами Советов депутатов трудящихся.

2. Особое внимание при разработке профилактических мероприятий уделяется:

а) предусмотрению соответствующих помещений и составлению детальных схем развертывания в них стационаров для больных холерой, провизорных стационаров, изоляторов, обсерваторов и бактериологических лабораторий;

б) созданию материально-технической базы для перечисленных учреждений;

в) специальной подготовке медицинских работников по эпидемиологии, лабораторной диагностике, клинике, лечению, патологической анатомии и мерам борьбы с холерой (дифференцированно для различных категорий обучаемых);

г) правильной расстановке имеющихся в области (республике, крае) сил для обеспечения лечебно-профилактических и противоэпидемических мероприятий в случае возникновения эпидемических осложнений по холере.

3. В случае отсутствия непосредственно в городах достаточного количества помещений для развертывания лечебно-профилактических учреждений допускается их развертывание за пределами городов (например, в санаториях, домах отдыха, пионерских лагерях, турбазах и т. п.).

САНИТАРНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

4. Осуществляются провизорная госпитализация и бактериологическое обследование на холеру больных острыми кишечными заболеваниями в объеме, устанавливаемом Министерством здравоохранения СССР.

5. Проводится ежемесячный эпидемиологический анализ заболеваемости кишечными инфекциями с расшифровкой их этиологии.

6. Подлежат патологоанатомическому вскрытию и бактериологическому исследованию на холеру умершие от острых кишечных заболеваний, отравлений и в случае скоропостижной смерти от неизвестных причин.

7. Исследуется систематически с учетом конкретных санитарно-гигиенических условий и эпидемических показаний вода открытых водоемов, источников централизованного водоснабжения и хозяйственно-бытовых сточных вод на наличие холерных вибрионов.

8. Проводится и контролируется комплекс санитарно-гигиенических мероприятий:

а) охрана источников водоснабжения;

б) удаление и обезвреживание нечистот и отбросов;

в) соблюдение установленных санитарных правил и норм на предприятиях общественного питания, торговли и коммунальных объектов;

г) запрещается пользование открытыми водоемами в местах сброса не обеззараженных хозяйственно-бытовых сточных вод;

д) борьба с мухами;

9. Проводится широкая санитарно-просветительная работа.

САНИТАРНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ УГРОЗЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ХОЛЕРЫ

ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Район (область, край) считается угрожаемым по холере в том случае, если на соседней административной территории, включая сопредельные страны, или на территории не сопредельного иностранного государства, с которым имеются интенсивные прямые транспортные связи, заболевания холерой приняли широкое эпидемическое распространение.

1. Комплекс профилактических мероприятий по предупреждению холеры в угрожаемых районах проводится по заранее разработанным комплексным противоэпидемическим планам, которые корректируются в соответствии с конкретно сложившейся эпидемической обстановкой.

2. Общее руководство мероприятиями по профилактике холеры осуществляют Чрезвычайные Противоэпидемические Комиссии (ЧПК) республики, области (края), города, района.

3. При ЧПК создается постоянно действующий оперативный орган — противоэпидемический штаб во главе с заведующим областным (краевым), городским отделом здравоохранения или главным врачом района.

4. В обязанности противоэпидемического штаба входят:

— корректировка плана мероприятий по профилактике холеры;

— организация и непосредственное руководство работой по профилактике холеры;

— регулярное заслушивание на своих заседаниях руководителей отдельных учреждений, предприятий и организаций, в том числе территориальных медицинских учреждений и ведомственных служб здравоохранения о

ходе выполнения мероприятий по профилактике холеры;

— осуществление взаимодействия местных органов здравоохранения с ведомственными медицинскими службами, а также с органами здравоохранения соседних административных территорий и обмен информацией об эпидемической обстановке;

— ежедневный сбор информации и анализ проводимых санитарно-профилактических и противоэпидемических мероприятий;

— составление информации для ЧПК о ходе выполнения мероприятий по профилактике холеры и представление предложений о введении дополнительных мероприятий при осложнении эпидемической обстановки;

— подготовка к развертыванию стационаров для больных холерой, провизорных стационаров, изоляторов, обсерваторов, бактериологических лабораторий (согласно комплексному плану), оснащение имуществом этих учреждений, укомплектование кадрами, методическое руководство их деятельностью;

— организация подготовки медицинских работников (семинары, практические занятия) по вопросам профилактики, клиники, диагностики, лечения и борьбы с холерой.

САНИТАРНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

5. Активно выявляются больные острыми желудочно-кишечными заболеваниями медицинскими работниками на всех этапах оказания помощи, а также санитарным активом на производствах, в детских коллективах, в учебных заведениях.

6. Все больные с острыми желудочно-кишечными расстройствами подвергаются госпитализации в провизорные отделения с обязательным однократным бактериологическим обследованием на холеру.

7. Лица, прибывающие из мест, неблагополучных по холере, без удостоверений о прохождении обсервации в очаге или с неправильно оформленным удостоверением подвергаются 5-дневной обсервации с однократным бактериологическим обследованием на холеру.

8. Запрещается продажа антибиотиков и сульфаниламидных препаратов без рецепта врача.

9. Вода открытых водоемов и источников централизованного водоснабжения, а также хозяйственно-бытовые сточные воды подвергаются исследованию на наличие холерных вибрионов 1 раз в 5 дней. Проводится анализ выделенной вибриофлоры.

10. При выделении из воды открытых водоемов культур холерного вибриона, а также при выделении у больных людей НАГ вибрионов I группы Хейберга проводятся мероприятия согласно действующим приказам Министерства здравоохранения СССР.

11. Органами и учреждениями здравоохранения осуществляется ежедекадный анализ заболеваемости острыми кишечными инфекциями с их этиологической расшифровкой.

12. Усиливается контроль за санитарной охраной водоисточников и режимом хлорирования воды; количество остаточного хлора сети водопроводов доводится до 0,2—0,3 мг на 1 л.

13. В населенных пунктах, не имеющих централизованного водоснабжения, запрещается использование воды для питья и хозяйственно-бытовых целей из открытых водоемов (рек, каналов, озер) без предварительного обеззараживания.

По возможности организуется доставка доброкачественной водопроводной воды.

Полевые станы, учебные заведения, предприятия и учреждения обеспечиваются только хлорированной или свежекипяченой водой.

14. Усиливается контроль за санитарным состоянием населенных пунктов, предприятиями общественного питания и пищевой промышленности. Особое внимание уделяется поддержанию должного санитарного состояния в местах массового скопления людей (рынки, транспорт, вокзалы, кемпинги, гостиницы и др.) и в общественных уборных.

15. Проводится борьба с мухами, особенно путем обеззараживания и вывоза мусора, пищевых отходов из мест возможного их выплода.

16. На сельскохозяйственные работы городское население направляется только с разрешения санитарно-эпидемиологических станций при обеспечении (колхозами, совхозами) надлежащих санитарно-гигиенических усло-

вий размещения, питания и водоснабжения прибывающих.

17. Повсеместно, особенно на производствах, в учебных заведениях, в местах массового скопления людей, усиливаются все формы санитарно-просветительной работы по профилактике холеры и других острых желудочно-кишечных заболеваний. Санитарно-просветительная работа должна нацеливать на соблюдение чистоты территорий жилых производственных помещений, личной гигиены, на употребление обеззараженных продуктов питания и воды, на своевременное обращение за медицинской помощью при проявлении первых признаков желудочно-кишечных расстройств и на вред самолечения.

САНИТАРНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ ПЕРЕДВИЖЕНИЯ ЛЮДЕЙ И ПЕРЕВОЗКИ ГРУЗОВ ИЗ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО ХОЛЕРЕ РАЙОНОВ

18. На всех шоссейных дорогах, идущих из неблагополучных по холере районов, организуются временные санитарно-контрольные пункты (СКП) силами медицинских работников и контрольно-пропускные пункты (КПП) силами милиции.

СКП организуются также на железнодорожных речных, морских и автовокзалах, а также в аэропортах.

Количество временных СКП и КПП определяется решением областной (краевой, республиканской для республик без областного деления) ЧПК в зависимости от интенсивности транспортных связей через вокзалы, аэропорты и шоссейные дороги с неблагополучными по холере районами.

19. На СКП возлагаются:

а) обеспечение транспортных средств дезинфектантами;

б) выявление больных с желудочно-кишечными расстройствами;

в) выявление лиц, следующих из неблагополучных по холере местностей и проверка наличия у них обсервационных удостоверений;

г) проверка документов о разрешении вывоза продовольственных товаров из неблагополучных по холере районов[1].

20. Выявленные на СКП больные с расстройством желудочно-кишечного тракта направляются в ближайший провизорный стационар. На лиц, находившихся в контакте с такими больными, следующими из неблагополучных по холере районов, составляются списки, которые передаются в территориальную (по месту жительства контактных) санитарно-эпидемиологическую станцию для осуществления за ними медицинского наблюдения и обследования на вибрионосительство.

21. Лица, следующие из неблагополучных по холере районов без обсервационных удостоверений или с неправильно оформленными удостоверениями, задерживаются и направляются в обсерватор.

22. Пассажирские поезда и суда, совершающие рейсы из неблагополучных по холере местностей, сопровождаются бригадами, состоящими из медицинского работника и представителя милиции.

23. В обязанности бригад, сопровождающих поезда и суда, входят:

а) опрос всех пассажиров в пути следования с целью выявления больных с желудочно-кишечными расстройствами и лиц, находившихся в контакте с ними, а также проверка наличия обсервационных удостоверений у лиц, следующих из неблагополучных по холере районов;

б) контроль за соблюдением санитарного состояния на транспортных средствах и за проведением профилактической дезинфекции в пути следования;

в) проведение санитарно-просветительной работы среди пассажиров;

г) проведение инструктажей поездных бригад и экипажей судов.

24. Выявленный в пути следования больной с желудочно-кишечным расстройством подлежит немедленной временной изоляции в одном из высвобожденных купе (каюте), у него забирается материал (испражнения,

[1] Вывоз и реализация продуктов питания из карантинной зоны осуществляются по разрешению органов санитарно-эпидемиологической службы, исходя из эпидемической обстановки на каждом пищевом предприятии, заготовительной базе и т. п. (наличие больных холерой, вибрионосителей) и санитарно-гигиенических условий, с контрольным выборочным исследованием овощей и фруктов, вывозимых из неблагополучных по холере районов.

рвотные массы) для бактериологического исследования, проводится текущая дезинфекция в местах общего пользования, по месту выявления и изоляции больного.

25. На всех лиц, находившихся в контакте с выявленными больными, составляются списки (раздельно по месту следования).

26. На лиц, следующих из неблагополучных по холере районов, без удостоверений о прохождении обсервации, или при наличии неправильно оформленных обсервационных удостоверений составляются списки (раздельно по месту следования пассажиров).

27. Выявленные в пути следования больные, материал, взятый от них для бактериологического исследования, и списки, составленные в соответствии с пп. 36—38, передаются на ближайший СКП.

28. В обязанности проводников пассажирских поездов и судов, а также стюардесс самолетов, следующих из неблагополучных по холере районов, входит:

а) опрос пассажиров с целью выявления больных с желудочно-кишечными расстройствами;

б) сообщение о выявленных больных через бригадира поезда (капитана судна, командира самолета) на ближайший по месту следования СКП;

в) проведение профилактической и текущей (при выявлении больного) дезинфекции на транспортных средствах;

г) принятие мер по временной изоляции выявленного больного от других пассажиров;

д) участие в проведении санитарно-просветительной работы среди пассажиров.

29. При выявлении в пути следования больного с желудочно-кишечным расстройством до его госпитализации и проведения заключительной дезинфекции категорически запрещается посадка в данный вагон (судно, самолет) других пассажиров и прохождение пассажиров из других вагонов поезда через вагон, где выявлен больной.

30. По указанию областной (краевой, республиканской) ЧПК в помещения вокзалов и на перроны могут допускаться только лица, имеющие проездные билеты.

31. Для работников транспортных средств, следующих из неблагополучных по холере районов, отводятся изолированные помещения для временного отдыха и и приема пищи.

32. Грузчикам и лицам, занятым на приемке грузов, прибывающих из неблагополучных по холере районов, запрещается общение с экипажами (бригадами) транспортных средств, на которых доставлены грузы, посещать служебные, жилые и бытовые помещения, принимать пищу и пить воду во время пребывания на этих транспортных средствах.

33. Административно-санитарные и медико-санитарные мероприятия по предупреждению заноса холеры из зарубежных стран проводятся в соответствии с действующими Международными санитарными правилами и Правилами по санитарной охране территории СССР от завоза и распространения карантинных и других инфекционных заболеваний, утвержденными приказом Министерства здравоохранения СССР № 617 от 5 августа 1967 г.

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ЛОКАЛИЗАЦИИ И ЛИКВИДАЦИИ ВСПЫШКИ ХОЛЕРЫ

Очагом холеры следует считать отдельные домовладения, жилой участок (группа домов), район города, населенный пункт, город или группу населенных пунктов, объединенных производственными, транспортными связями, близостью расположения, где обнаружены больные холерой или вибриононосители.

При выявлении заболеваний (вибриононосительства) в ряде населенных пунктов действующим очагом холеры может являться вся административная территория района, области, края, республики.

Мероприятия по ликвидации холеры в очаге проводятся в соответствии с планом противоэпидемических мероприятий, утвержденных Исполкомами местных Советов депутатов трудящихся.

Общее руководство и контроль за проведением противоэпидемических мероприятий осуществляются Чрезвычайной противоэпидемической комиссией (ЧПК) района, города, области, края, республики.

Решением ЧПК назначаются начальник очага и противоэпидемический штаб, которые непосредственно организуют и проводят мероприятия по ликвидации очагов (см. «Положение об организации и структуре противоэпидемической службы в очаге заболеваний чумой, холерой и натуральной оспой»).

Противоэпидемическими мероприятиями, направленными на ликвидацию и локализацию очага холеры, являются:

а) ограничительные меры и карантин;

б) выявление и госпитализация больных холерой;

в) выявление и госпитализация больных острыми желудочно-кишечными заболеваниями;

г) выявление и госпитализация вибриононосителей;

д) выявление и захоронение трупов лиц, погибших от холеры;

е) выявление и изоляция лиц, соприкасавшихся с больными, трупами, вибриононосителями и зараженными объектами внешней среды;

ж) проведение эпидемиологического обследования при заболеваниях холерой;

з) бактериологическое обследование больных, вибриононосителей, контактных и других лиц, а также объектов внешней среды;

и) лечение больных холерой и вибриононосителей;

к) профилактическое лечение;

л) текущая и заключительная дезинфекция;

м) санитарная очистка населенных пунктов, доброкачественное водоснабжение, режим на предприятиях пищевой промышленности, объектах общественного питания и торговли;

н) санитарно-просветительная работа среди населения.

Очаг считается ликвидированным через 10 дней после выявления и госпитализации последнего больного или вибриононосителя и проведения заключительной дезинфекции.

После ликвидации очага (населенный пункт, административная территория) продолжают работать противохолерные стационары, в которых находятся больные и вибриононосители.

ОГРАНИЧИТЕЛЬНЫЕ МЕРЫ И КАРАНТИН

1. Карантин — комплекс административно-ограничительных, противоэпидемических и санитарно-гигиенических мероприятий, направленных на предупреждение выноса холеры за пределы очага.

2. Карантин на очаг холеры (отдельные домовладения, группа домов, микрорайоны и др.) накладывается при выявлении больного или вибриононосителя.

На весь населенный пункт, город или административную территорию карантин накладывается при угрозе распространения холеры за пределы указанных территорий.

3. Карантинные мероприятия включают:

а) оцепление очага;

б) организацию санитарно-карантинных пунктов;

в) организацию перевалочных баз или прямого транзита;

г) обсервацию населения, выезжающего из очага;

д) ограничение в передвижении транспорта;

е) ограничения в торговле некоторыми пищевыми продуктами — вывоза пищевых продуктов, готовой продукции и других материалов.

4. В зависимости от конкретной эпидемической обстановки, санитарно-гигиенических условий, географического расположения, миграции населения, транспортных связей в очаге может вводиться не весь комплекс карантинных мероприятий, а лишь некоторые из них.

5. Карантин накладывается на отдельные домовладения, микрорайоны, сельские населенные пункты и снимается решением ЧПК города (области, края, автономной республики и республики без областного деления) по представлению соответствующего противоэпидемического штаба очага.

6. На город и административные территории карантин накладывается и снимается постановлением Совета Министров республики по представлению соответствующих ЧПК, согласованному с ВЧПК или с Министерством здравоохранения СССР.

7. При оцеплении очага организуются внутренние и наружные посты охраны.

Внутреннюю охрану обеспечивают органы милиции и добровольные народные дружины, которые выставляют посты на основных транспортных магистралях и посты охраны медицинских учреждений (госпитали, изоляторы, обсерваторы, лаборатории, морги).

Наружное оцепление по границам карантинной зоны осуществляют войска МВД и общевойсковые части. Личный состав подразделений внутренней охраны находится на казарменном положении в карантинной зоне под медицинским наблюдением и подвергается бактериологическому обследованию один раз в 10 дней. Личный состав войсковых частей, осуществляющих внешнее оцепление, располагается вне зоны карантина.

Лица, нарушающие карантинный режим, несут ответственность в соответствии с действующим законодательством.

8. На основных магистралях, связывающих очаг с соседними районами, выставляются санитарно-контрольные пункты (железнодорожные вокзалы, морские и речные порты, авиапорты и автомагистрали). На автомобильных дорогах, кроме того, службой наружного

оцепления выставляются контрольно-пропускные пункты (КПП).

СКП организуются службой внутренней охраны и медицинскими работниками. В функцию их входит контроль за входом в карантинную зону отдельных лиц, транспорта, ввоз материалов, продуктов и т. д. и выход, вывоз из зоны карантина на основании специальных пропусков, подписанных председателем ЧПК, его заместителем или начальником очага или обсервационных удостоверений. Решением ЧПК въезд в зону карантина разрешается лицам, постоянно проживающим на территории зоны карантина. Въезд командированных разрешается председателем ЧПК или его заместителем.

На санитарно-контрольном пункте регистрируются все прошедшие через него лица и транспорт с указанием документов, послуживших основанием для их пропуска через СКП.

9. На основных магистралях при необходимости организуются перевалочные базы, имеющие разгрузочно-погрузочную площадку, дезинфекционный пункт. Целью работы этих баз является обеспечение приема и передачи грузов, прибывающих в зону карантина или вывозимых из нее, а также дезинфекция продовольственных товаров и продукции, выходящих из зоны карантина. При этом предусматривается полное разобщение лиц, работающих в зоне карантина и доставляющих грузы.

Не исключаются ввоз и вывоз грузов из зоны карантина путем прямого транзита при условии изоляции транспортных бригад и сопровождающих груз лиц.

10. Обсерваторы развертываются по решению городской (областной, краевой, республиканской) ЧПК.

Выезд за пределы зоны карантина разрешается только после прохождения обсервации.

11. Определение очередности направления на обсервацию, обеспечение вывоза обсервированных за зону карантина, организация материального обеспечения обсерваторов и питания обсервируемых осуществляется местными Исполкомами депутатов трудящихся.

12. Обсервацией предусматривается пятидневная изоляция во временных специализированных учреждениях (обсерваторах) лиц, выезжающих за пределы карантинной зоны, медицинское наблюдение за ними, однократное бактериологическое обследование и профилактическое лечение антибиотиками.

13. Обсерваторы развертываются в приспособленных помещениях (административные здания, школы, гостиницы, пионерские и спортивные лагеря и пассажирские суда). Запрещается обсервация в железнодорожных вагонах.

14. В помещении обсерватора должны быть предусмотрены: приемная, комнаты для размещения обсервируемых, комнаты для медицинского и обслуживающего персонала, комнаты для взятия материала, хранения личных вещей обсервируемых, буфетная и другие подсобные помещения.

15. Перед помещением в обсерватор обсервируемые проходят медицинский осмотр с целью выявления лиц с желудочно-кишечными расстройствами. В обсерватор допускаются только заведомо здоровые люди.

16. Заполнение обсерватора производится одновременно. Обсервируемые размещаются по возможности небольшими группами с принятием мер к исключению общения между ними.

17. С целью своевременного выявления среди обсервируемых возможных случаев заболевания холерой за ними ведется ежедневное медицинское наблюдение, проводится опрос, а в необходимых случаях — врачебный осмотр.

Обсервируемые, как правило, подвергаются однократному бактериологическому обследованию на вибрионосительство групповым методом. Материал для исследования берется на первые сутки пребывания в обсерваторе.

В одну пробу для посева можно объединить материал только от лиц, обсервируемых в одной комнате, но не более чем 10 человек.

18. При выявлении больного холерой среди обсервируемых или выделении холерного вибриона из группового посева больной холерой или лица, материал от которых вошел в групповую пробу, переводятся в госпиталь, а лица, находившиеся в контакте с ними, в изолятор.

При недостаточной разобщенности обсервируемых срок обсервации возобновляется с момента перевода больного и проведения заключительной дезинфекции.

19. При выявлении в обсерваторе больного с острым желудочно-кишечным заболеванием он переводится в провизорный госпиталь. Контактные с заболевшим изо-

лируются на месте до получения результата первого отрицательного бактериологического исследования материала от заболевшего.

В случая получения отрицательного результата срок обсервации не изменяется. При получении положительного ответа все мероприятия проводятся в соответствии с п. 18.

20. Лица, прошедшие обсервацию, получают справки установленного образца и вывозятся за границу карантина в условиях, исключающих контакт с местным населением.

21. После освобождения обсерватора проводится заключительная дезинфекция, затем возможно его повторное использование.

22. Медицинский и обслуживающий персонал обсерватора находится на казарменном положении. Для работы в обсерваторе разрешается привлечение медицинских работников и другого обслуживающего персонала из числа обсервируемых.

С целью исключения контакта обсервируемых с населением очага обсерватор круглосуточно охраняется.

23. Через зону карантина разрешается безостановочный транзитный проезд железнодорожного и речного транспорта. Остановка транспорта с высадкой и посадкой пассажиров разрешается только на границах карантинной зоны под контролем СКП и КПП. Проезд автомобильного транспорта осуществляется в объезд зоны карантина.

24. В зоне карантина запрещается купание в реках, озерах и морях, в местах сброса необеззараженных хозяйственно-бытовых сточных вод и употребление для питья и бытовых целей необеззараженной воды.

ВЫЯВЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ХОЛЕРОЙ И ОСТРЫМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

25. Больные холерой и острыми желудочно-кишечными заболеваниями выявляются активно на всех этапах оказания медицинской помощи, а также путем проведения ежедневных подворных обходов.

26. Подворный обход проводится участковыми и специально прикрепленными медицинскими работниками

при помощи и активном участии общественных санитарных уполномоченных, санпостов и дружин Красного Полумесяца, квартальных и уличных комитетов, постоянных комиссий здравоохранения и всего санитарного актива (учителя, школьники старших классов, студенты и т. д.).

За медицинским работником (врач, фельдшер, медсестра) закрепляется участок из нескольких кварталов или небольших населенных пунктов, в каждом из которых имеется общественный санитарный уполномоченный.

Количество населения на участке в городах не должно превышать 250 человек, а на селе оно будет зависеть от разбросанности населенных пунктов.

Подворные обходы проводятся медицинским работником ежедневно, а санитарным уполномоченным — два раза в день; один раз вместе с медработником (например, вечером) и один раз самостоятельно (например, утром до работы).

27. При проведении подворного обхода необходимо проверить наличие жильцов по списку (1 экземпляр у санитарного уполномоченного, 1 — у участкового медицинского работника), выяснить, не прибыл ли в дом кто-либо из неблагополучных районов, не ездили ли жители дома в неблагополучные районы, опросить их о состоянии здоровья, осмотреть уборную и усадьбу (таким путем иногда удается найти следы заболевания), провести санитарно-просветительную и санитарно-профилактическую работу.

О каждом случае заболевания с явлениями поноса и рвоты, выявленном на подворном обходе или иным путем, санитарный уполномоченный немедленно сообщает участковому медицинскому работнику и в скорую помощь. Участковый медработник, выявив больного или получив о нем сообщение, обязан принять срочные меры для его госпитализации.

Участковый медицинский работник при помощи местных специалистов организует занятия по обучению общественных санитарных уполномоченных и всего своего санитарного актива.

На основе точного знания качества их работы он представляет лучших к поощрению.

О своей работе и о работе санитарных уполномоченных своего участка прикрепленный медицинский работник представляет краткие ежедневные отчеты.

28. Вибриононосители могут быть выявлены путем проведения бактериологического обследования:

а) лиц, находившихся в контакте с больными холерой;

б) отдельных групп населения по показаниям в результате проведенного эпидемиологического обследования;

в) декретированных групп населения;

г) организованных детских коллективов, а также лиц, находящихся в некоторых закрытых учреждениях (психиатрические больницы, исправительно-трудовые колонии и др.).

Следует обращать внимание на выявление (с участием органов милиции) и бактериологическое обследование лиц без определенного рода занятий и не имеющих постоянного места жительства.

29. Сбор материала на вибриононосительство от населения проводится группами забора, каждая из которых состоит из среднего медицинского работника и санитарной дружины. В данной работе принимают также участие бригады, проводящие подворные обходы.

Группы заборщиков закрепляются за бактериологическими лабораториями. На крупных промышленных предприятиях и при поликлиниках создаются стационарные заборные пункты.

30. При проведении массового бактериологического обследования допускается групповое исследование материала (по 5—10 проб на один анализ), взятого в одной семье (квартире, производственной бригаде, общежитии и т. д.).

31. Количество людей, материал от которых берется в одну пробу, зависит от пропускной способности бактериологических лабораторий в очаге.

В отдельных случаях — в особо неблагополучных по холере жилых массивах, коллективах — бактериологическое обследование проводится индивидуально.

ВЫЯВЛЕНИЕ ЛИЦ, НАХОДИВШИХСЯ В КОНТАКТЕ С БОЛЬНЫМИ ХОЛЕРОЙ И ВИБРИОНОНОСИТЕЛЯМИ

32. При проведении эпидемиологического обследования в очагах выявляются лица, находившиеся в контакте с больными и вибриононосителями.

33. Контактные выявляются по месту работы больного (вибриононосителя), по месту жительства и т. д., для чего необходимо тщательно выяснить место пребывания больного (вибриононосителя) в течение последних 5 дней.

34. На выявленных контактных составляются списки с указанием адреса, места работы, учебы, времени, степени и характера контакта, которые передаются в санитарно-эпидемиологическую станцию.

35. Лица, находившиеся в непосредственном контакте с больным (вибриононосителем), по заключению эпидемиолога направляются в изолятор; за другими контактными устанавливается медицинское наблюдение по месту жительства в течение 5 суток с троекратным бактериологическим обследованием.

Во время медицинского наблюдения указанные лица не могут быть направлены в обсерватор и им не разрешается выезд за пределы очага.

Контактные из числа декретированных групп населения на период медицинского наблюдения отстраняются от работы с выдачей больничного листа.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ГОСПИТАЛИЗАЦИЯ БОЛЬНЫХ ХОЛЕРОЙ, ВИБРИОНОНОСИТЕЛЕЙ, КОНТАКТНЫХ С НИМИ И БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

36. Транспортировка в госпиталь больных холерой, вибриононосителей и больных острыми желудочно-кишечными расстройствами осуществляется на санитарном автотранспорте бригадой эвакуаторов в составе врача (фельдшера) и двух санитаров.

37. Бригады эвакуаторов создаются при станциях скорой медицинской помощи и дезстанциях.

38. Транспорт для больных оснащается ведром для сбора выделений больного, емкостью с рабочим раствором дезинфектанта, гидропультом, ветошью, подкладной клеенкой.

39. В случае необходимости в пути следования проводится текущая дезинфекция, а после доставки больного в госпиталь проводится заключительная дезинфекция транспорта.

После окончания смены персонал бригады эвакуаторов проходит полную санитарную обработку.

40. Контактные с больными холерой и вибрионосителями транспортируются в изоляторы на специально выделенном транспорте санитарно-эпидемиологической станции в сопровождении среднего медицинского работника.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ В ОЧАГЕ ХОЛЕРЫ

41. Эпидемиологическое обследование в очаге холеры организуется и непосредственно осуществляется группами эпидемиологического обследования противоэпидемической службы противоэпидемического штаба.

42. Каждая эпидемиологическая группа состоит из врача-эпидемиолога, помощника эпидемиолога и обеспечивается автотранспортом.

43. При проведении эпидемиологического обследования врач-эпидемиолог:

— собирает эпидемиологический анамнез и отбирает пробы (рвотные массы, кал, продукты, воду и т. п.) на бактериологическое исследование;

— составляет список лиц, соприкасавшихся с больным или вибриононосителем;

— выясняет места, которые посещал больной перед заболеванием, вероятный источник заражения и пути распространения инфекции;

— дает указания участковому врачу о необходимости тщательного медицинского наблюдения за очагом;

— намечает объем и очередность проведения дезинфекционных и других профилактических мероприятий по предупреждению распространения инфекции;

— контролирует своевременность госпитализации больного и изоляции контактных лиц, а также проведение заключительной дезинфекции;

— заполняет карту эпидемиологического обследования (учетная форма № 171);

— на лиц, контактных с больным или вибриононосителем, выбывших из очага до начала эпидобследования, посылает экстренное извещение в санитарно-эпидемиологическую станцию города (района и др.), куда выехали эти лица с указанием необходимости их изоляции и бактериологического обследования.

44. На эпидемиологическую группу возлагается:

— инструктаж персонала лечебно-профилактических и противоэпидемических учреждений по вопросам противоэпидемического режима в очаге, действиям при вы-

явлении больного, подозрительного на холеру, и правилам забора материала для бактериологического исследования на холеру;

— контроль за выполнением требований режима работы в холерном и провизорном госпиталях, в изоляторах и обсерваторах;

— контроль за соблюдением карантинных и ограничительных мероприятий.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВСПЫШКИ ХОЛЕРЫ

45. При эпидемиологическом анализе вспышки холеры должны быть выяснены следующие наиболее важные данные:

а) характеристика населенного пункта: число жителей — стабильное и подвижное (сезонное, переселенцы); жилищные условия; наиболее крупные предприятия; особенно бытовых условий жителей; водоснабжение и канализация города или населенного пункта; способы удаления нечистот и очистки территорий; обеззараживание нечистот и мусора на свалках; транспортные связи;

б) анализ заболеваемости по времени (дням, пятидневкам, месяцам), профессиям, возрасту, полу и местожительству; территориальное распределение заболеваемости холерой (отдельно гастроэнтеритами, энтеритами и другими желудочно-кишечными инфекциями) в городах с нанесением на схему по улицам, домам, квартирам, в сельских местностях по поселкам, домам и семьям;

в) характер кривой вспышки (*внезапная вспышка* с быстрым подъемом заболеваемости указывает на общий источник инфекции — вода, пищевые продукты; длительное и постепенное нарастание заболеваемости — на контактно-бытовой характер вспышки);

г) характер очаговости: одновременное заболевание лиц, пользующихся общим источником питьевой воды (колодцы, артезианские скважины общего пользования, открытые водоемы, водопроводы магистральные местные, водоразборные колонки и др.), возможность его заражения выделениями больного или спуском загрязненных вод; группирование заболеваний вокруг учреждений, предприятий, в первую очередь пищевой промышленности (выясняются условия питания, водоснабжения), рынков. При подозрении, что источником вспышки является столовая, необходимо выяснить, проводилось ли

лабораторное обследование персонала столовой, кухни на вибрионосительство и какие получены результаты. Если вспышка связана с покупкой продуктов на рынке, то необходимо установить, из каких сел (хозяйств) поступают продукты на рынок и какова эпидемиологическая обстановка по холере в этих селах (хозяйствах); был ли непосредственный контакт с больным и предметами, загрязненными больными. Следует при этом учитывать возможное значение дворовых уборных (дворовые очаги);

д) причины возникновения вспышки; первичный занос больным, вибрионосителем с последующим заражением продуктов питания, воды, и т. д., невыясненные и негоспитализированные случаи заболевания, протекавшие в виде гастроэнтеритов, энтеритов, пищевых отравлений, поносов, в детских учреждениях, домах престарелых, больницах хроников; случаи смерти с невыясненным или неуточненным диагнозом;

е) анализ мероприятий в отношении источников инфекции и путей ее распространения;

— своевременное выявление больных (подворные обходы, патронаж переболевших);

— госпитализация, сроки госпитализации и условия транспортировки больных, своевременная изоляция контактных;

— лабораторное обследование на вибрионосительство, исследование различных объектов, которые могут служить факторами передачи инфекции;

— дезинфекция загрязненных объектов;

— борьба с мухами;

— карантинные и ограничительные мероприятия в пределах неблагополучных населенных пунктов;

ж) заключение эпидемиолога о причинах и условиях первичного заноса холеры в данный населенный пункт, путях распространения инфекции внутри очага, условиях, способствовавших развитию вспышки, эффективности проведенных мероприятий в очаге и рекомендованных дополнительных мер, направленных на полную ликвидацию вспышки холеры.

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В ОЧАГЕ ХОЛЕРЫ

46. Осуществляется постоянный контроль за водоснабжением. Ежедневно производится исследование на

наличие холерных вибрионов и санитарно-бактериологическое исследование воды из открытых водоемов местного водопользования и из источников питьевого водоснабжения, включая разводящую сеть водопроводов.

47. Производится выборочное исследование хозяйственно-бытовых сточных вод.

48. Точки забора воды и содержимого канализационных коллекторов определяются профилактической службой очага.

49. Группой пищевой и коммунальной санитарии профилактической службы очага обеспечивается постоянный контроль:

— за полнотой и своевременностью санитарной очистки населенных пунктов;

— за содержанием и правильной эксплуатацией свалок, борьбой с мухами;

— за санитарным состоянием рынков, предприятий торговли продовольственными товарами, общественного питания и пищевой промышленности;

— за соблюдением санитарного состояния и выполнением профилактической дезинфекции на предприятиях коммунального хозяйства (гостиницы, бани, парикмахерские и т. д.), в местах массового скопления людей (кинотеатры, театры и т. д.) и на транспорте.

50. Группой санитарного просвещения профилактической службы очага организуется санитарно-просветительная работа среди всех категорий населения по профилактике холеры и других желудочно-кишечных заболеваний.

С этой целью используются все формы и методы санитарного просвещения: лекции и беседы, выступления по радио и телевидению, плакаты, памятки, листовки и т. д.

Для проведения санитарно-просветительной работы привлекаются все медицинские работники, участвующие в ликвидации очага, и в первую очередь бригады, проводящие подворные обходы.

МЕРОПРИЯТИЯ В НАСЕЛЕННЫХ ПУНКТАХ ПОСЛЕ ЛИКВИДАЦИИ ВСПЫШКИ ХОЛЕРЫ

МЕРОПРИЯТИЯ В ОТНОШЕНИИ ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ ЗАБОЛЕВАНИЕ ХОЛЕРОЙ И ВИБРИОНОНОСИТЕЛЬСТВО

Лица, перенесшие холеру и вибриононосительство, подлежат диспансерному наблюдению в течение 1 года.

Выписка из стационара перенесших холеру и вибриононосительство производится после клинического выздоровления и трех отрицательных бактериологических исследований. Бактериологическое исследование перед выпиской из стационара производится через 24—36 часов после окончания лечения антибиотиками в течение 3 дней подряд с предварительной однократной дачей слабительного (сернокислая магнезия 30 г для взрослых, детям — в соответствии с возрастом).

Больные выписываются из стационара с открытым больничным листом. Лицам, перенесшим легкую форму заболевания, больничный лист при выписке из больницы выдается сроком до 5 дней, среднетяжелую форму — до 7 дней, тяжелую форму — до 10 дней. При показаниях больничный лист продлевается поликлиникой.

О выписке перенесшего холеру и вибриононосительство главный врач больницы обязан направить телеграфное или телефонное сообщение заведующему областным (городским) отделом здравоохранения по месту жительства выписываемого. На руки выписанному из больницы выдается в закрытом конверте выписка из истории болезни со всеми необходимыми сведениями для немедленной передачи ее в органы здравоохранения по прибытии к месту жительства.

В выписке из истории болезни указывается: клинический (с указанием тяжести заболевания) и бактериологический диагноз перенесенного основного и сопутствующих заболеваний, данные о проведенном лечении, результаты всех исследований, выполненных перед выпиской больного, клиническая характеристика больного в момент выписки.

По получении извещения о выписке из стационара указанных выше лиц заведующий областным (городским) отделом здравоохранения ставит об этом в извест-

ность соответствующие санитарно-эпидемиологические станции и поликлинику и дает указание об организации активного посещения на дому и взятие его на диспансерное наблюдение.

Диспансерное наблюдение проводится кабинетом инфекционных заболеваний с привлечением участкового врача поликлиники. При отсутствии кабинета инфекционных заболеваний диспансерное наблюдение осуществляет участковый врач (терапевт, педиатр) под контролем заведующего терапевтическим (педиатрическим) отделением. В сельских местностях за лицами, перенесшими холеру, и санированными вибриононосителями диспансерное наблюдение осуществляет районная больница.

Врач, ведущий диспансерное наблюдение, на основании данных выписки из истории болезни и собственного обследования определяет план диспансерного наблюдения и необходимого лечения в соответствии с состоянием здоровья переболевшего. При показаниях проводятся консультации с другими специалистами поликлиники и дополнительные исследования.

Работники головных сооружений водопровода, молочной промышленности, молочных и сыроваренных заводов, ферм, сливных пунктов и т. п., работники по производству, переработке, хранению и заготовке, продаже продуктов питания, напитков, работники, непосредственно соприкасающиеся с пищевой продукцией, работники по очистке и мойке производственного оборудования, инвентаря и тары на пищевых предприятиях, подсобные рабочие тех же предприятий по перевозке сырья, полуфабрикатов и готовой продукции в незатаренном виде, все работники предприятий общественного питания, работники, обслуживающие лечебно-профилактические учреждения, детские учреждения, санатории, выписываются на работу после пятикратного ежедневного бактериологического исследования на вибриононосительство с предварительной однократной дачей солевого слабительного перед первым бактериологическим исследованием. Эти лица подлежат обязательному однократному зондированию с последующим бактериологическим исследованием желчи на холерный вибрион.

Бактериологическое исследование лиц указанных категорий перед выпиской их на работу начинается через 24—36 часов после прекращения лечения антибиотиками.

В процессе диспансерного наблюдения особое внимание уделяется полному восстановлению здоровья и бактериологическому обследованию переболевшего. В первый месяц бактериологическое исследование проводится 1 раз в 10 дней, в следующие 5 месяцев — 1 раз в месяц, а в последующие 6 месяцев — 1 раз в 3 месяца. Материал для бактериологического исследования берется после дачи слабительного (сернокислая магнезия 30 г для взрослого, для детей — в соответствии с возрастом). В первый месяц, когда бактериологическое исследование проводится через 10 дней, дается слабительное 1 раз перед первым исследованием.

Особенно тщательному наблюдению подлежат лица, перенесшие холеру, и санированные вибриононосители с острыми и хроническими воспалительными явлениями со стороны печени и желчевыводящих путей, у которых может сформироваться длительное носительство вибриона. С целью профилактики длительного вибриононосительства и лечения воспалительных явлений показано применение желчегонных препаратов (тюбаж с минеральной водой ессентуки № 17, зондирование, прием аллохола, холосаса и др.) в сочетании с антибиотиками и обязательным бактериологическим контролем на холерный вибрион. В этих случаях бактериологическое обследование проводится не реже 1 раза в неделю (посев желчи, посев кала). При обнаружении холерного вибриона больной должен быть повторно госпитализирован в инфекционную больницу для проведения соответствующей терапии. В случае выявления вибрионосительства у реконвалесцентов они повторно госпитализируются для лечения, после чего обследование их повторяется так же, как это указано выше.

Дети, перенесшие холеру, и санированные вибриононосители допускаются в детские коллективы в соответствии с общим состоянием здоровья, но не ранее 15 дней после выписки их из стационара, после пятикратного ежедневного бактериологического обследования на вибриононосительство под контролем педиатра.

Лица, перенесшие холеру, и санированные вибриононосители снимаются с диспансерного наблюдения при отсутствии выделения холерных вибрионов в течение 1 года. Снятие с диспансерного учета проводится комиссионно с участием главного врача поликлиники, инфекциониста, участкового врача и районного эпидемиолога.

Лица, находившиеся в очагах холеры, и переболевшие острыми желудочно-кишечными заболеваниями любой этиологии подлежат диспансерному наблюдению в кабинетах инфекционных заболеваний поликлиник или у участкового врача по месту жительства в течение полугода. У этих лиц в течение первых 3 месяцев ежемесячно исследуется кал на патогенную флору и холерный вибрион с предварительной дачей слабительного (сернокислая магнезия 30 г для взрослого). Соответствующая терапия назначается в зависимости от полученных результатов обследования и состояния здоровья.

На каждого перенесшего холеру или вибриононосительство, а также на каждого перенесшего в очаге холеры острое желудочно-кишечное заболевание при диспансерном наблюдении ведутся история болезни и диспансерная карта (форма № 30а).

Все выписанные из стационара, перенесшие холеру или вибриононосительство, берутся на учет санэпидстанцией по месту жительства, которая в течение года ведет эпидемиологическое наблюдение за окружающим реконвалесцента населением и контроль за бактериологическим обследованием диспансеризуемого.

МЕРОПРИЯТИЯ, ПРОВОДИМЫЕ СРЕДИ ДЕКРЕТИРОВАННЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ

1. Работники пищевой промышленности, общественного питания, торговли продовольственными товарами, головных сооружений водопровода и других объектов коммунального хозяйства, а также весь обслуживающий персонал детских дошкольных учреждений, медицинские работники и организованные дошкольники подвергаются бактериологическому обследованию на вибриононосительство один раз в течение первого месяца после ликвидации вспышки холеры и также однократно — в апреле — мае. Обследования проводятся после дачи солевого слабительного.

2. Вновь принимаемые на работу в учреждения и предприятия (перечисленные в п. 10) в населенных пунктах, где имелись вспышки холеры, в течение года после ее ликвидации должны троекратно в течение 3 дней обследоваться на вибриононосительство (первое обследование после дачи солевого слабительного).

3. В течение года после ликвидации вспышки холеры проводится активное выявление больных с острыми желудочно-кишечными расстройствами. Выявление больных осуществляется на всех этапах оказания населению медицинской помощи, а также путем проведения подворных обходов 1 раз в 5—7 дней.

4. Обеспечивается 100% немедленная провизорная госпитализация больных с острыми желудочно-кишечными расстройствами, независимо от тяжести и клинических проявлений заболевания.

5. Все больные, провизорно госпитализированные, подвергаются троекратному (3 дня подряд) обследованию на вибриононосительство и определению титров вибриоцидных антител в парных сыворотках. Лечение антибиотиками и сульфаниламидными препаратами этих больных можно начинать после установления диагноза заболевания.

6. За лицами, находившимися в контакте с больными острыми желудочно-кишечными заболеваниями, устанавливается медицинское наблюдение по месту жительства и работы до установления окончательного диагноза заболевания.

7. Проводится ежедекадный эпидемиологический анализ всех случаев острых желудочно-кишечных заболеваний с установлением этиологии и вскрытием факторов, способствовавших их возникновению.

8. В отдельных микрорайонах, участках, домах, учреждениях и на предприятиях, неблагополучных по заболеваемости кишечными инфекциями, или где имелись особенно высокие показатели заболевания холерой, проводится однократное бактериологическое обследование на вибриононосительство всего населения в апреле — мае. При этом допускается групповое исследование материала (по 5—10 проб на 1 анализ), взятого в одной семье (квартире, производственной бригаде и т. п.).

9. Не реже одного раза в 10 дней с учетом эпидемической обстановки и санитарно-гигиенического состояния в населенном пункте проводятся бактериологические исследования воды из источников питьевого водоснабже-

ния, открытых водоемов, хозяйственно-бытовых сточных вод на наличие холерных вибрионов.

10. Количество остаточного хлора в разводящей водопроводной сети систематически поддерживается на уровне 0,2—0,3 мг/л.

11. Осуществляется постоянный строгий контроль за соблюдением санитарно-гигиенического режима на предприятиях общественного питания, пищевой промышленности и торговли продовольственными товарами.

12. Осуществляется строгий постоянный контроль за своевременной и качественной очисткой населенных пунктов, за правильным содержанием свалок.

13. Проводится регулярная борьба с мухами.

14. Осуществляется ежедневная профилактическая дезинфекция в общественных уборных и местах массового скопления людей (вокзалы, порты, аэропорты и т. п.).

15. Систематически проводится санитарно-просветительная работа (лекции, беседы, выступления в местной печати, по радио, телевидению, издание памяток, листовок и т. п.) по профилактике холеры и других желудочно-кишечных инфекционных заболеваний. Особое внимание при этом обращается на соблюдение санитарно-гигиенических правил, на возможность своевременного обращения за медицинской помощью при возникновении желудочно-кишечных расстройств и на вред самолечения.

16. Запрещается свободная (без рецептов врача) продажа антибиотиков и сульфаниламидных препаратов.

17. Проводится вакцинация (ревакцинация) против холеры всего населения.

18. По представлению областных (краевых, республиканских) ЧПК — по согласованию с Министерствами путей сообщения, гражданской авиации, морского и речного флота — въезд в населенные пункты, где имели место вспышки холеры, в соответствии с эпидемиологической обстановкой и санитарно-гигиеническими условиями, может быть ограничен на определенный срок и разрешен только для лиц, следующих к постоянному месту жительства, в командировки и на лечение.

19. Мероприятия проводятся в течение одного года после ликвидации вспышки холеры, до окончания следующего эпидемиологического сезона, при условии если на протяжении этого года не будет выявлено новых случаев заболеваний или вибриононосителей.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ХОЛЕРЫ

В диагностике холеры при проведении эпидемиологического обследования, своевременном и правильном выполнении противоэпидемических мероприятий большая роль принадлежит лабораторным исследованиям.

Основным методом лабораторной диагностики холеры является *бактериологическое исследование*. В последнее время уделяется большое внимание серологическим исследованиям в ретроспективной диагностике; определенное значение имеют диагностические исследования по обнаружению холерного бактериофага.

Целью бактериологического исследования является: диагностика типичных случаев холеры, установление окончательного диагноза при вскрытии трупов, выявление больных легким холерным энтеритом, вибрионосителей и реконвалесцентов, установление факторов передачи инфекции — исследование воды, пищевых продуктов, почвы, мух, зараженных предметов и т. п.

ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ И ДОСТАВКИ МАТЕРИАЛА НА ИССЛЕДОВАНИЕ

Успех бактериологического исследования на холеру в значительной степени зависит от того, насколько правильно взят материал и своевременно начато его исследование.

Лаборатория должна постоянно осуществлять контроль за взятием и доставкой материала на исследование.

Лица, занимающиеся забором материала, должны быть проинструктированы.

Взятие материала для диагностического исследования необходимо производить до начала лечения антибиотиками.

Забор материала производится следующими способами:

1. Наилучшим способом является забор нативного материала, однако при отсутствии возможности исследо-

вания материала не позднее 3 часов после взятия необходимо использовать среды — консерванты.

Пробы нативного материала (испражнения и рвотные массы) собирают в индивидуальное отмытое от дезинфицирующего раствора судно, на дно которого помещают меньший по размерам сосуд, удобный для обеззараживания кипячением, или листы пергаментной бумаги, целлофана и др.

Выделение в объеме 10—20 мл при помощи стерильных металлических, картонных или деревянных ложек переносят в стерильную стеклянную широкогорлую баночку, плотно закрывают стеклянной или корковой пробкой с пергаментной бумагой. Пробку на баночке обвязывают двойным слоем пергаментной или вощаной бумаги. При отсутствии широкогорлых банок образцы выделений можно помещать в стерильные пробирки. В этом случае для переноса материала используют стерильные стеклянные трубочки диаметром 0,6—0,8 см и длиной 6—8 см. Трубочку захватывают корнцангом, зачерпывают ею выделения, помещают в пробирку, которую затем закрывают непромокаемой пробкой.

Остатки выделений оставляют в судне, обеззараживают дезраствором и судно тщательно промывают.

Сосуд, из которого непосредственно берут материал, стеклянные трубочки и ложки обеззараживают кипячением.

2. Для взятия материала у больных с выраженным гастроэнтеритом можно использовать резиновый катетер, один конец которого вводят в прямую кишку, другой — опускают в банку или пробирку. Жидкие испражнения набираются в сосуд свободно или при легком надавливании на брюшную стенку.

3. Ректальные трубки. Стеклянную толстостенную трубку с опаянным концом, смазанную вазелином, вводят в прямую кишку на 6—8 см и содержимое ее переносят во флакон с 1% пептонной водой или другой консервирующей жидкостью.

4. Ректальные ватные тампоны. Тампоны готовят из гигроскопической ваты так, чтобы им можно было адсорбировать не менее 1 мл жидкости. Стерильный тампон вкладывают в короткую резиновую трубку с косо срезанным концом. Тампон с резиновой трубкой смазывают вазелином, вводят в прямую кишку на глубину 3—5 см, выталкивают из трубки и собирают им содер-

жимое со стенок кишечника. Тампон втягивают обратно в трубку и вместе с ней извлекают из прямой кишки. Тампон вынимают из трубки и опускают во флакон или пробирку с жидкой средой, обломив лишнюю часть деревянного стержня тампона.

5. Петли готовят из алюминиевой проволоки диаметром 2—3 мм, длиной 40—50 см, складывая ее вдвое. Материала можно собрать больше, если в верхнем отделе петли сделать 2—3 зажима, образующие форму цифры 8. Перед забором материала стерильную петлю смачивают стерильным физиологическим раствором и вводят в прямую кишку на 8—10 см. Взятый материал засевают или помещают в консервирующую жидкость или питательную среду. Такие петли очень удобны, так как позволяют забрать значительное количество фекальных масс, не травмируют слизистую, не ломаются, не влияют на жизнеспособность холерного вибриона, просты в изготовлении. После употребления петли обеззараживают кипячением.

6. Взятие желчи. В ряде случаев, особенно у реконвалесцентов, необходимо исследовать желчь.

Дуоденальное зондирование производят в лечебном учреждении. 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% раствора сернокислой магнезии, которая вызывает опорожнение желчного пузыря.

В отдельные пробирки собирают три порции: порцию А из двенадцатиперстной кишки, порцию В из желчного пузыря и порцию С из желчных протоков.

7. От трупов лиц, умерших с подозрением на холеру, берут отрезки из верхней, средней и нижней частей тонкого кишечника длиной около 10 см. Отрезки вырезают между двойными лигатурами, наложенными на оба конца изымаемого участка кишечника.

Желчный пузырь после перевязки протока, извлекают целиком. Взятые образцы органов трупа укладывают отдельно в стерильные банки, упаковывают, надписывают и отправляют в лабораторию.

8. При обследовании реконвалесцентов, а также здоровых лиц, соприкасавшихся с источниками инфекции или заразным материалом, и декретированных контингентов обследуемым предварительно дают слабитель-

ное (25—30 г сернокислой магнезии), чтобы собрать жидкие испражнения из верхней части кишечника.

Пробы испражнений, взятые после слабительного, обязательно помещают в 1% пептонную воду.

Примечание. При первых случаях подозрительных на холеру заболеваний часть испражнений и органов умерших после обеззараживания кипячением направляют на исследование в токсикологическую лабораторию.

При отсутствии возможности быстрой доставки материала или в соответствии с установками диагностической лаборатории, для перевозки материала рекомендуется пользоваться следующими консервирующими средствами или средами для транспортирования.

а) Щелочная пептонная вода

Пептон	10 г
Хлористый натрий	10 »
Дистиллированная вода	1000 мл

Довести pH до 8,6, разлить по 10—15 мл в пробирки с привинчивающимися или другими пробками, удобными для транспортировки, и автоклавировать при 1,5 атм. в течение 15 минут. Используется для транспортирования (в течение 12 часов) проб кала, рвотных масс или тампонов.

б) Щелочная пептонная вода с теллуритом калия. Теллурит калия из рабочего разведения 1 : 1000 добавляют к щелочной пептонной воде после ее автоклавирования до конечной концентрации 1 : 100 000 непосредственно перед употреблением или не ранее чем за 48 часов. Теллурит калия выпускается промышленностью в виде сухого порошка или 2% раствора во флаконах по 5 мл. Серии теллурита должны быть проверены на отсутствие ингибиторного действия к холерному вибриону. Материал может сохраняться в течение 1—2 суток.

Примечание. Рабочее разведение теллурита калия (1 : 1000) хранить не более 48 часов.

в) Щелочная таурохолатовая теллуритовая пептонная среда (жидкая среда Монсура).

Триптиказа	10,0
Хлористый натрий . . .	10,0
Таурохолат	5,0
Карбонат натрия	1,0
Дистиллированная вода	1 л

Доводят pH до 9,2, разливают по флаконам или в сосуды с широким горлом и завинчивающимися пробками, автоклавируют при 1,5 атм. в течение 15 минут и добавляют теллурит калия в конечной концентрации 1 : 100 000.

Все три среды обладают свойством обогащения, что дает возможность выделения холерного вибриона при содержании единичных клеток в исследуемом материале.

г) Щелочная консервирующая жидкость с морской солью (Венкантрамана — Рамакришнана). Основной раствор: борную кислоту (12,4 г) и хлористый калий (14,9 г) растворяют в 80 мл горячей дистиллированной воды, охлаждают и доводят до 1 л.

Рабочий раствор: основной раствор — 250 мл и 0,8% (M/5) NaOH — 133,5 мл доводят до 1 л и добавляют 20 г высушенной морской соли. Доводят pH жидкости до 9,2, отфильтровывают через фильтровальную бумагу, разливают по 10 мл в сосуды с привинчивающимися пробками (с широкими горлышками) и стерилизуют в автоклаве 15 минут при давлении в 1 ат.

Можно использовать эту жидкость в модификации: неочищенная морская соль — 20 г, пептон — 5 г, дистиллированная вода — до 1 л (pH до 8,6—8,8). Разливают по 10—15 мл в пробирки с широким горлом с плотно закрывающимися резиновыми пробками.

д) Среда Кэри Блэра.

Тиогликолат	1,5 г
Однозамещенный фосфат натрия . . .	1,1 »
Хлористый натрий	5 »
Дистиллированная вода	991 мл
Агар-агар	5 г

Смесь нагревают до растворения и после охлаждения при 50° добавляют 8 мл свежеприготовленного 1% хлористого кальция. pH следует довести до 8,4, разлить среду в стерильные сосуды с пробками и простерилизовать в течение 15 минут в водяной бане.

Последние две среды являются только консервантами, в которые материал следует помещать в количестве 2—3 г на 4—6 мл среды, и можно сохранять в течение 3—5 суток.

Различная концентрация холерных вибрионов в испражнениях больных и вибрионосителей определяет количество взятого для исследования материала.

От больных с тяжелой формой холеры и от трупов в среду накопления достаточно посеять 0,1—0,2 мл испражнений.

От больных с легкими формами заболевания следует засевать на 1% пептонную воду 0,5—1 мл и от здоровых — 2—3 г испражнений.

Пищевые продукты. Для исследования по эпидемиологическим показаниям берут не менее 200 г каждого продукта, упаковывают отдельно в стерильные стеклянные банки.

Питьевую воду для исследования берут в количестве 1—2 л в предварительно простерилизованную посуду (в бутыли емкостью 1 л или 0,5 л) с непромокаемой пробкой. Более 1 л воды берут в тех случаях, когда одновременно с обычным бактериологическим исследованием, для которого требуется 900 мл, применяют другие, в частности ускоренные методы.

Воду из открытых водоемов необходимо брать до восхода солнца и массового взятия воды населением, на уровне 10—15 см ниже поверхности, непосредственно у берега и в удалении от него.

Из проточных водоемов пробы забирают в местах с замедленным течением. Одновременно следует также брать на исследование иловые отложения. Результат исследования воды в значительной степени зависит от качества взятия и быстроты доставки проб в лабораторию.

Гидробионтов (рыбы, лягушки и др.) отлавливают из водоемов любым способом и в закрытых банках, ведрах и других сосудах доставляют в лабораторию.

Хозяйственно-бытовые сточные воды забирают в объеме 1 л в стерильные бутылки с непромокаемой пробкой.

Почву в количестве 200—300 г доставляют в стеклянных стерильных банках или целлофановых мешочках.

Смывы с различных объектов внешней среды берут ватным или марлевым тампоном, смоченным 1% пептонной водой; тампон опускают во флакон или пробирку с 1% пептонной водой.

Для сбора мух расставляют стеклянные мухоловки, в которые наливают 1% пептонную воду с 1% сахара. Мухоловки с выловленными мухами доставляют в лабораторию и помещают в термостат при 37° на 6—

8 часов. Дальнейшее исследование ведут по общей схеме.

При исследовании белья, загрязненного выделениями больного, вырезают кусочки, которые погружают в пробирку с 1% пептонной водой (или консервантом) и направляют в лабораторию.

При пересылке материал укладывают в металлическую тару (бикс, ведро, кастрюлю и др.) и перевозят на специальном транспорте с сопровождающим.

Каждый образец материала подробно этикетируют. На этикетке указывают имя и фамилию больного, название образца, место и время взятия, предполагаемый диагноз и фамилию забравшего материал.

I этап. а) Бактериоскопия. Мазки из исследуемого материала подсушивают на воздухе, фиксируют жидкими фиксаторами (этиловый спирт, смесь Никифорова и др.) в течение 20 минут. Фиксация жаром не рекомендуется. Холерный вибрион хорошо красится всеми основными анилиновыми красками. Чаще всего для окраски применяют раствор карболового фуксина 1 : 10, который легко и быстро (экспозиция 1—2 минуты) окрашивает вибрион. Параллельные мазки окрашиваются по Граму (холерные вибрионы грамотрицательны). Холерный вибрион имеет форму изогнутой палочки длиной 1,2—4 мк, шириной 0,2—0,4 мк и отличается большим полиморфизмом.

Наряду с типичными изогнутыми палочками встречаются мелкие кокковидные палочковидные формы, сходные с микробами кишечной группы, длинные, спиралевидные и др.

б) Первичный посев на жидкие и плотные среды. В качестве жидких сред обогащения рекомендуется щелочная 1% пептонная вода, 1% пептонная вода с теллуритом калия (1 : 100 000), щелочная таурохолат-теллурит-пептонная среда Monsur (pH 8,0—8,2).

Среды с теллуритом являются ингибирующими и при малых посевных дозах могут задерживать размножение холерного вибриона.

Первичные посевы исследуемого материала на холеру производят на одну из перечисленных выше жидких сред накопления.

В качестве твердых питательных сред используют параллельно щелочной агар и одну из селективных сред

Основные этапы исследования материала

Этапы полного исследования	Этапы ускоренного исследования	Заключение
I. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала, посев на жидкие и плотные среды	1. Обработка мазков люминесцирующей холерной сывороткой и просмотр их 2. Реакция иммобилизации вибрионов с холерной О сывороткой 3. Проба с фагом и реакция агглютинации в пептонной воде	Первый ориентировочный ответ по данным ускоренных методов диагностики
II. Изучение посева на I пептонной воде. Пересев с I пептонной воды на II пептонную воду и агаровые среды	Те же методы исследования (1, 2, 3) с I пептонной воды после 3—4- и 6-часового подращивания	Второй ориентировочный ответ по тем же ускоренным методам
III. Изучение посевов на II пептонной воде и высев на агаровые среды. Просмотр чашек с посевом нативного материала, отбор подозрительных колоний, предварительная идентификация их, отсев на лактозо-сахарозную среду	Ускоренные методы исследования (1, 2, 3) материала со II пептонной воды. Ускоренная идентификация подозрительных колоний нативного посева	1. Ориентировочный ответ по данным ускоренной диагностики II пептонной воды. 2. Предварительный положительный ответ по данным предварительной идентификации подозрительных колоний нативного посева
IV. Просмотр чашек с высевом из I пептонной воды, отбор колоний, предварительная их идентификация, отсев на лактозо-сахарозную среду. Изучение культур на лактозо-сахарозной среде, выделенных на этапе III	Учет ускоренной идентификации колоний с нативного посева Ускоренная идентификация подозрительных колоний с I пептонной воды	1. Окончательный положительный ответ по данным ускоренной идентификации колоний нативного посева. 2. Предварительный положительный ответ по данным предварительной идентификации колоний с I пептонной воды и с лактозо-сахарозной среды колоний первичного посева.
V. Просмотр чашек с высевами из II пептонной воды, отбор колоний, их предвари-	Учет ускоренной идентификации колоний с I пептонной воды.	1. Окончательный положительный ответ по данным полной идентификации куль-

Продолжение

Этапы полного исследования	Этапы ускоренного исследования	Заключение
тельная идентификация. Исследование их как на этапе III. Окончательная идентификация колоний, выделенных на этапе	Ускоренная идентификация колоний со II пептонной воды	туры с нативного посева 2. Окончательный положительный ответ по данным ускоренной идентификации колоний с I пептонной воды
VI. Продолжение изучения колоний, выделенных на этапе IV		3. Предварительный положительный ответ по данным предварительной идентификации колоний со II пептонной воды и культуры на лактозо-сахарозной среде с I пептонной воды
VII. Окончательная идентификация колоний, выделенных на этапе IV. Продолжение изучения колоний, выделенных на этапе V	Учет ускоренной идентификации колоний со II пептонной воды	1. Окончательный отрицательный ответ при отсутствии подозрительных колоний с I и II пептонной воды. 2. Окончательный положительный ответ по данным идентификации колоний с I пептонной воды 3. Окончательный положительный ответ по данным ускоренной идентификации колоний со II пептонной воды и культуры на лактозо-сахарозной среде с I пептонной воды.
Окончательная идентификация колоний, выделенных на этапе V		Окончательный ответ на анализ по данным полной идентификации подозрительных колоний со II пептонной воды

(TCBS, холерная среда Оксонд, щелочная таурохолат-теллурит-желатино-агаровая среда Монсура или ее модификация).

Перед посевом пробы тщательно перемешиваются. На плотные среды исследуемый материал наносят пастеровской пипеткой или петлей и распределяют по поверхности шпателем или петлей.

Выращивание всех посевов производят при температуре 37° на щелочной пептонной воде 6—8 часов, на пептонной воде с теллуритом калия 12—24 часа, на щелочном агаре 10—12 часов, на селективных агаровых средах 18—24 часа. Выбор жидких и твердых питательных сред определяется конкретными задачами и условиями работы лаборатории.

II этап. а) Изучение роста на 1-й среде накопления, пересев на 2-ю среду накопления и высев на агаровые среды. С поверхностной пленки 1-й среды накопления производят бактериоскопию мазка. При наличии достаточного количества вибрионов ставят реакцию иммобилизации с О-сывороткой в фазовоконтрастном освещении или темном поле, а также проводят люминесцентно-серологическое исследование.

б) Пересев с 1-й среды накопления на 2-ю производят путем переноса примерно 0,1—0,5 мл среды поверхностного слоя в пробирку с 5—10 мл среды.

в) Высев на чашку делают петлей диаметром 5—6 мм, касаясь ею только поверхностной пленки жидкой среды.

III этап. а) Изучение роста на 2-й среде накопления и высев с нее на агаровые среды. Со 2-й средой накопления проводят те же исследования, которые на этапе II были выполнены с 1-й средой накопления (этап II, а).

б) Просмотр чашек с посевами нативного материала и отбор подозрительных колоний. Отбор подозрительных колоний производят по морфологическим признакам невооруженным глазом, с помощью лупы, микроскопа, а также (особенно в вечернее и ночное время) используя стереоскопический микроскоп с боковым освещением или специально приспособленный стереоскопический микроскоп для просмотра посевов в косо проходящем свете.

На щелочном агаре колонии холерного вибриона круглые, гладкие, плоские, голубоватые, прозрачные в проходящем свете, гомогенные, с ровными краями, диаметром 1—2 мм. Консистенция колоний маслянистая, они легко снимаются и эмульгируются, давая феномен «тяжа». При просмотре чашек под малым увеличением микроскопа колонии гомогенные, светло-жёлтые. В более поздние сроки колонии мутнеют (после 18 часов). Атипичные колонии могут встречаться в любых культурах, даже при посеве материала непосредственно от больного или трупа.

Атипичные колонии чаще встречаются при исследовании выздоравливающих, бактерионосителей, а также от лиц, леченных антибиотиками.

На среде TCBS (и подобного типа) колонии вибрионов через 12—18 часов крупные, плоские, желтого цвета — на фоне зеленовато-голубоватого цвета среды. При более длительной инкубации желтые колонии часто переходят в зеленые.

Сопутствующая флора на TCBS, как правило, не растет. В редких случаях некоторые виды протея, спороносные палочки и кокки могут дать колонии с темно-желтой окраской, колонии кокков отличаются более мелкой величиной и большей выпуклостью. На среде Аронсона — колонии холерного вибриона ярко-красного цвета с бледно-розовой или бесцветной периферией.

На среде Монсура холерные вибрионы через 24 часа дают прозрачные или полупрозрачные колонии серовато-черного цвета с помутнением по краям, через 48 часов колонии слегка слизистые с черным центром, и хорошо очерченными краями размером 3—4 мм. Следует отметить, что протей на этой среде может дать колонии с сероватым центром, однако помутнения краев у этих колоний не наблюдается. При наличии стереоскопического микроскопа колонии на щелочном агаре можно изучать в косо проходящем свете через 6—8, лучше через 10—14 часов инкубации.

Принцип метода заключается в том, что при просмотре колоний различных микробов под малым увеличением микроскопа или лупы при освещении их пучком света, косо падающим на поверхность агара, колонии приобретают способность светиться и кажутся окрашенными.

К стереоскопическому микроскопу МБС-2 или МБС-1 приспосабливают устройство для получения узкого

пучка света и зеркало от микроскопа на подвижном шарнире для освещения чашки снизу под углом 45°.

Выделение колоний производится следующим способом. Чашки с посевом после 10—14 часов инкубации просматривают с помощью стереомикроскопа, столик которого можно заменить специальным приспособлением для освещения чашки снизу под определенным углом. Источником света служит осветитель от микроскопа, на который надевается кожух с отверстием диаметром 5 мм против спирали лампочки для получения узкого пучка света. Узкий пучок света направляется в центр вогнутого зеркала, которое перемещается на подвижном шарнире поворотом винта в зависимости от необходимого угла падения света. Угол вычисляют по соотношению расстояния от зеркала до чашки, которое меняется произвольно, и расстояние от чашки до поверхности стола, остающегося неизменным.

Для удобства исследования осветитель и зеркало можно вмонтировать в ящик со стеклянной крышкой, на которую помещают чашку с посевом. Это дает возможность быстро находить нужный угол падения света, передвигая зеркало поворотом винта по вмонтированной шкале.

При величине угла падения луча света к поверхности агара в 40—50° колонии вибрионов по своей окраске заметно отличаются от других микроорганизмов.

Цвет 10—14-часовых колоний, выросших на агаре Хоттингера или мясо-пептонном (pH 8,0) при косом освещении:

Микроорганизмы	Цвет колоний
Холерные и холероподобные вибрионы	Преобладает зеленый цвет (с оттенком зеленовато-серым, синевато-зеленым, ярко-зеленого цвета с верхним краем красно-бурого или коричневого оттенка)
Сальмонеллы	Розового оттенка
Шигеллы	Розового цвета с фиолетовым оттенком
Кишечная палочка	Ярко-красного цвета
Протей	Красного цвета с фиолетовым оттенком

Отобранные колонии отсевают на лактозо-сахарозную среду или среду Клиглера. С наиболее подозритель-

ными из них проводят ориентировочную и ускоренную идентификацию.

IV этап. а) Продолжение изучения колоний, выделенных с посева нативного материала. Из посевов на лактозо-сахарозной среде отбирают культуры, ферментирующие сахарозу без газа и не разлагающие лактозу, проводят ориентировочную идентификацию их и ставят реакции, предусмотренные для окончательной идентификации.

б) Просмотр чашек с высевом с I пептонной воды, отбор подозрительных колоний, изучение их (см. этап III, б).

в) Учет результатов ускоренной идентификации, проведенной на III этапе.

V этап. а) Учет окончательной идентификации культуры, выделенной с посева нативного материала. При положительном результате анализ считается законченным, при отрицательном или сомнительном — исследование продолжается.

б) Продолжение изучения колоний, отобранных с посева I среды накопления (см. этап IV).

в) Просмотр чашек с высевом со II среды накопления, отбор подозрительных колоний и изучение их (см. этап III, б).

VI этап. а) Учет окончательной идентификации колоний на агаровых средах, выделенных с I пептонной воды. При положительном результате анализ считается законченным, при отрицательном — продолжается.

б) Продолжение изучения колоний, выделенных в пересевах со II среды обогащения (см. этап IV, а).

VII этап. а) Окончательная идентификация колоний, выделенных со II пептонной воды. Анализ закончен. При отсутствии в посеве подозрительных колоний соответствующие исследования, предусмотренные данной схемой, не проводятся.

Окончательная идентификация может быть проведена по ускоренной и полной схеме.

Окончательный ответ на анализ дают по результатам полной или ускоренной идентификации с последующим дополнительным изучением культуры. На

каждую выделенную культуру должен быть составлен паспорт (см. приложение, стр. 145).

Сроки выполнения анализа могут быть различными. Во всех случаях они находятся в зависимости от вида использованных питательных сред и методов исследования.

Сроки выполнения положительных анализов зависят также от концентрации возбудителя в исследуемом материале и типичности культуры, а отрицательных — от наличия подозрительных культур, требующих идентификации.

При использовании щелочной пептонной воды и щелочного агара положительный ответ может быть дан на различных этапах исследования в пределах 12—36 часов, отрицательный — 24—36 часов. При использовании селективных сред продолжительность анализа увеличивается на 12—24 часа.

ИССЛЕДОВАНИЕ МАТЕРИАЛА ОТ БОЛЬНОГО, ТРУПА И ОТ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ НА ВИБРИОНОНОСИТЕЛЬСТВО

Этапы исследования материала описаны выше. Бактериоскопию мазков из фекальных и рвотных масс целесообразно проводить только при тяжелых формах заболевания, а также из трупного материала. При обследовании на вибриононосительство можно использовать метод группового посева. В этом случае в один посев объединяют пробы от 5—10 человек. Из каждой пробы берут примерно около 2 г материала и засевают в среду накопления в объеме не менее 100 мл. При положительном результате группового анализа проводят повторное обследование индивидуальным методом.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ, ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И ДРУГИХ ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

После определения pH и необходимого подщелачивания 10% раствором едкого натра до pH 8,0 воду разливают в 2—3 колбы и к каждой порции добавляют основной раствор пептона из расчета получения 1% пептонной воды.

Если не представляется возможным проводить высевы через 6 часов, первичный посев делают сразу после доставки проб воды в лабораторию, добавив к ней ос-

новной раствор пептона до соответствующей концентрации (1%) и теллурита калия до окончательного разведения 1 : 100 000.

Пересев на II пептонную воду и агаровые пластинки проводят в начале следующего дня.

При плановом обследовании открытых водоемов можно исследование доставленных в конце рабочего дня проб воды проводить на следующий день. В этом случае после установления щелочной реакции и добавления основного раствора пептона до 1% концентрации пробы сохраняют в условиях комнатной температуры (не выше 18—20°) до утра. В начале следующего дня засевают 2—3 мл поверхностного слоя в 100 мл 1% пептонной воды (I пептонная вода). Разрешается также при плановом обследовании высев со II пептонной воды на агаровые пластинки проводить через 12—16 часов.

При исследовании воды рекомендуется фильтрация 1,5—2 л через мембранный фильтр № 3.

Фильтр вместе с осадком засевают в 1% пептонную воду и на агаровые чашки. При помещении фильтра на плотную питательную среду под фильтром не должно быть пузырьков воздуха.

Дальнейшее исследование ведут по схеме, приведенной выше.

Исследование пищевых продуктов. Для исследования берут не менее 200 г каждого продукта. Жидкие пищевые продукты, в том числе безалкогольные напитки (квас, морс, ситро и т. д.), а также слабо алкогольные (пиво), исследуют тем же методом, что и воду. Кислые напитки предварительно перед посевом следует подщелачивать до pH 8,0. При исследовании молока на 100 мл 1% пептонной воды берут 5 мл молока. Дальнейшее исследование жидких пищевых продуктов проводят по схеме исследования воды.

Твердые пищевые продукты стерильно измельчают и растирают в ступке с физиологическим раствором, определяют pH, при необходимости подщелачивают и засевают навеску в 10 г на 100 мл 1% пептонной воды. Посев делают и на пластинки щелочного агара.

Дальнейшее исследование — по общей схеме.

Исследование хозяйственно-бытовых сточных вод. Исследование сточных вод проводят по схеме исследования воды с предварительной механи-

ческой фильтрацией через ватно-марлевый или бумажный фильтр.

Исследование проб из выгребных ям, надворных уборных ведут по общей схеме исследования испражнений.

Исследование гидробионтов и др. Лягушку непосредственно перед исследованием умерщвляют парами эфира либо сдавливанием горла корнцангом. Животное фиксируют приколышами за лапки на препаровальной доске брюшком вверх. Поверхность брюшка обрабатывают спиртом, ножницами делают медиальный разрез от анального отверстия до грудной полости. Пинцетом забирают желчный пузырь, отсекают от печени, разрезают стерильными ножницами и делают отпечаток на пластинке щелочного агара. Остатки желчи вместе с желчным пузырем помещают во флакон с 50—100 мл 1% пептонной воды. Стерильными ножницами разрезают желудок, содержимое которого засевают в 1% пептонную воду, а внутренней поверхностью стенки делают отпечатки на агаровые пластинки.

Посев кишечника делают подобным образом, отсекая несколько петель ножницами. При необходимости исследуют отдельно верхний, средний и нижний отделы кишечника.

У крупных рыб в том же порядке исследуют желчный пузырь, желудок, кишечник. Мелких рыб (мальков) измельчают ножницами по 10—20 экз. в одной пробе и делают посев петлей на чашку и 1% пептонную воду. Дафний и рачков исследуют, растирая их пестиком в ступке с добавлением небольших порций 1% пептонной воды, делая высев петлей на чашку и в 1% пептонную воду.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

Жидкие среды. Пептонная вода. Основной раствор пептона готовят по следующей прописи:

Пептон	100 г
Хлористый натрий	50 »
Азотнокислый калий	1 »
Углекислый натрий	25 »
Дистиллированная вода	1000 мл
pH	8,2—8,4

Смесь пептона с хлористым натрием и углекислым натрием растирают в ступке, после чего растворяют в дистиллированной воде при кипячении; затем прибавляют азотнокислый калий. Раствор автоклавируют при 120° в течение 20 минут (фильтрацию проводят до стерилизации).

Основной раствор пептона (10% пептонная вода) сохраняется длительное время (до 6 месяцев).

Для получения 1% пептонной воды основной раствор пептона разводят в 10 раз, т. е. один объем основного раствора на 9 объемов дистиллированной воды. Полученную пептонную воду разливают в соответствующую посуду и стерилизуют, доведя предварительно pH до 8,2—8,4. Срок хранения 2 месяца.

Пептонная вода с теллуритом калия. В 1% пептонную воду после автоклавирования добавляют теллурит калия (калий теллуристокислый) в конечном разведении 1 : 100 000 или 1 : 200 000. Среду готовят непосредственно перед употреблением или не ранее чем за 24—48 часов.

Концентрация теллурита предварительно должна быть оттитрована на культуре холерного вибриона [1].

Жидкую среду с теллуритом калия следует использовать как одну из сред обогащения в лабораториях, не имеющих круглосуточного дежурства. При этом в зависимости от времени доставки материала она используется как 1-я или 2-я среда обогащения.

Плотные среды. Щелочной агар (pH 7,8—8,0). К 1 л нейтрального мясо-пептонного 2% агара или агара, приготовленного на перевare Хоттингера, прибавляют 30 мл 10% раствора углекислого натрия (Natrium-Carbonicum), кипятят 45 минут, фильтруют, разливают и стерилизуют в автоклаве 20 минут при 120°. Агар должен быть прозрачным. Срок хранения — 3 месяца в прохладном месте. По истечении указанного срока среды подлежат ежемесячному перeконтролю.

Щелочная таурохолатовая теллуритовая желатиновая агаровая среда (среда Монсура оригинальная)

Триптиказа	10 г
Хлористый натрий	10 »

[1] Калия теллурита 2% раствор во флаконах по 5 мл выпускает Московский химико-фармацевтический завод имени Н. А. Семашко.

Таурохолат натрия	5 »
Карбонат натрия	1 »
Желатина Дифко	30 »
Агар-агар	15 »
Дистиллированная вода	1000 мл

Полностью растворить хлорид натрия и агар, затем желатину и другие ингредиенты в кипящей водяной бане при частом встряхивании. Доводят pH до 8,5, разливают по 20 мл в колбы с притертыми пробками, стерилизуют при 1,5 ат 15 минут. Среду хранят в прохладном месте. Перед разливом ее в чашки добавляют теллурит калия в концентрации 1 : 200 000, чашки со средой можно использовать в течение 5 дней.

Среда Монсура в модификации Т. Н. Донской и Л. Ф. Зыкина

Агар Хоттингера 1,5%	1000 г
Желатина	50 »
Желчь бычья	50 »

pH устанавливают 7,4—7,6. Стерилизуют текучим паром или при 110° в течение 15 минут.

Перед разливкой добавляют теллурит калия в концентрации 1 : 100 000.

Бакто-агар TCBS — сухая среда для диагностики холеры (pH 8,6) выпускается фирмой Дифко (Детройт, штат Мичиган, США).

На 1 л дистиллированной воды берут 89 г сухой среды, нагревают до кипения (до полного растворения). Среду, не стерилизуя, разливают в чашки Петри.

Желчно-солевой агар. К мясо-пептонному агару (pH 8,0) добавляют 0,5% поваренной соли и 0,5% таурохолата натрия. Для подавления роста протея концентрацию таурохолата натрия можно повышать до 1%, стерилизуют при 110° в течение 15 минут.

Среда Аронсона типа Эндо содержит сбраживаемый углевод и обесцвеченный фуксин. Окраска фуксина восстанавливается в присутствии промежуточных альдегидов, образующихся в процессе ферментации сахарозы.

Способ приготовления. Мясо-пептонный 3% агар проваривают в течение 4—5 часов в аппарате Коха. К 100 мл горячей среды добавляют 5—6 мл 100% раствора безводной углекислой соды и стерилизуют 10—

15 минут при 100°, после чего к 100 мл горячей среды добавляют 5 мл 20% раствора сахарозы и 5 мл 20% раствора декстрина, предварительно простерилизованных в автоклаве или фильтрацией, 0,4 мл насыщенного спиртового раствора основного фуксина и 2 мл свежеприготовленного 10% раствора сульфита натрия, предварительно простерилизованного кипячением. Готовую среду, остуженную до 45—50°, разливают по чашкам. Через 10—15 часов роста колонии холерного вибриона на этой среде имеют ярко-красный центр и бледно-розовую или бесцветную периферию.

Среду Аронсона можно приготовить упрощенным методом. Для этого к 100 мл расплавленного 2% агара Хоттингера (pH 7,8—8,0 аминного азота 150 мг%) добавляют 1,5 г сахарозы, 0,05—0,06 г витамина B_1 (желательно), от 0,3 до 0,5 мл насыщенного спиртового раствора основного фуксина и 10% водного раствора сернокислого натрия (сульфита натрия) до обесцвечивания (около 3—5 мл). Охлаждают до 40—45°, разливают в чашки и подсушивают.

Лактозо-сахарозная (полиуглеводная) среда. Среду готовят по следующей прописи:

Пептон	0,5 г
Поваренная соль	0,5 »
Лактоза	1,0 »
Сахароза	0,1 »
Агар-агар	1,0 »
Индикатор Андреде	4 мл
Вода дистиллированная	100 »
pH	7,4

Готовая среда после стерилизации скашивается, как среда Ресселя, и посев на нее производится по общепринятой методике. Холерные и холероподобные вибрионы, расщепляя сахарозу, дают покраснение среды в столбике без образования газа. Дизентерийные, тифо-паратифозные бактерии, а также B. faecalis alcaligenes не изменяют цвета среды. Кишечная палочка образует кислоту с газом как в столбике, так и в скошенном участке среды.

Среда Клиглера — к 1,5—1,7% мясо-пептонному агару добавляют 10 г лактозы, 10 г сахарозы и 1 г глюкозы. После растворения углеводов добавляют по 10 мл 2% раствора сернокислого железа, 0,8% раствора тиосульфата натрия ($Na_2S_2O_3 \cdot 7H_2O$) и 0,4% раствора суль-

фата натрия (Na_2SO_3). Эта смесь солей служит реактивом на сероводород. Добавляют также 24 мл 1% водно-спиртового раствора фенолового красного (pH 7,2—7,4). Среду разливают в пробирки по 3—5 мл, скашивают по типу среды Ресселя и засевают штрихом по скошенной поверхности и уколом в столбик. Культуры вибрионов и других сахарозо- или глюкозопозитивных микроорганизмов при росте в этой среде дают пожелтение столбика, цвет скошенной поверхности не изменяется. В случае образования сероводорода исследуемыми культурами происходит почернение агара.

МЕТОДИКА ПРОВЕРКИ КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Каждая серия питательных сред, применяемых для диагностики холеры, должна быть проверена на рост холерного вибриона. Проверка качества плотных питательных сред и 1% пептонной воды производится путем посева на них 10 и 100 микробных клеток холерного вибриона.

С этой целью делают взвесь из 12—18-часовой типичной по морфологическим свойствам культуры холерного вибриона и разводят физиологическим раствором с таким расчетом, чтобы в 0,1 мл содержалось 10—100 микробных клеток, каждую посевную дозу засевают в 3 флакона со 100 мл 1% пептонной воды и на 3 чашки с плотной средой. Рассев взвеси на чашку проводят стерильным шпателем. Чашки и флаконы инкубируют при 37° С, через 6 часов инкубирования делают высев с пептонной воды; посев просматривают через 10—12 часов выращивания. Питательный агар можно считать пригодным для диагностических целей, если через 10—12 часов инкубирования на агаровых пластинках из 100 микробных клеток вырастают не менее 30% от посевной дозы типичных по морфологии колоний. На пептонной воде должно быть отчетливое помутнение, а высев через 6—8 часов выращивания обеспечивает рост холерного вибриона.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Предварительная идентификация проводится, исходя из морфологии колоний, морфологии микробной клетки и ориентировочной реакции агглютинации на стекле с

холерной О-сывороткой в разведении 1 : 100 и типоспецифической — в разведении 1 : 50.

При наличии характерной морфологии колоний, подвижного вибриона, положительной реакции агглютинации с холерной О- и типоспецифической сыворотками дают предварительный ответ о положительном результате исследования.

Окончательная идентификация выделенных культур, подозрительных на холерные, проводится по следующим признакам:

Признак	Характеристика	
	V. cholerae classica	V. cholerae El-Tor
1. Морфология микробной клетки	Вибрион подвижный (1 жгутик)	Вибрион подвижный (1 жгутик)
2. Тинкториальные свойства	Грамотрицательный	Грамотрицательный
3. Культуральные свойства	Растет на щелочной среде, колонии гладкие, прозрачные	Растет на щелочн й среде, колонии гладкие, прозрачные
4. Биохимическая активность	I группа Хейберга	I группа Хейберга
5. Агглютинабельность холерной сывороткой О	Агглютинируется не менее чем до $1/^2$ титра	Агглютинируется не менее чем до $1/^2$ титра
Огава	+ или —	+ или —
Инаба	— или +	— или +
6. Чувствительность к диагностическим бактериофагам: «С»	Лизируется	Не лизируется
Эль-Тор II	Не лизируется	Лизируется
7. Чувствительность к полимиксину (50 ед. в 1 мл среды)	Чувствителен (нет роста)	Не чувствителен (есть рост)
8. Реакция гемагглютинации куриных эритроцитов	Не агглютинирует	Агглютинирует
9. Гемолиз бараньих эритроцитов	—	— или +
10. Реакция Фогес—Проскауэра	—	+ или —
11. Протеолитическая активность	+	+
12. Диастатическая активность	+	+
13. Гексаминовый тест	—	+

Идентификация холерных вибрионов проводится на основании морфологии и тинкториальных свойств микробной клетки, культуральных свойств, биохимической активности, агглютинабельности видовой и типоспецифическими сыворотками чувствительности к диагностическим бактериофагам.

Тесты, определяющие чувствительность холерного вибриона к диагностическим фагам, полимиксину, способность агглютинировать куриные эритроциты, позволяют дифференцировать классический и Эль-Тор варианты.

МОРФОЛОГИЯ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ В ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Мазки приготавливают из агаровой и жидкой культуры, высушивают на воздухе, фиксируют спиртом или смесью Никифорова и окрашивают по Граму или фуксином Пфейффера.

Холерные вибрионы представляют собою изогнутые палочки, не окрашивающиеся по Граму; обычно в острых случаях холеры вибрионы в мазках имеют типичную форму, однако не исключено обнаружение слегка изогнутых или почти прямых палочек; величина клеток может также варьировать.

Морфологию колоний на плотной питательной среде изучают при малом увеличении через 12—18 часов от момента посева (в зависимости от свойства культуры и качества питательных сред). Характерным для холерных вибрионов является появление на агаровой среде колоний средней величины, круглых, гладких, плоских (дисковидных); в проходящем свете колонии прозрачные или полупрозрачные; под микроскопом — гомогенные, светло-желтого цвета с ровным краем и слегка выпуклым центром. В более поздние сроки (после 18 часов) колонии вибрионов Эль-Тор становятся более мутными и приобретают выраженный мутноватый центр. От выздоравливающих лиц, а также от леченных антибиотиками, могут выделяться вибрионы, образующие мутные колонии с беловатым или кремовым оттенком; при микроскопии у таких колоний заметна желтоватая или светло-коричневая окраска, зернистость и даже складчатость в центре (OR- и R-формы). Выраженные R-варианты встречаются редко, чаще обнаруживаются

культуры с отдельными признаками шероховатых вариантов (непрозрачные, плохо эмульгирующиеся колонии, явления диссоциации).

При посеве на жидкие питательные среды (1% пептонная вода, бульон Хоттингера или Мартена pH 7,6—7,8) при достаточном количестве посевного материала рост в виде легкой опалесценции появляется уже через 3 часа с момента посева; через 6 часов можно наблюдать появление нежной пленки, особенно заметной на стенке пробирки в том случае, если ее слегка наклонить. Через 8—18 часов выращивания видна нежная, голубоватая, часто пристеночная пленка (в случае выделения вибрионов классического биотипа) или хорошо выраженная, беловатого цвета пленка в случае выделения вибрионов биотипа Эль-Тор. Необходимо помнить о том, что в процессе развития вспышки холеры, а также в результате лечения антибиотиками могут возникать шероховатые варианты холерного вибриона, образующие на поверхности жидкой питательной среды грубую, плотную, либо сухую сморщенную пленку.

Подвижность холерных вибрионов определяется: а) в висячей или раздавленной капле; при микроскопии обычно отмечают характерное быстрое перемещение вибрионов в поле зрения, сравниваемое с «полетом ласточки»; б) путем посева уколом в 0,3% полужидкий агар глубиной на 2—2,5 см; подвижные формы образуют диффузное помутнение полужидкого агара; слабо подвижные вырастают по ходу укола.

Серологические свойства. Для определения видовой принадлежности вибрионов применяют агглютинирующую холерную О-сыворотку; для определения серологического типа используют типоспецифические сыворотки Инаба и Огава.

Цельную агглютинирующую О-сыворотку (сухую предварительно растворяют в 1 мл дистиллированной воды) разводят физиологическим раствором, начиная с 1 : 50 (0,2 мл сыворотки на 9,8 мл физиологического раствора) до титра. К 0,5 мл каждого разведения сыворотки добавляют по 0,5 мл взвеси исследуемой культуры, содержащей 1 млрд. микробных клеток в 1 мл по холерному стандарту мутности, или 500 млн. по общему стандарту мутности ГКИ № 5. Таким образом, получают ряд пробирок, содержащих по 1 мл последовательных разведений сыворотки, начиная с 1 : 100. Последнее раз-

ведение должно соответствовать титру применяемой сыворотки.

Одновременно ставят: а) контроль антигена (0,5 мл взвеси культуры+0,5 мл физиологического раствора; б) контроль сыворотки (0,5 мл сыворотки в разведении 1 : 50+0,5 мл физиологического раствора). После перемешивания содержимого путем встряхивания пробирки помещают на 2 часа в термостат при 37°, после чего производят предварительный учет результатов.

Окончательный учет результатов проводят через 20 часов выдерживания пробирок при комнатной температуре. Оценка реакции ведется по общепринятой методике; культуру следует считать специфической при условии положительной реакции агглютинации в разведении сыворотки от половины титра до титра, указанного на этикетке. Необходимо учитывать возможность выделения слабо агглютинирующихся штаммов холерного вибриона (до $^1/_4$ титра сыворотки); такие культуры следует испытывать в реакции агглютинации с RO-сывороткой. Последняя используется подобно О-сыворотке в разведениях до указанного титра, но с приготовлением суспензии культуры в бидистиллированной воде. В этих случаях видовая принадлежность культуры устанавливается на основании изучения комплекса всех ее свойств.

В некоторых случаях культура восстанавливает агглютинабельность при неоднократном пассировании через 1% желчный бульон или агглютинация выявляется при прогревании культуры в течение 2 часов при 100°.

Для определения серологического типа холерного вибриона пользуются реакцией агглютинации на стекле с типовыми сыворотками Инаба и Огава, разведенными 1 : 50, при положительной ориентировочной реакции агглютинации ставят развернутую реакцию с той же сывороткой, разведенной до титра.

Положительная реакция с одной из типовых сывороток указывает, к какому серологическому типу принадлежит изучаемая культура холерного вибриона. Реакции на стекле сопровождаются контролем антигена в капле физиологического раствора, а развернутая реакция — контролем антигена и сыворотки в пробирках.

Ферментация углеводов. Холерные вибрионы активны в биохимическом отношении; диагностическое значение для возбудителя холеры имеют три углевода: сахароза, маннноза и арабиноза. Для изучения фермен-

тативной активности используют среды Гисса (1% пептонная вода pH 7,1—7,2, содержащая 0,5—1% испытуемого углевода и 1% индикатора Андреде либо 0,02% спиртового раствора бромтимолового синего). Удобны стандартные сухие среды, представляющие собой в готовом виде полужидкий агар с углеводом и индикатором ВР, при помощи сред одновременно выявляется и подвижность (диффузное помутнение среды). Ферментацию углеводов учитывают после 18—24 часов культивирования при 37°, хотя вследствие быстрого размножения вибрионов Эль-Тор изменение среды может наступать значительно раньше (в течение 6—12 часов). Холерные вибрионы ферментируют сахарозу и маннозу с образованием кислоты без газа и не разлагают арабинозу, т. е. относятся к первой ферментативной группе по Хейбергу.

Признак ферментации углеводов не является специфическим только для холерных вибрионов и оценивается в комплексе других диагностических признаков, в первую очередь серологических.

Ферментативные группы по Хейбергу

Группа	Маннноза	Сахароза	Арабиноза
I	+	+	—
II	—	+	—
III	+	+	+
IV	—	+	+
V	+	—	—
VI	—	—	—
VII	+	—	+
VIII	—	—	+

Тесты с холерными бактериофагами. При определении биотипов холерных вибрионов используются холерный бактериофаг «С» и Эль-Тор II, выпускаемые в жидком виде, в ампулах.

Для постановки реакции в чашки разливают питательный агар (1,5—2%) с pH 7,4—8,0. После застывания агара и подсушивания его в течение 30 минут при 37°, дно чашек делят на секторы, по количеству 10-кратных разведений фага, начиная от цельного до рабочего. В пробирку с 3 мл 0,6% агара Хоттингера, расплавленного и охлажденного до 46°, добавляют 0,1—0,2 мл 3—4-часовой бульонной культуры изучаемого штамма вибриона, тщательно смешивают и выливают на поверхность

агара в чашку Петри. После застывания слоя агара чашки подсушивают при комнатной температуре 30 минут с приокрытыми крышками. В центр секторов наносят петлей диаметром 2—3 мм по капле разведений фагов С и Эль-Тор II. Рабочее разведение фага указано на этикетке ампулы; разведение готовят на бульоне Хоттингера. Чашки после нанесения фага выдерживают 15—20 минут при комнатной температуре для подсыхания капель фага, затем перевертывают вверх дном и помещают в термостат при 37°. Результаты учитывают через 12—16 часов, в экстренных случаях — через 4—6 часов. Наличие лизиса в виде одного «стерильного» пятна или группы мелких пятен на месте нанесения бактериофага в рабочем разведении оценивают как положительный результат.

Гемолитическая активность холерных вибрионов определяется с помощью реакции Грейга. К 1 мл суточной культуры на бульоне Мартена или Хоттингера добавляют 1 мл 1% взвеси стерильно взятых эритроцитов барана. Вместо бульонной культуры можно пользоваться суточной агаровой культурой (взвесь в физиологическом растворе, содержащая 2 млрд. микробных клеток в 1 мл).

Смесь культуры и эритроцитов осторожно перемешивают встряхиванием и помещают на 2 часа в термостат при 37°, а затем до следующего утра выдерживают в холодильнике. Предварительно учет результатов производят через 2 часа инкубации, окончательный — на следующий день. Растворение эритроцитов (*лаковая кровь*) говорит о наступившем гемолизе. Реакция считается положительной, если в контрольной пробирке (взвесь эритроцитов в стерильном бульоне) гемолиз отсутствует. Необходимо пользоваться свежими эритроцитами, так как при хранении они разрушаются.

Признак гемолиза не является специфическим только для холерных вибрионов, так как многие нехолерные вибрионы обладают способностью вызывать гемолиз эритроцитов.

Чувствительность к полимиксину. В расплавленный и остуженный до 45—50° питательный агар (pH 7,6) добавляют полимиксин «М» или «В» из расчета 50 единиц на 1 мл среды. После тщательного перемешивания среду с полимиксином разливают в чашки Петри. На застывшие агаровые пластинки засевают од-

ну петлю 18-часовой бульонной культуры изучаемого штамма. Результаты учитывают после инкубирования посевов при 37° в течение 18 часов. Вибрионы Эль-Тор растут на полимиксиновом агаре, классические холерные вибрионы не растут.

Реакция гемагглютинации с куриными эритроцитами. На предметное стекло помещают каплю физиологического раствора и растирают в ней петлей 18-часовую агаровую культуру вибрионов до получения густой суспензии (примерно 2—4 млрд. в 1 мл). Затем добавляют каплю 2,5 суспензии куриных эритроцитов, дважды отмытых физиологическим раствором. Стекло покачивают до смешивания взвеси эритроцитов и вибрионов. При положительной реакции в течение 1 минуты наступает склеивание эритроцитов. Реакцию сопровождают двумя контролями: а) в каплю физиологического раствора добавляют каплю 2,5% взвеси эритроцитов; б) в капле физиологического раствора суспензируют испытуемую культуру. Контроли должны быть отрицательными (в них не появляются хлопья). При отсутствии куриных эритроцитов могут быть использованы эритроциты морской свинки.

Холерные вибрионы биотипа Эль-Тор агглютинируют куриные эритроциты, классические холерные вибрионы не вызывают их агглютинации.

Способность образовывать ацетилметилкарбинол (реакция Фогес — Проскауэра). Исследуемую культуру засевают в глюкозофосфатный бульон Кларка (0,5 г пептона, 0,5 г глюкозы и 0,5 г фосфорнокислого калия растворяют в 100 мл дистиллированной воды). После 1—3 суток роста при 37° к 1 мл культуры добавляют 0,6 мл альфа-нафтола (6% раствор в абсолютном спирте) и 0,2 мл 40% раствора едкого калия. Пробирки хорошо встряхивают и помещают в термостат на 1 час. При положительной реакции наступает эозиново-розовое или рубиново-красное окрашивание среды вследствие образования ацетилметилкарбинола.

Гексаминовый тест. Для дифференциации биотипов холерных вибрионов может быть использован так называемый гексаминовый тест. Методика его выполнения заключается в следующем. Вначале готовят среду с гексамином. Кристаллический гексамин (уротропин) в количестве 1 г добавляют к 100 мл питательного бульона

pH 7,1. В другой флакон со 100 мл такого же бульона добавляют 1 г глюкозы. Оба 1% раствора стерилизуют путем фильтрации через бактериальные свечи и хранят при 10°. Перед постановкой реакции от 100 мл раствора глюкозы стерильно берут 50 мл и добавляют 50 мл раствора гексамина. На 100 мл глюкозо-гексаминового бульона добавляют 0,1 мл 1,6% спиртового раствора индикатора бромтимолового синего. Среда должна иметь травянисто-зеленый цвет.

С агаровой культуры (18—24-часового возраста) делают посев петлей на 1 мл бульона Хоттингера или Мартена (pH 7,6); посев на бульоне выращивают в течение 24 часов, после чего делают пересев петлей (0,3 мм) на 1 мл глюкозо-гексаминовой среды. Засеянные среды помещают при 37°. Результаты учитывают через 6 и 24 часа. Вибрионы биотипа Эль-Тор в течение 6—8 часов изменяют цвет среды из зеленого в желтый. Классические холерные вибрионы в течение этого времени не изменяют цвет среды, однако могут изменять ее в более поздние сроки.

Протеолитические свойства изучают при посеве культуры в столбик желатины. Для получения типичной картины разжижения желатины необходимо, чтобы укол платиновой проволоки проходил строго по оси пробирки. Посев оставляют на 2—3 суток при температуре 22—23°. Разжижение начинается обычно через 2 дня, холерные вибрионы дают воронкообразное разжижение желатины с пузырьком воздуха в верхней части. Однако некоторые холероподобные вибрионы дают такую же картину разжижения желатины.

Чтобы ускорить исследование, можно посевы в желатине выращивать при 37° в течение 16—18 часов, а затем для учета результатов пробирки поместить в холодильник на 20 минут одновременно с контрольной незасеянной пробиркой. При положительном результате в засеянной пробирке желатина остается жидкой, а в контрольной затвердевает.

Диастатическая активность. Изучаемую культуру засевают в 1% пептонную воду с 0,5% растворимого крахмала (среда Кодама). Через 6 часов роста в термостате при 37° к среде прибавляют несколько капель раствора Люголя. Ввиду интенсивного разложения крахмала холерными вибрионами синего окрашивания среды не происходит.

Разложение крахмала выявляется также при засеве культуры на среду (1% пептонная вода + 1% растворенного крахмала + 2% индикатора Андреде). Результат учитывают через 12—18 часов по изменению окраски среды. Изменение цвета среды в красный цвет свидетельствует о разложении крахмала.

Для ускоренной идентификации подозрительной на холеру колонии, последнюю отсевают на бульон Хоттингера в объеме 1 мл, инкубируют 3 часа при температуре 37° и проводят следующие исследования:

— Агглютинирующую холерную О-сыворотку разводят в пределах титра стерильным бульоном Хоттингера pH 7,4—7,6 (или 1% пептонной водой, бульоном Мартена) и разливают в пробирки по 0,5 мл каждого разведения, контролем служит 0,5 мл бульона без сыворотки. Затем во все пробирки добавляют по 1—2 капли изучаемой бульонной культуры. Все пробирки помещают в термостат при 37° и через 3—4 часа учитывают результат. При положительной реакции в опытных пробирках наблюдают агглютинацию в виде мелких, компактных хлопьев, в контроле — равномерное помутнение среды. Из контрольной пробирки для изучения морфологии клеток готовят мазки и висячую каплю; для сохранения выделенной культуры и дальнейшего ее изучения делают пересев на скошенный агар.

— С этой 3-часовой бульонной культурой ставят пробу с холерными диагностическими бактериофагами «С» и Эль-Тор II двухслойным методом, описанным выше.

— Несколько капель исследуемой культуры засевают на жидкие среды Гисса с сахарозой, маннозой и арабинозой в объеме 0,5 мл; учет результатов проводят через 3—6 часов.

Положительная реакция агглютинации, чувствительность к диагностическому холерному бактериофагу и принадлежность по биохимической активности к I группе Хейберга дает основание считать эту культуру холерным вибрионом.

Окончательную характеристику штамма дают по результатам полной идентификации.

Нередко к вибрионам относят микробы, принадлежащие к родам Pseudomonas, Aeromonas, Plesiomonas и даже Enterobacteriaceae. Поэтому культуру, имеющую морфологические признаки вибриона, следует из-

учить по тестам, определяющим ее принадлежность к роду Vibrio.

Характерными для вибрионов признаками являются следующие:

Тест	Признак, характерный для вибриона
1. Морфология микробной клетки	Вибрион
2. Наличие и расположение жгутиков	Монотрих
3. Способность роста на щелочных средах	Растет на среде с pH 8,5—9,0
4. Морфология колоний	Характерная (в большинстве случаев)
5. Тест оксидазы	Резко положительный
6. Тест окисления — ферментации (О— F, Хью — Лейфсона)	Окисление и ферментация с образованием кислоты без газа
7. Декарбоксилаза лизина:	+
Дегидролаза аргинина	—
Декарбоксилаза орнитина	+
8. Протеолитическая активность	Желатину гидролизуют
9. Уреазная активность	—

Тест оксидазы. 1. На поверхность 18-часовой агаровой культуры в чашки Петри наносят одну каплю 1% водного раствора пара-аминодиметиланилина (гидрохлорида или оксалата), затем добавляют одну каплю 1% спиртового раствора альфа-нафтола. Положительная реакция на оксидазу — ярко-синяя окраска через 1—3 минуты.

2. На поверхность 18-часовой культуры в чашке Петри наносят несколько капель 1% водного раствора тетраметил-пара-фенилендиамина (дигидрохлорида) или диметил-пара-фенилен-диамина (дигидрохлорида). Реактивом окрашивают намеченные колонии и быстро наклоняют чашку набок. Через 20—30 секунд колонии вибрионов в направлении от периферии к центру стойко окрашиваются в темно-красный цвет.

Оксидазоположительные колонии в течение часа могут быть использованы в качестве антигена для реакции агглютинации с холерными диагностическими сыворотками.

Оксидазная реакция положительная у вибрионов и бактерий Pseudomonas, B. faecalis alcaligenes, отрицательная — у бактерий кишечной группы.

Оксидазные реактивы следует хранить в темной склянке, в холодильнике и использовать в течение не более 2 недель.

Тесты окисления—ферментации (О—F). Среда (на 1 л): пептон — 2 г, NaCl — 5 г, K_2HPO_4 — 0,3 г, бромтимоловый синий (1% водный раствор) — 3 мл, агар-агар 3 г.

Полученную таким образом цветную полужидкую среду разливают в пробирки по 3 мл и стерилизуют при 120° в течение 15 минут. После стерилизации добавляют 10% раствор глюкозы, простерилизованный фильтрованием, до конечной концентрации 1% (на 3 мл среды 0,3 мл 10% глюкозы). Засевают 2 пробирки, после чего в одну из пробирок добавляют вазелиновое масло (примерно 0,5 мл). Пробирки инкубируют 4 дня, положительная реакция наступает обычно в течение первых суток. Окисление определяют по желтой окраске в открытой пробирке, ферментацию — по той же окраске в закрытой маслом пробирке.

Вибрионы дают положительные тесты окисления и ферментации; бактерии Pseudomonas — только тест окисления, Aeromonas и Proteus образуют кислоту и газ в той и другой пробирке, фекальный щелочеобразователь дает синее окрашивание среды. Представители кишечной группы обладают различными свойствами.

Тесты декарбоксилазной активности. Декарбоксилазную активность определяют на среде Мёллера или среде Биргер и Крушинской.

1. Пептон — 5 г, экстракт молодого мяса (1 кг мяса + 1 л дистиллированной воды) — 5 г, бромкрезолпурпур (1,6%) — 0,625 мл, крезол-рот (0,2%) — 2,5 мл, глюкоза — 0,5 г, пиридоксаль — 5 мг (можно взять витамин B_6), дистиллированная вода — 1000 мл.

2. Гидролизат казеина — 0,5%, дрожжевой экстракт — 0,3%, глюкоза — 0,1%, индикатор бромтимоловый синий (0,1% раствор в 20% спирте) — 4,5 мл, дистиллированная вода — 100 мл.

Устанавливают pH среды 6,0 (оптимум действия декарбоксилаз), среду разделяют на равные части и добавляют аминокислоту. В одну часть аминокислоту не добавляют, эта порция служит контролем. В остальные порции вносят соответственно: в первую — 1% лизина, во вторую — 1% орнитина, в третью — 1% аргинина. Аминокислоты должны быть в L-форме;

если имеются DL-аминокислоты, то добавляют 2%, так как микроорганизмы активны только против L-форм. В пробирке с орнитином pH устанавливают после добавления аминокислоты, но перед стерилизацией. Среду разливают на 2—3—4 мл в пробирки и стерилизуют при 120° в течение 10 минут. Небольшое количество флокулята на среде с орнитином не имеет значения.

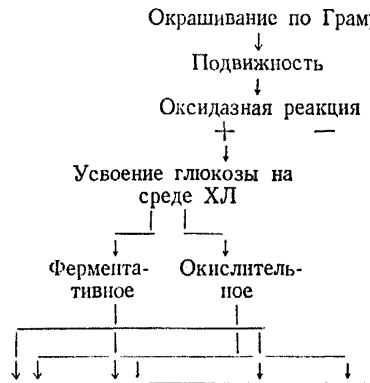
В пробирки производят посев одной полной петли 24-часовой агаровой культуры; тотчас после посева нужно добавить стерильного вазелинового масла в каждую пробирку, включая контрольную. Таким образом, штамм засевают на 4 пробирки: 3 из которых с аминокислотами и 1 контрольная. Наблюдение проводят в течение 4—5 суток инкубации при 37°. На положительную реакцию указывает изменение цвета среды до красно-фиолетового в первой среде и синего цвета — во второй.

Для вибрионов характерно декарбоксилирование лизина и орнитина; аргинина они не изменяют. Микробы Pseudomonas и Aeromonas не изменяют лизина и орнитина, но декарбоксилируют аргинин. Фекальный щелочеобразователь не активен по отношению к аминокислотам. Патогенные микробы кишечной группы ведут себя по-разному.

Определение уреазной активности проводится на среде Кристенсена, которую готовят следующим образом. К 1 л дистиллированной воды добавляют: сухого пептона — 1 г, NaCl — 5 г, KH_2PO_3 — 2 г, глюкозы — 1 г, агара — 29 г, индикатора фенолового красного — 0,012 г (предварительно его растворяют в 1 мл спирта), pH среды устанавливают 6,8 без индикатора. Среду кипятят до полного растворения агара, разливают в пробирки точно по 5 мл и стерилизуют при 120° в течение 20 минут. После охлаждения среды до 50° в каждую пробирку добавляют по 0,5 мл 20% раствора мочевины, который заранее стерилизуют фильтрацией. Полученную среду охлаждают в наклонном положении (скошенный агар). Посев производят петлей на поверхность среды. Ферментацию мочевины определяют по изменению цвета среды от желтого к красно-фиолетовому в течение 1—2 суток.

Для вибрионов нехарактерно наличие уреазы. Изменение цвета среды резко выражено у протея, а также B. faecalis alcaligenes и Pseudomonas.

При идентификации вибрионов описанные выше тесты используются в определенной последовательности. Чистая культура с лактозо-сахарозой среды или щелочного скошенного агара изучается по схеме:



	Vibrio	Aeromonas	Plesiomonas	Pseudomonas
Аргинин дегидролаза	—	+	+	—
Лизин декарбоксилаза	+	—	+	—
Орнитиндекарбоксилаза	+	—	+	—
Маннит	к	к	—	
Инозит	—	—	к	
Разжижение желатины	+	+	—	

Грамотрицательные подвижные изогнутые или прямые палочки, если они не проявляют оксидазной активности, их относят к роду Enterobacteriaceae. При положительной оксидазной активности и способности окислять глюкозу на глюкозной среде культуру относят к роду Pseudomonas, при наличии ферментативного усвоения глюкозы без газообразования дифференцирование проводят по декарбоксилазной активности в отношении аминокислот аргинина, лизина, орнитина, а также по ферментации маннита и инозита.

В таблице представлены тесты дифференциации рода Vibrio от других микроорганизмов.

При выделении от больных с острыми кишечными заболеваниями НАГ-вибрионов, обладающих признаками, указанными в приведенных таблицах, проводят изучение клеточной популяции по признаку аг-

Род микроорганизма	Свойства													
	оксидаза	усвоение глюкозы на среде ХЛ: окислительное	усвоение глюкозы на среде ХЛ: ферментативное	лизин-декарбоксилаза	орнитин-декарбоксилаза	аргинин-дегидролаза	маннит	инозит	сахароза	манноза	арабиноза	разжижение желатины	индол	H_2S
Vibrio	+	К	К	+	+	—	К	—	К	К	—	+	+	—
Aeromonas	+	КГ±	КГ±	—	—	+	К	—	К	К±	К±	+	+	—
Plesiomonas	+	—	К	+	+	+	—	К	—	—	—	—	—	—
Pseudomonas	+	+	—	—	—	+	К		К			++	±	—
Enterobacteriaceae	—	КГ±	КГ±	+	+	+	К±	К±	КГ±	КГ±	КГ±	+	+	+

глютинабельности, фаголизабельности и серологические исследования сыворотки больного с выделенной от него культурой НАГ-вибриона и антигеном холерного вибриона. Методом ориентировочной реакции на стекле с О-холерной сывороткой изучают не менее 20 колоний на чашке посева нативного материала или 50 колоний на чашке пересева чистой культуры. Если агглютинирующиеся колонии не обнаруживаются, то необходимо предпринять попытку восстановить агглютинабельность и фаголизабельность путем пассажей на обычных средах, средах с желчью или путем пассажей на кроликах-сосунках. Если агглютинабельность О-холерными сыворотками и лизабельность холерными фагами восстанавливаются, то эти штаммы, при наличии и других свойств, относят к холерным. Если не восстанавливается агглютинабельность холерными сыворотками и лизабельность холерными фагами, то штаммы относят к НАГ-вибрионам.

О выделении культуры холерного вибриона следует немедленно сообщить в территориальные органы здравоохранения, Министерство здравоохранения СССР и противочумное учреждение.

Принадлежность выделенной культуры к холерному вибриону подтверждает консультант-специалист противочумного учреждения или член комиссии по идентификации штаммов холерного вибриона. В случае выделения сомнительных культур подтверждение их проводит комиссия по идентификации штаммов холерного вибриона при Главном санитарно-эпидемиологическом

управлении Министерства здравоохранения СССР или отдельные члены комиссии.

Все культуры холерного вибриона по указанию Министерства здравоохранения СССР передаются в противочумные учреждения или уничтожаются с составлением соответствующего акта.

ИЗУЧЕНИЕ ДРУГИХ СВОЙСТВ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Методы определения чувствительности холерных вибрионов к антибиотикам

Для определения чувствительности холерных вибрионов к антибиотикам рекомендуется пользоваться методом серийных разведений.

Широко используемый в практических лабораториях метод диффузии в агар (метод дисков) не рекомендуется, так как этот метод является только качественным ориентировочным, что не дает возможности определить минимальные задерживающие концентрации антибиотиков, и для определения чувствительности холерных вибрионов не точен.

Метод серийных разведений заключается в приготовлении серии разведений антибиотиков в питательной среде и внесении во все разведения исследуемой культуры. Отсутствие или наличие роста отмечается после определенного периода инкубации. Этот метод является наиболее точным количественным методом, так как он дает возможность определить минимальную ингибирующую концентрацию антибиотика для исследуемого штамма микроорганизмов.

Существуют две модификации метода серийных разведений в жидкой и на плотной питательной среде:

— методика на жидкой питательной среде рекомендуется для определения чувствительности единичных штаммов;

— модификация на плотной питательной среде — при большом количестве анализов.

Необходимо отметить большую точность метода на плотной среде, при которой определяется чувствительность к антибиотикам средних вариантов микробной популяции, в то время как при использовании жидкой среды определяется чувствительность наиболее устойчивых вариантов.

Метод серийных разведений в жидкой питательной среде. В качестве жидкой питательной среды используется МПБ, бульон на перевare Хоттингера, содержащий 120—140 мг% аминного азота, мартеновский бульон (pH 7,0—7,2).

Готовят двукратные разведения антибиотиков. Среду разливают по 2 мл в серию пробирок и в первую пробирку добавляют 2 мл раствора антибиотика определенной концентрации, перемешивают, переносят 2 мл в следующую пробирку и т. д. до предпоследней, откуда 2 мл выливают. Последняя пробирка остается контролем пригодности среды для роста данной культуры (для получения более точных результатов готовят дробные разведения, внося в соответствующие пробирки заранее приготовленные растворы с определенной концентрацией антибиотиков).

При приготовлении исходных растворов рекомендуется использовать антибиотики в порошке, которые растворяют в стерильной дистиллированной воде или буферных растворах. Плохо растворимые антибиотики (левомицетин, эритромицин) растворяются в небольшом объеме (0,5—1 мл) 70° этилового спирта, а затем в стерильной дистиллированной воде или буфере. Основные растворы антибиотиков можно хранить в рефрижераторе не более 3—7 дней, кроме антибиотиков-аминогликозидов (стрептомицин, мономицин, неомицин, канамицин), которые можно хранить во флаконах с притертыми пробками в течение 30 дней.

При выборе исходных концентраций антибиотиков стремятся к тому, чтобы серия разведений антибиотиков включала концентрации от наиболее высоких, создаваемых в организме, до концентраций, несколько меньших минимальной подавляющей концентрации для наиболее чувствительных штаммов данного вида микроорганизма. Определение производится с молодыми бульонными 3—4-часовыми культурами или с 18-часовыми бульонными культурами, разведенными бульоном в 500 раз. Во все пробирки с разведениями антибиотиков и в контрольную пробирку вносят по 0,1 мл соответствующего штамма.

Инкубация при температуре 37° в течение 12—18 часов (предварительный результат можно учитывать через 6—8 часов). Пограничной считается последняя пробирка с задержкой роста (прозрачная среда) по

сравнению с наличием роста (помутнение среды) в контрольной пробирке.

Чувствительность культуры измеряется минимальной задерживающей концентрацией антибиотика в мкг/мл или ЕД/мл бульона для данного штамма.

Метод серийных разведений на плотной питательной среде. В качестве питательной среды используется МПА, агар на переваре Хоттингера с содержанием 120—140 мг% аминового азота или мартеновский агар (pH 7,0—7,2).

Особое внимание следует обратить на то, что раствор антибиотика был равномерно смешан со средой.

Агар, разлитый в широкие пробирки по 13,5 мл, расплавляют и оставляют на водяной бане. Готовят разведения антибиотиков с концентрацией, в 10 раз больше той, которую хотят получить в агаре. В пробирки с агаром при температуре не выше 60—65° добавляют по 1,5 мл соответствующего разведения антибиотика, тщательно перемешивают и выливают в чашку. В контрольную пробирку вместо антибиотика вносят 1,5 мл стерильной дистиллированной воды. Чашки делят на секторы, каждый из которых засевают одним штаммом микроорганизмов. Посев можно делать стандартной петлей или пастеровской пипеткой с тонко оттянутым концом. Для определения используются бульонные 3—4-часовые культуры или бульонные 18-часовые культуры, разведенные бульоном в 100 раз. Чашки инкубируют при 37° в течение 12—18 часов.

Рост, соответствующий контролю, отмечается как +, единичные колонии ±, отсутствие роста —.

Чувствительность определяется минимальной задерживающей концентрацией антибиотика в мкг/мл или ЕД/мл агара (± или —).

При описанных методах исследования определяется бактериостатическое действие антибиотиков. При необходимости определения бактерицидного действия при методе серийных разведений в жидкой среде производят пересев культуральной среды из пограничных пробирок с отсутствием видимого роста на чашки с агаром и инкубируют при 37° в течение 48 часов.

При проведении анализа методом серийных разведений на плотной среде производится посев соскоба или блока агара с чашек с задержкой роста в бульон и инкубируют 48 часов при температуре 37°.

Согласно критериям Комитета антибиотиков Министерства здравоохранения СССР и Комитета экспертов по антибиотикам ВОЗ штамм считается чувствительным к антибиотику, если уровень минимальной задерживающей концентрации препарата для данного штамма соответствует концентрациям этого препарата, создаваемым в организме.

Примечание. На основании антибиограммы холерных вибрионов, выделенных в последнее десятилетие, при определении чувствительности холерных вибрионов к антибиотикам рекомендуется следующий уровень концентраций антибиотиков в сериях разведений:

Тетрациклины Левомицетин	10—5—2,5—1,25—0,62—0,31—0,15—0,07 мкг/мл
Аминогликозиды (стрептомицин, мономицин, гентамицин, канамицин, неомицин) Эритромицин Ампициллин	80—40—20—10—5—25—1,25 мкг/мл
Полимиксин —	800—400—200—100—50—25—12,5—6,25—3,12—1,5 ЕД/мл

Определение патогенности вибрионов

Существующие методы определения вирулентности холерных вибрионов также не являются достаточно надежными. Однако в комплексе с другими показателями они могут быть приняты во внимание. Кроме того, изучение свежевыделенных штаммов по этим признакам имеет значение для накопления материала, необходимого для окончательной оценки этих методов.

Определение вирулентности на морских свинках. Для более точного представления о патогенности выделенной культуры холерного вибриона следует заражать морских свинок внутрибрюшинно (1; 2; 4; 8 млрд. микробных клеток) и параллельно вводить 10 000 микробных клеток этого же штамма морской свинке в изолированную петлю тонкого кишечника. Высоковирулентные штаммы вызывают гибель морских свинок при внутрибрюшинном их введении в дозе 1 млрд. и 2 млрд. микробных клеток, а также дают четко выраженную реакцию изолированной петли тонкого кишечника.

Авирулентные штаммы не вызывают гибели животных при внутрибрюшинном заражении и не дают реакции в петле кишечника.

Методы определения холерогенности на крольчатах-сосунках. Изучение холерогенности штаммов вибрионов производится по методике, предложенной Датта и Хаббу (1955) и несколько модифицированной сотрудниками института «Микроб». Рекомендуется определение холерогенности проводить в ближайшее время после выделения штамма; слабо патогенные штаммы в процессе хранения могут потерять способность вызывать синдром холерогенности.

Приготовление культуры вибрионов для заражения. Культуру изучаемого штамма засевают на 1% пептонную воду или питательный бульон (pH 7,6—7,8), выращивают при 37° в течение 3 часов, после чего из среды делают высев на агаровую пластинку (pH 7,6). На следующее утро с агаровой пластинки производят посев петлей на агар Мартена или агар из перевара сердечной мышцы (pH 7,6), скошенный во флаконах. После 4 часов инкубации при 37° производят смыв с агара физиологическим раствором и делают разведения микробов в физиологическом растворе с таким расчетом, чтобы получить в 1 мл следующие концентрации: 1 млрд. 50 млн., 50 млн., 500 тыс., 50 тыс. и 5 тыс. микробных клеток (концентрации 1 млрд. и 500 млн. микробных клеток устанавливают с помощью холерных стандартов мутности ГКИ).

Используют не менее трех заражающих доз: 1 тыс., 100 тыс. и 10 млн. микробных клеток (в 0,2 мл на 100 г веса животных).

В таблице указано, каким образом рассчитывают дозу для заражения (на 100 г веса животного).

Содержание микробов в 1 мл	Содержание микробов в 0,2 мл	Обозначение заражающей дозы
5 тыс.	1 тыс.	10^3 микробных клеток
500 »	100 »	10^5 » »
50 млн.	10 млн.	10^7 » »

На каждую дозу следует использовать не менее 2 животных. Время от разведения культуры до заражения крольчат не должно превышать 2 часов.

Подготовка животных к заражению и техника заражения. Для определения холеро-

генности используют 8—12-дневных крольчат весом 80—160 г (взвешивание производят непосредственно перед заражением). Накануне заражения крольчат отнимают от матери и отсаживают в стеклянные банки либо в металлические биксы, устланные мягкой подстилкой (лигнином). В течение этого времени животные не получают пищи [1].

Для определения по заражению необходимо приготовить следующие инструменты и материалы:

1) станок для фиксации (животных привязывают к доске тесемками);

2) воронка с ватным фильтром или металлический патрон для дачи наркоза;

3) два глазных пинцета, две пары ножниц (большие и малые), два зажима («Кохер» или «Пеан»), два анатомических пинцета, несколько хирургических игл № 4 (малого размера);

4) шелк хирургический (в спирте);

5) скобки Мишеля (в спирте);

6) эфир, спирт, йод;

7) стерильные салфетки и тампоны;

8) шприцы (1 мл) и иглы (для внутрикожных инъекций) по числу изучаемых штаммов.

Животное фиксируют на станке, дают эфирный наркоз; после наступления сна обрабатывают кожу брюшка спиртом, делают по средней линии живота выше пупка разрез длиною 0,5—1 см, отсепаровывая кожу с помощью сложенных ножниц. Делают небольшой разрез брюшины (не более 0,5 см), извлекают небольшой участок петли тонкого кишечника, фиксируют его пинцетом и с помощью шприца вводят в просвет кишки 0,2 мл микробной взвеси. После инъекции петлю погружают в брюшную полость, на брюшную стенку накладывают швы из шелка, а на кожу — скобки Мишеля. Все манипуляции производят асептично. Через $1^1/_2$—2 часа после операции крольчат необходимо покормить теплым коровьим молоком с помощью шприца без иглы; животных, голодавших перед опытом 6 часов, можно начать кормить на следующий день после операции. В дальнейшем их кормят 1—2 раза в сутки в течение всего срока наблюдения (2—3 суток); павших и

[1] Допустимо подвергать крольчат голоданию и на более короткий срок, но не менее 6 часов.

выживших животных исследуют. При вскрытии животных производят посев из кишечника на щелочной агар с последующим рассевом платиновой петлей.

Оценка холерогенности. При положительной реакции холерогенности толстый кишечник резко увеличен, растянут в 2—4 раза, заполнен прозрачной жидкостью типа транссудата, в котором взвешены беловатые очень мелкие хлопья и темные или желтоватые комочки, иногда бывают пузырьки газа; прозрачная жидкость может иметь слегка желтоватый оттенок. Тонкий кишечник гиперемирован, сосуды расширены, он умеренно или резко растянут, заполнен вязким слизистым беловато-желтоватым или полупрозрачным жидким содержимым. Сосуды брыжейки инъецированы.

Со стороны других органов могут быть следующие изменения: кровоизлияние в желудке, тонком и толстом кишечнике, резкое переполнение желудка и мочевого пузыря, анемия и увеличение почек.

При отрицательной реакции внутренние органы без изменений или могут обнаруживаться изменения, которые нужно рассматривать как неспецифические. К ним относятся: гиперемия тонкого кишечника и инъекция сосудов брыжейки без наличия других изменений, наполнение толстого кишечника непрозрачным, цвета «горохового супа», жидким содержимым.

При бактериологическом исследовании органов кроликов-сосунков холерные вибрионы выделяются в основном из желудочно-кишечного тракта.

Холерогенными следует считать штаммы холерных вибрионов Эль-Тор, вызывающие у крольчат в дозах 10^3—10^7 на 100 г веса животного положительную реакцию (растяжение толстого кишечника прозрачной жидкостью типа транссудата). Нехолерогенные штаммы вибрионов не вызывают специфических изменений в кишечнике крольчат, часть из них может обусловливать гибель животных с явлениями диареи и растяжением толстого кишечника, заполненного непрозрачным жидким содержимым.

Тест вытеснения на питательных средах

В опытах необходимо использовать контрольные штаммы классического холерного вибриона и патоген-

ного Эль-Тор вибриона, отличающегося от испытуемого по гемолитическим признакам.

В качестве жидкой питательной среды применяется 1% пептонная вода pH 7,8—8,0, а в качестве плотной — щелочной агар pH 7,8—8,0.

Исследуемый и контрольные штаммы засевают на 5 мл 1% пептонной воды и инкубируют 18—20 часов при 37°. Затем каждую культуру разводят по стандарту ГКИ до концентрации 1 млрд. микробных клеток в 1 мл и титруют десятикратным разведением. Каждый из контрольных штаммов и испытуемый смешивают в равных дозах по 1 млн. микробных клеток и соответственно 1 млн. и 100 000 микробных клеток. Все пробирки помещают в термостат при 37° и высевают по 0,1 мл на две чашки с кровью смесь штаммов и каждый в отдельности: через 1 час из разведения 10^2, через 2 часа — 10^3 и 10^4, через 4 часа — 10^5 и 10^6, через 6 часов — 10^6 и 10^7 и через 24 часа — 10^7 и 10^8. Эти разведения при высеве на чашки дают рост изолированных колоний.

Чашки помещают при 37° на сутки и затем подсчитывают количество выросших колоний гемолитичных и не образующих зон гемолиза.

Штаммы, не вызывающие гемолиза, высевают на чашки с обычным питательным агаром и путем постановки пробы с типовыми бактериофагами или с помощью другой пробы устанавливают принадлежность штамма — к классическому или биотипу Эль-Тор.

Предварительно определяют темп роста смешиваемых штаммов путем подсчета колоний, выросших из 10-кратно растительтрованной микробной взвеси (1 млрд.).

Тест вытеснения считать положительным, если идентифицируемый штамм вытеснил классический холерный вибрион в равной дозе и в соотношении соответственно 1 : 10.

УСКОРЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ

Люминесцентно-серологический метод

Метод дает возможность выявить возбудителя холеры при содержании его в исследуемом материале не менее чем 10^6 микробных клеток в 1 мл.

Этот метод требует наличия в лаборатории люминесцентного микроскопа (МЛ-1, МЛ-2, МЛД-1 и др.) и люминесцирующей холерной сыворотки.

Из нативного материала (испражнений или рвотных масс), из пленки пептонной воды (I и II пересева) или из подозрительной на холеру колонии готовят мазок на одном конце предметного стекла, отступя от края на 1—1,5 см. Обычно из каждого образца готовят 2 мазка. Мазки подсушивают на воздухе и фиксируют 15—20 минут в 96° этиловом спирте без последующего обжигания.

Стекло с фиксированным мазком помещают во влажную камеру (в чашку Петри с влажной фильтровальной бумагой на дне) и на мазок наносят каплю люминесцирующей сыворотки в ее рабочем разведении.

Люминесцирующие холерные антитела представляют собой меченую флюоресцеин-изотиоцианатом эвглобулиновую фракцию холерной сыворотки.

Рабочее разведение сыворотки готовят на физиологическом растворе в соответствии с наставлением.

При исследовании испражнений и других сильно загрязненных материалов рекомендуется люминесцирующую сыворотку разводить бычьим альбумином, меченым родамином (производство института эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи АМН СССР) или нормальной лошадиной сывороткой, которые уменьшают неспецифическое свечение фона препарата.

Через 15—20 минут экспозиции при комнатной температуре мазок промывают в течение 1 минуты в проточной водопроводной воде и 10—15 минут в забуференном физиологическом растворе (0,01 м. фосфатный буфер, pH 7,2—7,4). При отсутствии последнего можно ограничиться промыванием водой нейтральной или слабо щелочной реакции. Затем мазки прополаскивают дистиллированной водой и подсушивают на воздухе. На высушенный мазок наносят каплю забуференного глицерина (9 частей глицерина и 1 часть фосфатного буфера, pH 7,2—7,4) и плотно накрывают покровным стеклом, толщина которого должна быть не более 0,17 мм. Избыток жидкости удаляют фильтровальной бумагой.

Если мазок должен долго храниться, то края покровного стекла заливают парафином.

При просмотре препаратов в люминесцентном микроскопе следует пользоваться нефлюоресцирующим иммерсионным маслом.

При отсутствии такового можно пользоваться коммерческим иммерсионным маслом, к которому следует добавить для гашения собственной люминесценции нитробензол из расчета на 1 мл масла 0,3 мл нитробензола.

В качестве контроля готовят два мазка: 1) из истинных холерных вибрионов или холерной вакцины и 2) из гетерогенных микробов, которые не реагируют с холерными антителами (кишечная палочка в гладкой форме).

Для приготовления мазков из микробной взвеси наиболее удобна концентрация 500 млн. — 1 млрд. микробных клеток в 1 мл.

Положительно оценивается желто-зеленое свечение по периферии клетки (4+ или 3+ в зависимости от яркости свечения). К неспецифическому — относится более или менее тусклое свечение всей поверхности клетки (2+ или 1+). Последнее расценивается как отрицательный результат.

Положительный результат может быть получен через $1^1/_2$—2 часа от начала исследования при содержании холерных вибрионов от 1 млн. микробных клеток и выше на 1 мл. При небольшом содержании вибрионов их можно обнаружить после подращивания материала на жидких и плотных питательных средах. Для этого испражнения или рвотные массы по 0,1 мл высевают на 4 чашки с агаром Хоттингера pH 7,8—8,0. Посевы выдерживают при 37° в течение 3, 4, 5, 6 часов. Затем через 3 часа инкубации на одну чашку наносят 0,2—0,3 мл физиологического раствора или 1% пептонной воды и шпателем смывают рост со всей чашки. Смыв с чашки пастеровской пипеткой наносят на предметные стекла.

После фиксации мазки обрабатывают люминесцирующими глобулинами.

Если через 3 часа подращивания холерные вибрионы не обнаружены, то через 4, 5 и 6 часов инкубации делают смыв и мазки с остальных чашек по методике, указанной выше.

Метод экспрессной серологической идентификации холерных вибрионов с помощью фазовоконтрастного устройства — микроагглютинации (З. В. Ермольева, Н. И. Гивенталь)[1]

Готовят ряд двукратных разведений холерных агглютинирующих сывороток (О, Огава, Инаба) в 1% пептонной воде (pH 7,4), начиная с разведения 1 : 50 до титра (разведения можно готовить в физиологическом растворе с 7,8).

10—12-часовую агаровую культуру вибриона эмульгируют в 1% пептонной воде. Густота взвеси — 1—2,5 млрд. микробных тел по оптическому стандарту (небольшое количество эмульсии можно приготовить «на глаз» из нескольких колоний, выросших на чашке после первичного посева или после пересева на чашку с 1% пептонной воды).

На хорошо обезжиренные предметые стекла большой бактериологической петлей (диаметр петли 5—7 мм) наносят ряд разведений сыворотки (опыт). Капля эмульсии вибриона, взятая той же петлей, смешивается на предметном стекле с первой каплей, накрывается чистым обезжиренным покровным стеклом и рассматривается в фазовоконтрастном устройстве с объективом 40×. Наблюдение ведется от нескольких секунд до 5 минут.

В контрольном препарате (капля пептонной воды + + капля взвеси) наблюдается характерная и «поступательная» подвижность значительной части вибрионов. Часть вибрионов остается неподвижной и как бы «прикрепленной» к предметному или покровному стеклу, что хорошо видно при небольшом вращении микровинта.

В опытных препаратах (капля разведения сыворотки + капля взвеси) наблюдаются явления агглютинации (склеивания) и иммобилизации вибрионов. Степень агглютинации оценивается крестами по 4-балльной системе, аналогично оценке развернутой агглютинации в пробирках. Иммобилизация вибрионов проявляется в виде полного прекращения движения всех или почти

---

[1] Реакция может быть использована при исследовании нативного материала в случае содержания в нем большого количества вибрионов.

всех вибрионов. Оценка интенсивности реакции производится следующим образом:

а) ++++ почти все вибрионы склеены в небольшие компактные конгломераты, внутри которых лишь с трудом можно различить отдельные особи микробов. В течение нескольких секунд можно наблюдать беспорядочные колебательные или вращательные движения отдельных конгломератов, затем полную неподвижность их. Наиболее плотные конгломераты в фазовоконтрастном микроскопе кажутся почти черными. Отдельные изолированные особи микробов могут оставаться как бы фиксированными на стекле и не участвовать в образовании конгломератов;

б) +++ конгломераты образуются с некоторой задержкой (1—2 минуты), но компактные, как в случае четырехкрестовой оценки. Лучше выражены вращательные движения конгломератов и даже отдельных микробов. Отдельные особи вибрионов могут оставаться подвижными в течение 3—5 минут;

в) ++ не вызывающее сомнения образование конгломератов на протяжении 1—4 минут после соединения капель. Конгломераты более рыхлые, чем при 3—4-крестовой оценке. До 5 минут сохраняется колебательное или вращательное движение отдельных конгломератов. Имеются подвижные микробы, но поступательное движение их иногда замедлено. Много вибрионов измененной формы и величины (гигантские особи). Иммобилизация основной массы вибрионов. Много изолированных неподвижных особей (значительно больше, чем в контроле);

г) + медленное (4—5 минут) образование рыхлых конгломератов. Выраженные вращательные и колебательные движения конгломератов. Основная масса микробов неподвижна, но лежит изолированно. Имеется много подвижных, но измененных по форме и величине микробов;

д) ± выраженная иммобилизация основной массы вибрионов без склеивания их в конгломерате в течение 5 минут.

Учету как «положительная реакция агглютинации» в данном разведении подлежат лишь случаи, оцениваемые не ниже чем на 2 креста (++). При этом следует иметь в виду, что тому или иному разведению сыворотки в ряду пробирок соответствует удвоенное оконча-

тельное разведение сыворотки на стекле (петля сыворотки + петля взвеси).

Например: на стекло поместили каплю сыворотки в разведении 1 : 200 и каплю взвеси; реакция получила оценку ++++; результат: «положительная реакция агглютинации в разведении 1 : 400 на 4 креста».

Во всех случаях, когда реакция ставится с гомологичной сывороткой, наблюдается почти полная аналогия с развернутой реакцией агглютинации в пробирках.

В подавляющем большинстве случаев реакция идет с положительной оценкой на 3 креста (+++) до титра сыворотки, редко до половины титра или на одно разведение выше титра. Колебания наблюдаются лишь в оценке интенсивности на 4—3 креста или на 3—2 креста.

Метод иммобилизации и микроагглютинации вибрионов под влиянием специфической холерной О-сыворотки и типовых холерных бактериофагов

Метод дает возможность поставить диагноз в течение нескольких минут при концентрации возбудителя не менее $4{,}3 \times 10$ клеток в 1 мл. На предметное стекло пипеткой или петлей наносят две капли испражнений, смыва с ректального тампона или капли из верхнего слоя I (II) пептонной воды.

Первую каплю накрывают покровным стеклом (контроль), ко второй добавляют каплю О-сыворотки в разведении 1 : 100, перемешивают и также накрывают покровным стеклом. Раздавленную каплю просматривают под микроскопом при увеличении 400—600×, используя конденсор темного поля или фазовоконтрастное устройство.

При наличии в исследуемом образце холерных вибрионов в первой капле отмечается характерная подвижность; во второй капле подвижность вибрионов прекращается через 2—3 минуты.

Для определения типовой принадлежности вибрионов можно пользоваться сыворотками Инаба и Огава в разведении 1 : 50.

Иммобилизация наблюдается также при добавлении к капле исследуемого материала одной капли неразведенного диагностического бактериофага типа С (IV) или Эль-Тор II. Через 2—3 минуты вибрионы теряют

подвижность; при дальнейшем наблюдении вибрионы лизируются.

Реакция иммобилизации специфична и позволяет дать первый сигнальный ответ через 15—20 минут от начала исследования. При отрицательном результате исследование повторяют после 4—6 часов подращивания на 1% пептонной воде.

Реакция агглютинации в пептонной воде с холерной О-сывороткой в разведении до $^1/_2$ титра (Полева—Ермольевой)

Испражнения засевают в 2 пробирки: первая с 1% пептонной водой, вторая содержит 1% пептонную воду с агглютинирующей холерной О-сывороткой в разведении до половины ее титра. Посевы помещают в термостат при температуре 37°. Через 3—4 часа инкубации в термостате просматривают посевы. При наличии холерных вибрионов во второй пробирке отчетливо видна агглютинация.

Реакция агглютинации с холерной О-сывороткой в пептонной воде и проба с диагностическим бактериофагом

Агглютинирующую холерную О-сыворотку разводят в 1% пептонной воде (pH 7,4—7,6) до титра сыворотки в объеме 0,5—1 мл. Контролем служит пробирка с тем же бульоном без сыворотки.

Во все пробирки вносят по 1—2 капли профильтрованного через бумажный фильтр исследуемого материала. Учет результатов через 3—4 часа инкубации при 37°.

В положительных случаях в опытных пробирках агглютинация в виде мелких плотных хлопьев, в контроле — равномерное помутнение бульона.

Для более полного анализа тот же материал одновременно исследуют в пробе с диагностическими холерными бактериофагами двухслойным методом.

Из контрольной пробирки готовят мазки и делают высевы на скошенный агар или агаровую пластинку в чашке Петри для дальнейшего детального изучения культуры.

При исследовании стула больных с тяжелой формой заболевания положительная реакция агглютинации с

холерной О-сывороткой до титра или половины титра и положительная проба с холерным бактериофагом позволяют выдать ответ через 3—5 часов с момента поступления материала в лабораторию. При отрицательных результатах эти же исследования повторяют через 4—6 часов подращивания.

Методика быстрого обнаружения холерных вибрионов в питьевой воде при помощи реакции агглютинации

Метод основан на свойстве холерных вибрионов быстро размножаться при наличии питательных веществ и температуре 37°, опережая рост других водных микробов — сапрофитов. В присутствии специфической агглютинирующей холерной сыворотки одновременно происходит и реакция агглютинации, что выражается в появлении крупных компактных хлопьев, не разбивающихся при встряхивании жидкости. Чем выше содержание холерных вибрионов в исследуемой воде, тем больше образуется хлопьев. При концентрации вибрионов, близкой к порогу чувствительности этого метода, появляется небольшое количество хлопьев, но они хорошо видимы невооруженным глазом.

Так как реакция агглютинации ставится в развернутом виде, то этот метод позволяет не только быстро выявить в воде холерных вибрионов, но и определить титр, в котором они агглютинируются специфической О-холерной агглютинирующей сывороткой, что лежит в основе современной лабораторной диагностики холерных вибрионов.

Предел чувствительности реакции агглютинации в питательной среде без предварительного обогащения равен приблизительно 100 вибрионам в 1 мл исследуемой воды. Поэтому этот метод считается только ориентировочным, дополнительным к основному бактериологическому исследованию и применяется лишь при подозрении на значительное загрязнение питьевой воды холерными вибрионами.

Достоинство методики в том, что она очень проста и легко выполнима в любой диагностической лаборатории.

Ход анализа. 1. К исследуемой воде добавляют основной раствор пептона (pH 7,4) из расчета 1 часть

питательной среды на 9 частей воды. После этого смесь взбалтывают.

Примечание. При наличии в исследуемой воде взвешенных веществ ее предварительно фильтруют через стерильный складчатый фильтр, приготовленный из обычной фильтровальной бумаги.

2. С полученной смесью ставится развернутая агглютинация с холерной агглютинирующей О-сывороткой, при этом разведения сыворотки производят не физиологическим раствором, а указанной выше смесью.

Для этого в штативе помещают ряд пробирок и наливают в первую пробирку 9,9 мл этой смеси, а во все остальные — по 1 мл. Затем в первую пробирку добавляют 0,1 мл агглютинирующей сыворотки, получая разведение ее 1 : 100. Жидкость в пробирке тщательно перемешивают, после чего 8 мл удаляют из пробирки, а 1 мл переносят во вторую пробирку, в которой получается разведение сыворотки 1 : 200. После перемешивания 1 мл жидкости переносят из второй пробирки в третью, где разведение сыворотки становится равным 1 : 400. Из третьей пробирки 1 мл жидкости переносят в четвертую и т. д. В конечном итоге получают ряд пробирок, содержащих по 1 мл смеси испытуемой воды с питательной средой и сывороткой в разведениях 1 : 100, 1 : 200; 1 : 400, 1 : 800 и т. д. до титра сыворотки.

Последняя в ряду пробирка является контрольной, она содержит только 1 мл смеси, в нее сыворотку не добавляют.

3. Штатив с пробирками помещают в термостат при 37° на 6 часов. Следует тщательно следить за температурой в термостате, так как колебание температуры неблагоприятно отражается на росте холерных вибрионов, вследствие чего может произойти задержка реакции агглютинации.

4. Через 6 часов штатив с пробирками вынимают из термостата и производят чтение реакции. В отрицательных случаях во всех пробирках хлопья отсутствуют. В положительных случаях в пробирках, содержащих агглютинирующую сыворотку, появляются легко различимые хлопья. В контрольной пробирке хлопья отсутствуют.

В сомнительных случаях штатив с пробирками помещается в термостат еще на 1—2 часа. За это время в положительных случаях хлопья увеличиваются и становятся ясно различимы невооруженным глазом.

5. При положительной реакции агглютинации из контрольной пробирки приготовляют мазок и после фиксации красят фуксином Пфейффера. В мазках должны обнаруживаться вибрионы.

6. При положительной реакции агглютинации в ответе должен быть указан не только факт обнаружения в исследуемой воде холерных вибрионов, но и титр, в котором они агглютинируются специфической холерной О-сывороткой. Доказательной является положительная агглютинация в титре 1 : 800 и выше при пользовании сывороткой титра 1 : 2000 и 1 : 3200.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью ретроспективного выявления переболевших и вибриононосителей, а также определения напряженности иммунитета у вакцинированных рекомендуются серологические методы выявления антител в сыворотке и испражнениях.

Получение сыворотки для исследования. Для постановки серологических реакций кровь берут из локтевой вены (от 1 до 5 мл). После свертывания сгусток отслаивают от стенки пробирки стерильной стеклянной палочкой или платиновой петлей и пробирки до следующего утра оставляют в холодильнике. Если кровь забирают в день постановки реакции, то пробирки со свернувшейся кровью необходимо центрифугировать 10—15 минут при 3000 об/мин.

При отсутствии возможности исследовать сыворотку немедленно, ее следует сохранять в ампулах при +4°.

Исследовать надо парные сыворотки с интервалом в 7—10 дней.

Реакция агглютинации

Молодая культура холерного вибриона дает более выраженную агглютинацию. Исследуемую сыворотку разводят 1% пептонной водой (pH 7,6) в объеме 1 мл, начиная с разведения 1 : 10 до 1 : 320 или 1 : 640. В качестве антигена используют 3-часовую бульонную культуру, которую по 1 капле вносят в пробирки с растертой сывороткой (лучше использовать культуру, выделенную в данном очаге).

Пробирки ставят на 2 часа в термостат, затем до утра в холодильник при +4° С, после чего отмечают результаты. Реакция сопровождается контролями антигена и сыворотки.

Диагностическими считаются титры агглютинации от 1 : 40 и выше.

Определение вибриоцидных антител в сыворотке

Титр вибриоцидных антител служит показателем напряженности иммунитета как у вакцинированных, так и у переболевших.

а) Макрометод. Для постановки этой реакции исследуемую сыворотку (0,2—0,3 мл) инактивируют в водяной бане при 37° 30 минут для разрушения комплемента. В реакцию вводят заведомо определенное количество комплемента. Для этого используют свежеполученную сыворотку морской свинки в разведении 1 : 20. Можно использовать сухой комплемент, который также разводят физиологическим раствором до титра.

Комплемент разливают в ряд пробирок по 0,9 мл. В первую пробирку вносят 0,1 мл исследуемой сыворотки; после тщательного перемешивания 0,1 мл из первой пробирки переносят во вторую, из второй в третью и т. д. до 10^{10} — 10^{15}. Из последней пробирки 0,1 мл выливают.

Таким образом, получают десятикратные разведения сыворотки в объеме 0,9 мл. Титрацию сыворотки проводят на ледяной бане.

Из односуточной агаровой культуры холерного вибриона классического биотипа или биотипа Эль-Тор готовят взвесь в физиологическом растворе, содержащей в 1 мл 10 тыс. микробных клеток. Стерильной градуированной пипеткой полученную взвесь по 0,1 мл вносят в опытные пробирки с растворенной сывороткой. Штатив с пробирками на 1 час помещают в водяную баню или термостат при температуре 37°.

Через 1 час штатив вновь переносят в ванну с холодной водой и из каждой пробирки отдельной стерильной пипеткой 0,1 мл культуры высевают на чашку с щелочным агаром (pH 7,6). Посев равномерно распределяют по поверхности чашки покачиванием или пипеткой в момент посева. Чашки помещают на 18—24 часа в термостат при температуре 37°, после чего

подсчитывают количество выросших колоний. Контроль: в пробирку вносят 0,9 мл комплемента и 0,1 мл культуры без исследуемой сыворотки. Из контрольной пробирки на чашки с щелочным агаром культуру высевают дважды: до и после часового подращивания в термостате. В первом случае высев делают для уточнения количества живых вибрионов, которое было внесено в опытные пробирки, во втором — как контроль для оценки вибриоцидных свойств исследуемой сыворотки.

За вибриоцидный титр принимают максимальное разведение сыворотки, которое вызвало гибель 50% клеток холерного вибриона, что выявляется при высеве на агаровые пластинки в чашки Петри в сравнении с количеством выросших колоний из контрольной пробирки. Пример вычисления: при высеве из опытных пробирок с разведением сыворотки 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} и т. д. на чашках выросло 0, 0, 5, 10, 15, 30, 38 и т. д. колоний соответственно. При высеве из контрольной пробирки после часовой инкубации при 37° выросло 36 колоний. 50% от этого числа будет составлять 18. При высеве из 5-й пробирки выросло 15 колоний, что меньше 50% в контроле (18). Разведение сыворотки в 5-й пробирке составляет 10^{-5}, следовательно, вибриоцидный титр в данном примере будет составлять 10^{-5}.

б) Микрометод. Для определения вибриоцидных антител микрометодом необходимо иметь в лаборатории микротитратор системы Такачи (Венгрия) или другой подобной системы.

В качестве комплемента используют свежую сыворотку морской свинки, разведенную охлажденным физиологическим раствором 1 : 5.

Из 4-часовой агаровой культуры холерного вибриона серологического типа Инаба и отдельно Огава готовят взвеси в охлажденном физиологическом растворе в концентрации 100 млн. микробных клеток в 1 мл. Приготовленные взвеси смешивают с равным объемом комплемента и помещают в ванночку со льдом.

Исследуемую сыворотку титруют в микротитровальных пластинках по 0,025 мл специальной петлей из набора в таком же объеме физиологического раствора.

Таким образом, получают два ряда разведения одной сыворотки, начиная с 1 : 10, 1 : 20 и т. д. 1 : 1280 (разведение можно увеличить).

В каждую лунку с разведенной сывороткой микротитровальной пипеткой вносят по 0,025 мл охлажденной смеси комплемента и холерных вибрионов. В один ряд вносят приготовленную смесь с вибрионами серологического типа Инаба, во второй ряд такую же смесь, но с вибрионами серологического типа Огава.

Контроль ставят в пробирках: 0,5 мл физиологического раствора +0,5 мл смеси культуры с комплементом.

Пластинки с посевом покрывают пластмассовыми крышками, которые плотно притирают с помощью вазелина или закрывают специальным целлофаном и ставят во влажную камеру при 38—39° вместе с контрольными пробирками.

Через час в каждую лунку с исследуемой сывороткой вносят по 0,1 мл бульона из настоя сердечной мышцы (Дифко) pH 7,6, в контрольные пробирки — по 3 мл того же бульона.

Пластинки вновь плотно закрывают и ставят вместе с контрольными пробирками во влажную камеру при 38—39°.

Через 2—3 часа инкубации микротитровальные пластинки просматривают в проходящем свете с помощью зеркала на черном фоне.

Отмечают лунки, где бульон остается прозрачным и где есть рост вибрионов (бульон в лунках мутный).

Окончательный результат учитывают через 16—20 часов инкубации при +4° С, т. е. на следующее утро при хранении пластинок в рефрижераторе.

При наличии вибриоцидных антител в сыворотке рост холерных вибрионов отсутствует — бульон прозрачный; в отрицательных случаях — бульон в лунке опалесцирует и на дне лунки образуется пуговка из осевших вибрионов.

За титр вибриоцидных антител принимается наивысшее разведение сыворотки, которое обладает еще выраженным вибриоцидным действием.

У переболевших в первые 3—4 недели титр вибриоцидных антител может составлять от 10^{-4} до 10^{-6} у вакцинированных 10^{-4} — 10^{-7} и иногда выше.

Ускоренное определение вибриоцидных антител (ВА) на основе ферментации углеводов (И. В. Домарадский, Е. П. Ерохин, И. Е. Киселева, С. М. Рассудов). Принцип ускоренного

определения ВА на основе ферментации углеводов заключается в том, что о наличии роста вибрионов, т. е. об отсутствии ВА, судят по ферментации сахарозы, регистрируемой с помощью индикатора.

Для постановки реакции необходимы следующие компоненты:

а) сыворотка крови, взятой из вены, инактивированная при 56° в течение 30 минут;

б) V. cholerae classica или V. cholerae El Tor серотипов Огава и Инаба. 18—20-часовые культуры микробов смывают со щелочного агара и разводят 0,1% раствором пептона (pH 7,5—7,6) до концентрации 10^3 клеток в 1 мл;

в) комплемент морской свинки, разведенный 1 : 20 0,1% раствором пептона;

г) 1% сахароза, содержащая 0,1% пептона и 1% индикатора Андреде.

Раствор комплемента разливают в пробирки по 0,45 мл.

В первую пробирку добавляют 0,05 мл исследуемой сыворотки и после тщательного перемешивания переносят 0,05 мл смеси во вторую пробирку, из второй в третью и т. д. (до разведения сыворотки 10^{-8} — 10^{-9}). Во все пробирки вносят по 0,5 мл суспензии клеток холерного вибриона. Указанные манипуляции осуществляют на холеру, для чего штативы с пробирками помещают в кюветы со льдом. Далее пробирки помещают в термостат при 37°. Через час в каждую пробу добавляют по 1 мл раствора сахарозы с индикатором и продолжают инкубацию. Если проб много, сахарозу добавляют на холоду.

Постановку реакции сопровождают следующими контролями:

а) 0,45 мл 0,1% пептона + 0,05 мл исследуемой сыворотки + 0,5 мл культуры + 1,0 мл сахарозы с индикатором — контроль сыворотки;

б) 0,45 мл комплемента + 0,5 мл культуры + 1,0 мл сахарозы с индикатором — контроль комплемента;

в) 0,45 мл 0,1% пептона + 0,5 мл культуры + 1 мл сахарозы с индикатором — контроль культуры.

Через 8—9 часов производят учет результатов реакции. При этом в контролях цвет содержимого пробирок должен перейти в красный или розовый. Изменение цвета индикатора в рабочем ряду, связанное с фермен-

тацией сахарозы размножившимися вибрионами, свидетельствует об отсутствии вибриоцидных антител в исследуемой сыворотке. За вибриоцидный титр принимают то наибольшее разведение сыворотки, при котором цвет содержимого пробирок остается неизменным или интенсивность его значительно отличается от окраски контрольных проб.

Результат реакции выражают в виде десятичного логарифма разведения сыворотки, взятого с обратным знаком.

Использование капиллярной крови для определения вибриоцидных антител. Метод постановки реакции с цельной кровью, взятой из пальца, может быть использован при проведении массовых эпидемиологических обследований, в педиатрической практике, а также в случае невозможности венепункции. Для проведения исследования достаточно 0,2 мл крови.

Кровь берут из мякоти пальца проколом стерильными перьями или иглой Франка обязательно со сменными стерилизующимися копьями при тщательном соблюдении правил асептики. Набирают кровь в микропипетку (0,2 мл) и сразу переносят в пробирку с налитым заранее 0,85% раствором хлористого натрия — 0,9 мл. Тем самым получают исходное разведение в 10 раз, учитывая, что плазма составляет около половины объема крови.

Форменные элементы крови осаждают центрифугированием при 2000 оборотах в течение 10 минут или отстаиванием в течение 3—4 часов. Полученная надосадочная жидкость используется для постановки реакции по обычной методике.

У больных холерой с выраженным алгидным синдромом, когда имеется сгущение крови, с помощью гематокрита определяют объемные отношения между плазмой и эритроцитами и делают соответствующий пересчет последующего разведения плазмы физиологическим раствором.

Использование высушенной сыворотки или крови. При необходимости транспортировки сывороток на значительные расстояния, а также в случае проведения исследования через большой интервал времени после взятия крови целесообразно пользование высушенной кровью или высушенной сывороткой.

Кровь (0,2 мл), полученную проколом мякоти пальца, или сыворотку венозной крови (0,1 мл) выдувают из микропипетки на полоски простерилизованного сухим жаром целлофана или гладкой (непористой) бумаги, помещенных в чашку Петри. Оставляют на сутки при комнатной температуре, затем в чашках пересылают для исследования. В лаборатории снятые с целлофана высушенные капли крови или вырезанные с соблюдением стерильности кружочки бумаги с высушенной кровью помещают в пробирку с 0,9 мл 0,85% раствора хлористого натрия, оставляют на 3—4 часа при комнатной температуре и затем используют для определения вибриоцидных антител.

Реакция непрямой гемагглютинации с использованием холерного антительного эритроцитарного диагностикума (М. Ф. Шмутер)

Холерный антительный эритроцитарный диагностикум применяют для выявления холерных вибрионов или их специфического О-антигена в исследуемом материале (испражнениях, рвотных массах, содержимом кишечника и желчного пузыря трупов лиц, умерших с подозрением на холеру), а также объектов внешней среды, в том числе воды в реакции непрямой гемагглютинации — РНГА, для определения специфичности результатов РНГА с помощью реакции торможения — РТНГА, а также для выявления О-антител к холерным вибрионам в исследуемых сыворотках больных, переболевших, носителей и вакцинированных против холеры путем постановки реакции нейтрализации антигена — РНАг.

Вместе со специфическим препаратом выпускается контрольный диагностикум, приготовленный из этой же серии эритроцитов, но сенсибилизированных гамма-глобулином нормальной лошадиной сыворотки.

Кроме холерного антительного эритроцитарного диагностикума и контрольных эритроцитов, при проведении исследований на холеру с использованием этого диагностикума применяют:

а) 20—50% взвесь стабилизированных, но не сенсибилизированных эритроцитов барана, которые добавляют из расчета 0,1—0,25 мл на 1 мл разведенной сыворотки при постановке РНАг в случаях необходи-

мости адсорбции гетерогенных и групповых антител к бараньим эритроцитам в исследуемых сыворотках;

б) раствор специфического холерного антигена с содержанием 10—100 мкг сухого вещества в 1 мл физиологического раствора с добавлением консерванта;

в) взвесь культуры полноценных по содержанию О-антигена, холерных вибрионов с концентрацией 1 млрд. микробных клеток по кишечному стандарту ГКИ, убитых нагреванием до 80—100° в течение часа с добавлением консерванта;

г) «стандартная» агглютинирующая О-сыворотка с титром в объемной агглютинации не ниже 1 : 1600 — 1 : 3200 с титром в РАНг с антительным холерным диагностикумом не ниже 1 : 20 000. Эта сыворотка используется для нейтрализации антигена, при постановке реакции торможения, а также для определения активности применяемых препаратов.

Подготовка необходимых ингредиентов для проведения серологического исследования с использованием холерного антительного эритроцитарного диагностикума:

а) Приготовление стабилизатора для постановки реакции. В качестве стабилизатора используют нормальную кроличью сыворотку, которую перед применением инактивируют при 56° в течение 30 минут и в необходимых случаях адсорбируют 20—50% взвесью бараньих эритроцитов, как указано выше. Для получения готового стабилизатора сыворотку разводят 1 : 100 — 1 : 200 (1 мл на 100—200 мл физиологического раствора).

б) Приготовление раствора специфического холерного антигена. Стандартный раствор антигена с содержанием 10—100 мкг в 1 мл дополнительно разводят в 10—100 раз до содержания 1 мкг в 1 мл. Этот раствор антигена применяют для определения нейтрализующей дозы и последующего добавления в систему при постановке РНАг.

в) Приготовление рабочей взвеси «стандартной» культуры холерных вибрионов. Для этого 1 млрд. взвесь полноценных по содержанию О-антигена убитой культуры холерных вибрионов дополнительно разводят в 100 раз до концентрации 10 млн. микробных тел в 1 мл по кишечному стандарту ГКИ и применяют в тех же случаях, как и холерный антиген.

г) Холерная агглютинирующая О-сыворотка в разведении 1 : 10. Для приготовления рабочего раствора сыворотку дополнительно разводят в 100 раз до 1 : 1000 и исследуют, начиная с разведения 1 : 4000 в РНАг.

Методика исследования отдельных объектов на холеру с использованием антительного эритроцитарного диагностикума. 1. Выделения от больных с клинической картиной холеры.

При тяжелых формах холеры в испражнениях больных до начала лечения может содержаться огромное количество вибрионов (до $10^8 — 10^9$ микробных клеток в 1 мл). В этом случае уже прямое исследование убитых кипячением испражнений в двухкомпонентной реакции гемагглютинации РНАг с холерным антительным диагностикумом позволяет выявить в испражнениях специфический антиген и, таким образом, поставить предварительный диагноз холеры уже через 2—3 часа после доставки материала. Лучший же результат и в этом случае удается получить после предварительного подращивания испражнений в 1% пептонной воде при 37°. Длительность подращивания зависит от степени обсемененности испражнений вибрионами.

Рвотные массы от больных, как правило, содержат относительно мало вибрионов, поэтому при их исследовании серологическим методом на наличие специфического антигена предварительное подращивание в пептонной воде в течение 6 часов обязательно.

В связи с тем что наличие взвешенных частиц в исследуемых испражнениях и рвотных массах в ряде случаев даже после подращивания в первой пептонной воде может мешать учету результатов, после инактивации (обычно путем кипячения на водяной бане в течение 30 минут) пептонную воду следует профильтровать через бумажный фильтр или еще лучше адсорбировать добавлением 20—50% взвеси бараньих эритроцитов из расчета 0,1—0,25 мл на 1 мл исследуемой пептонной воды с центрифугированием для осаждения добавленных эритроцитов. При исследовании 2 пептонной воды после подращивания в ней исследуемого материала надобность в адсорбции или фильтрации полностью отпадает.

2. Материал от трупов лиц, умерших с подозрением на холеру.

Из трупного материала исследуют на зараженность холерными вибрионами содержимое тонкого кишечника и желчного пузыря. Исследование содержимого тонкого кишечника проводят полностью как при исследовании больных клинической формой холеры либо непосредственно после инактивации, либо после предварительного подращивания в пептонной воде. Что касается исследования содержимого желчного пузыря, то, учитывая, что желчь разрушает антитела даже когда они связаны с рецепторами эритроцитов, исследование нужно проводить только после подращивания ее на пептонной воде.

3. Исследование испражнений на вибриононосительство. Учитывая незначительную обсемененность испражнений от вибриононосителей, исследование таковых проводят только после предварительного подращивания в пептонной воде, при этом во всех случаях отсутствия необходимости в срочной выдаче ответов (при плановом исследовании) лучше отбирать для исследования пробу из 2-й пептонной воды после подращивания. В этих случаях полностью отпадает необходимость в адсорбции или фильтрации. При массовом проведении исследований на вибриононосительство, особенно групповым методом, можно рекомендовать следующую методику.

Из посевов 2-й пептонной воды отбирают по 1—2 мл (или после высева на агар берут всю оставшуюся в пробирке пептонную воду), инактивируют путем кипячения на водяной бане в течение 30 минут. Заранее в лунки полистироловой пластинки наливают по 0,25 мл стабилизатора. Затем в каждую из соответственно пронумерованных лунок (по одной на пробу) добавляют по 0,25 мл инактивированной исследуемой пептонной воды. После этого во все лунки добавляют по 1 капле (0,05 мл) холерного антительного эритроцитарного диагностикума. Пластинку встряхивают, оставляют на $1^1/_2$—2 часа при комнатной температуре, после чего учитывают результаты.

При такой постановке на одной пластинке с 72 лунками можно исследовать 72 групповые пробы испражнений. Используя такой метод обследования в практической обстановке, одному врачу с одним лаборантом удается исследовать не менее 800 групповых проб за рабочий день. При исследовании проб из 2-й пептонной воды практически отсутствуют неспецифические реак-

ции, а также расхождения между результатами серологических и бактериологических исследований.

Для последующего уточнения серологического диагноза при массовом обследовании на вибриононосительство, когда при предварительном исследовании получен положительный результат, прогретую пептонную воду данной пробы исследуют в развернутом ряду для установления массивности накопления антигена (определяют количество нейтрализующих единиц в 1 мл пептонной воды). Одновременно проверяют специфичность результатов путем постановки реакции торможения с добавлением в систему специфической холерной О-сыворотки.

4. Исследование воды. Для исследования используют I и II пептонную воду после 6 часов подращивания.

Проводя предварительное исследование пептонной воды после подращивания (лучше II пептонной) и получив положительный результат гемагглютинации, можно более целенаправленно проводить бактериологическое исследование данной пробы с исследованием значительного количества колоний и таким образом доказать наличие в данной воде вибрионов, агглютинирующихся холерной О-сывороткой.

Следует отметить, что этот принцип можно использовать при исследовании любого материала на зараженность вибрионами, агглютинирующимися О-сыворотками, в том числе при исследовании испражнений, трупного материала и т. п.

5. Исследование других материалов, в том числе объектов внешней среды. Объекты исследуют после предварительного подращивания в пептонной воде с постановкой реакции гемагглютинации в одной лунке, а в положительных случаях с титрацией числа нейтрализующих доз в 1 мл пептонной воды и определением специфичности реакции путем постановки реакции торможения. Одновременно для подтверждения результатов проводят бактериологическое исследование с целью выделения чистой культуры.

6. Исследование сывороток больных, переболевших, носителей, контактных и вакцинированных против холеры на наличие антител. Подлежащие исследованию сыворотки разводят 1 : 5 — 1 : 10 физиологическим раствором и инактивируют путем прогревания в течение

30 минут при 56°. В связи с тем что сыворотки людей в 20—50% всех случаев содержат гетерофильные антитела к бараньим эритроцитам, их адсорбируют 20—50% взвесью бараньих эритроцитов из расчета 0,25—0,1 мл на 1 мл разведенной сыворотки и с такой адсорбированной сывороткой ставят трехкомпонентную реакцию нейтрализации антигена; за титр сыворотки считают максимальное ее разведение с отсутствием гемагглютинации (см. методику постановки и учета реакций).

Применение холерного антительного эритроцитарного диагностикума позволяет обнаружить в исследуемом материале О-антиген без определения серотипа. Для определения типовой принадлежности выделенных культур или зараженности материала требуется приготовление специальных диагностикумов.

Методика постановки реакции непрямой гемагглютинации — РНГА с холерным антительным эритроцитарным диагностикумом. Культуры, взвеси другого материала, пептонную воду после подращивания в ней исследуемого материала, приготовленную, как указано выше, титруют с двукратными интервалами в стабилизаторе для реакции в объеме 0,5 мл. Затем в каждую лунку добавляют по 1 капле (0,05 мл) холерного антительного эритроцитарного диагностикума. Содержимое пластинок осторожно, но тщательно гомогенизируют встряхиванием. Пластинки оставляют на неподвижной поверхности на белой бумаге на $1^1/_2$—2 часа, после чего проводят учет результатов.

Учет результатов проводят по следующей схеме:

++++ полная гемагглютинация — эритроциты выстилают все дно лунки равномерным слоем (иногда отмечается фестончатое оплывание краев агглютината);

+++ выраженная гемагглютинация — на дне лунки образуется выраженный агглютинат несколько меньших размеров; часто края агглютината неровные;

++ слабая гемагглютинация — на дне лунки образуется агглютинат, несколько пре-

	вышающий размеры кольца в контроле; обычно края агглютината неровные;
+ сомнительная гемагглютинация	— на дне лунки образуется ровное кольцо, близкое по размеру к кольцу в контроле, или отмечается зернистость вокруг кольца;
— отрицательная гемагглютинация	— эритроциты выпадают на дно лунки в виде «пуговки» или узкого колечка, как в контроле.

РНГА считают положительной в максимальном разведении с гемагглютинацией не ниже чем на +++. Слабая и сомнительная гемагглютинации (на ++ или +) в учет не принимаются.

Обязательные контроли реакции:

а) взвесь «стандартной» культуры холерных вибрионов или холерного антигена, начиная с 10 млн. микробных клеток культуры или О-антигена (1 мкг в 1 мл) в 0,5 мл стабилизатора с титрацией в 6 лунках + 0,05 мл холерного антительного эритроцитарного диагностикума;

б) 0,5 мл стабилизатора +0,05 мл холерного антительного диагностикума;

в) 0,5 мл стабилизатора + 0,05 мл контрольного диагностикума;

г) 0,5 мл взвеси исследуемого материала в наибольшей в данном опыте взятой концентрации + 0,05 мл контрольного диагностикума.

Контроли а, б и в ставят по одному, независимо от количества исследуемых проб в опыте. Контроль г ставят с каждой пробой исследуемого материала.

Реакцию считают положительной, если во всех перечисленных контролях, кроме контроля а, гемагглютинации не будет, а в контроле а полная или выраженная гемагглютинация будет со взвесью «стандартной» культуры холерных вибрионов с концентрацией не более $1{,}25 \times 10^7$ микробных клеток в 1 мл по кишечному стандарту ГКИ со «стандартным» антигеном не более 0,06 мкг в 1 мл.

Постановка реакции торможения непрямой гемагглютинации — РТНГА. Эта реакция ставится для определения специфичности РНГА. Специфическое подавление гемагглютинации осуществляют добавлением к взвеси исследуемого материала с положительной гемагглютинацией раствора агглютинирующей холерной О-сыворотки в количестве около 20 нейтрализующих доз.

Одна нейтрализующая доза сыворотки — это ее предельное разведение, которое нейтрализует две антигенные единицы холерной культуры или специфического холерного антигена.

Определение нейтрализующей дозы агглютинирующей холерной О-сыворотки проводят следующим образом. В 8 лунок полистироловой пластинки наливают по 0,25 мл стабилизатора, затем в первую лунку добавляют 0,25 мл холерной агглютинирующей О-сыворотки, разведенной 1 : 1000. Добавленный раствор сыворотки титруют путем последовательного переноса по 0,25 мл из одной лунки в другую. В результате получают ряд разведений сыворотки 1 : 2000; 1 : 4000 и т. д. Затем во все лунки добавляют убитую культуру холерных вибрионов или холерного антигена в 0,25 мл с содержанием 2 нейтрализующих доз антигена (определение МНД антигена приведено ниже). В результате во всех лунках будет по 0,5 мл жидкости. Смесь ставят в термостат при 37° на 30 минут, после чего во все лунки добавляют по 0,05 мл холерного антительного диагностикума. Последнее разведение с отсутствием гемагглютинации (торможением таковой) и является минимальной нейтрализующей дозой сыворотки. Например, последняя лунка с отсутствием гемагглютинации 5-я, следовательно в данном случае 1 нейтрализующая доза сыворотки равна 0,5 мл в разведении 1 : 32 000, а 2 нейтрализующие дозы равны 0,5 мл сыворотки в разведении 1 : 16 000. Учитывая, что в РТНГА сыворотку добавляют в 0,25 мл, для добавления в этом количестве 20 доз следует развести 1 : 800, т. е. для РТНГА сыворотка должна быть в 40 раз более концентрированной, чем она была разведена в последней лунке с отсутствием гемагглютинации.

Для постановки РТНГА к ряду двукратных разведений исследуемого материала (на стабилизаторе), давшего положительную РНГА с холерным антительным диагностикумом, взятым в объеме 0,25 мл, добав-

ляют 0,25 мл агглютинирующей холерной сыворотки с содержанием в этом объеме 20 нейтрализующих доз антител. Смеси ставят в термостат при 37° на 30 минут или на 1 час при комнатной температуре. Затем во все лунки добавляют по 0,05 мл холерного антительного диагностикума и проводят учет через $^1/_2$—2 часа инкубации при комнатной температуре. Если результат РНГА специфичен, то в РТНГА положительная реакция гемагглютинации будет ниже, чем в РНГА на 3—5 лунок.

В случае если в РТНГА титр гемагглютинации останется на уровне РНГА, результат последней следует считать неспецифическим.

Таким образом, результат РТНГА, при котором отмечается существенное снижение титра исследуемого материала, подтверждает специфичность РНГА. Обе реакции — РНГА и РТНГА целесообразно ставить одновременно.

В РТНГА дополнительно контролируют:

а) агглютинирующую холерную О-сыворотку в разведении 1 : 100 с контрольным диагностикумом (на отсутствие спонтанной гемагглютинации);

б) специфическую активность холерной агглютинирующей О-сыворотки. Для этого ее раститровывают с рабочего разведения 1 : 1000, примененного в РТНГА в объеме 0,25 мл в 6 лунках. В каждую лунку добавляют по 0,25 мл убитой культуры холерного вибриона, содержащей 2 нейтрализующих дозы антигена. После 30-минутной инкубации при 37° к смеси добавляют 0,05 мл холерного антительного диагностикума. Нейтрализующее гемагглютинацию действие должно проявляться в 4—5 лунках, что соответствует 20 минимальным нейтрализующим дозам сыворотки.

Постановка реакции нейтрализации антигена — РНАг для выявления специфических антител в исследуемых сыворотках. Для постановки РНАг к разведениям исследуемых инактивированных сывороток, взятых в объеме 0,25 мл, добавляют равное количество (0,25 мл) убитой взвеси холерных вибрионов или раствора холерного антигена с содержанием в этом объеме 2 нейтрализующих доз антигена (см. ниже). Смеси оставляют на 30 минут при 37° или на час при комнатной температуре. Затем в каждую лунку добавляют по 0,05 мл

холерного антительного диагностикума. Пластинки встряхивают и оставляют при комнатной температуре на $1^1/_2$—2 часа, после чего проводят учет результатов. Максимальное разведение сыворотки, еще связавшее 2 МНД антигена (с отсутствием гемагглютинации), определяют титр сыворотки. В учет принимают лунки с отрицательной (—) или сомнительной (+) реакцией. Диагностическим титром в РНАг при холере считают титр 1:50 (с отрицательной или сомнительной реакцией гемагглютинации).

Для определения минимальной нейтрализующей дозы антигена (МНД) в 8 лунок полистироловой пластинки наливают по 0,5 мл стабилизатора. В первую лунку добавляют 0,5 мл взвеси убитой «стандартной» культуры холерных вибрионов с концентрацией 10 млн. микробных тел в 1 мл по кишечному стандарту ГКИ или растворе холерного антигена с концентрацией 1 мкг в 1 мл и титруют путем переноса из одной лунки в другую. Затем во все лунки добавляют по 0,05 мл холерного антительного диагностикума. Максимальное разведение культуры или антигена с гемагглютинацией не ниже чем на +++ учитывают как 1 МНД. Например, последняя лунка с такой гемагглютинацией 5-я; в 1-ю лунку добавили 5 млн. микробных тел. После переноса половины во 2-ю лунку в ней осталось 2,5 млн. микробных тел, в 5-й лунке было 156 000 микробных тел; следовательно, в данном примере 1 МНД равна 156 000 микробных тел.

Так как в РНАг следует добавить 2 МНД в 0,25 мл, концентрация микробных тел в 1 мл должна быть в 8 раз более высокой, или для данного примера 1,25 млн. микробных тел в 1 мл.

Для практических целей можно исходить из следующего расчета. Если в РНГА с холерным антительным диагностикумом и использованием взвеси стандартной культуры холерных вибрионов в концентрации 10 млн. микробных тел в 1 мл гемагглютинация будет в 4 лунках, то, следовательно, 1 МНД = 312 000 микробных тел, и для добавления в РНАг следует использовать взвесь культуры с концентрацией 2,5 млн. микробных тел в 1 мл; если гемагглютинация в РНГА будет в 5 лунках, то, как сказано выше, в РНАг следует добавить взвесь с концентрацией 1,25 млн. микробных тел, если же таковая будет положительной в 6 лунках,

то в РНАг следует добавить 0,25 мл взвеси с концентрацией 625 000 микробных тел в 1 мл.

Для контроля правильности добавленной концентрации антигена в РНАг в лунки полистироловой пластинки наливают 0,5 мл рабочего (т. е. взятого в опыт для добавления) раствора антигена или культуры и титруют в 4—5 лунках. После этого во все лунки добавляют по 0,05 мл холерного антительного диагностикума. Учет проводят через $1^1/_2$—2 часа стояния при комнатной температуре. Если раствор антигена или культуры сделан правильно, то выраженная гемагглютинация должна быть в 1—2 лунках, что соответствует 1—2 МНД антигена, взятого в РНАг. Если выраженная гемагглютинация не будет ни в одной из лунок, антигена было добавлено мало и, следовательно, реакции не будет.

При наличии гемагглютинации более чем в 2 лунках антигена добавлено много, следовательно, искусственно снижен титр антител в сыворотке приблизительно в столько раз, в скольких лунках более 2 отмечалась четкая гемагглютинация.

Параллельно с неизвестными сыворотками титруют «стандартную» агглютинирующую О-холерную сыворотку для определения чувствительности диагностикума в конкретном опыте. В РНАг ставят те же контроли, что и в РТНГА, кроме количества МНД агглютинирующей сыворотки.

Срок годности холерного антительного эритроцитарного диагностикума и контрольных эритроцитов к нему 6 месяцев со дня сенсибилизации эритроцитов, при хранении при температуре не выше +6°. В условиях комнатной температуры препарат можно хранить в течение 1 месяца.

Определение копроантител

а) Люминесцентно-серологический метод. В основу данного определения положен непрямой метод Кунса. Предварительно из взвеси односуточной агаровой культуры холерного вибриона (холерного диагностикума), содержащей в 1 мл 500 млн. — 1 млрд. микробных тел, готовят мазки, отступя 1—1,5 см от края предметного стекла. Мазки фиксируют в этиловом спирте 20 минут без последующего обжигания остатков спирта. Каплю испражнений (фильтрата испражнений)

наносят на мазок и помещают во влажную камеру на 20 минут. По истечении этого времени мазки отмывают в течение 10—15 минут в 3 меняющихся порциях забуференного физиологического раствора (0,01 м. фосфорного буфера, pH 7,2—7,4), промывают дистиллированной водой и высушивают на воздухе.

На мазки, обработанные указанным способом, наносят по капле люминесцирующей сыворотки против глобулина сыворотки человека (производства Института эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи АМН СССР) в рабочем разведении. Мазки вновь помещают на 20 минут во влажную камеру при комнатной температуре и отмывают так, как описано выше. На просушенные мазки наносят каплю забуференного глицерина (9 частей глицерина и 1 часть фосфатного буфера, pH 7,2—7,4), накрывают покровным стеклом и просматривают под люминесцентным микроскопом МЛ-1 (МЛ-2, МЛД-1 и др.), снабженным светофильтром возбуждающего света ФС-1 в комбинации с фильтратами СЭС-7 и БС-8 и запирающим фильтром 1. Наличие вибрионов в исследуемых препаратах определяют с помощью фазоконтрастного устройства КФ-4.

При наличии в исследуемом материале копроантител у клеток холерного вибриона четко выражена светло-зеленого цвета периферия (4+, 3+); в отрицательных случаях слабо светится вся клетка (2+, 1+) или свечение отсутствует (—); в последнем случае вибрионы видны только с помощью фазовоконтрастного устройства.

б) Вибриоцидный метод. Образцы стула предварительно фильтруют или центрифугируют 10—15 минут при 5000 оборотах. Фильтрат или надосадочную жидкость в объеме 0,5 мл инактивируют в водяной бане 30 минут при 56°. Полученный после инактивации материал двукратно титруют в растворе комплемента, начиная с разведения 1 : 10 и кончая 1 : 3200, 1 : 6400. Методика дальнейшего исследования описана выше в разделе определения вибриоцидных антител в сыворотке.

Определение токсиннейтрализующих антител

В патогенезе холерного заболевания ведущую роль отводят холерогену (Финкельштейн, 1964, 1965) или токсину 2 по классификации Берроуза (1965).

Установлено, что в организме больных и переболевших образуются специфические иммунные антитела, нейтрализующие холерогенный токсин. Эти антитела могут быть выявлены методами нейтрализации холерогенного токсина в тонком кишечнике кролика-сосунка, лигированном отрезке тонкого кишечника взрослого кролика и кожной пробе по Крейгу.

Для выявления токсиннейтрализующих антител необходимо иметь холерогенный токсин, оттитрованный на крольчатах-сосунках или взрослых кроликах, исследуемую сыворотку и животных.

а) Титрация в тонком кишечнике кролика-сосунка. В опытах используют кроликов-сосунков 8—15-дневного возраста, которые до операции в течение 24 часов голодали. В это время их следует только поить.

Вначале ставят качественную пробу, т. е. определяют наличие токсиннейтрализующих антител в исследуемой сыворотке. С этой целью 0,5 мл сыворотки, разведенной забуференным (pH 7,2) физиологическим раствором 1 : 10, смешивают с 2 единицами холерогенного токсина, разведенного в 0,5 мл фосфатного буфера, инкубируют 1 час при 37° и 0,5 мл вводят внутрикишечно кролику-сосунку. Контроль — такое же соотношение нормальной сыворотки человека, не вакцинированного против холеры и холерного токсина. Методика внутрикишечного введения изложена в разделе об определении холерогенных свойств выделенной культуры. Животных забивают через 8—10 часов и визуально отмечают изменения в тонком и толстом кишечнике. В положительном случае кишечник не изменен. В отрицательном, так же как и в контроле, толстый кишечник растянут прозрачной жидкостью, тонкий кишечник гиперемирован и содержит слизь. Оценка холерогенного синдрома более полно изложена в разделе о патогенности вибрионов.

Примечание. За единицу холерогенного токсина принимают минимальное его количество, которое при внутрикишечном введении кролику-сосунку вызывает ясно выраженный холерогенный синдром.

При наличии токсиннейтрализующих антител в исследуемой сыворотке определяют титр антител, т. е. минимальную токсиннейтрализующую дозу. Для этого готовят двукратные разведения исследуемой сыворотки

в забуференном физиологическом растворе в объеме 0,5 мл.

В пробирки с разведением сыворотки 1 : 20 и выше до 1 : 160 добавляют 0,5 мл холерогенного токсина, содержащего 2 единицы токсичности, и после часового инкубирования при 37° вводят в объеме 0,5 мл внутрикишечно кроликам-сосункам. На дозу следует брать не менее 2—3 крольчат. Результаты учитывают, как описано выше.

Количество токсинейтрализующих антител (титр) в исследуемой сыворотке будет соответствовать разведению сыворотки, нейтрализующей 1 единицу холерогенного токсина.

б) Титрация в кишечной петле взрослого кролика. В опыте используют кроликов весом 1,5—2,5 кг, которых в течение 48 часов не кормят, не дают пить.

Под эфирным наркозом с соблюдением полной стерильности вскрывают брюшную полость по белой линии в средней трети живота. Разрез делают длиной около 10 см. Кохерами зажимают все кровоточащие сосуды. Извлекают тонкий кишечник и, отступая 10—15 см от баугиниевой заслонки (места соединения тонкого кишечника с толстым), накладывают первую лигатуру, а через 10—12 см вторую. Таких сегментов можно сделать 4—6 с разрывами между каждым по 5—10 см.

В процессе операции ассистент должен из шприца увлажнять кишки стерильным физиологическим раствором.

Готовят смеси сывороток с холерогенным токсином, как для титрации на кроликах-сосунках, и вводят (не более 2 мл) в верхнюю часть сегмента рядом с лигатурой. Место введения изолируют новой лигатурой на расстоянии не более 2 см от верхней. В контрольный отрезок вводят токсин (1 единица) в смеси с сывороткой здорового, невакцинированного человека.

Когда операция закончена, кишечник очень осторожно заправляют в брюшную полость, а брюшину послойно зашивают стерильным шелком или кетгутом. На кожу накладывают скобки Мишеля и сверху — полоску пластыря.

Результаты отмечают через 8—10 часов. Кролика забивают, вскрывают брюшную полость и просматривают петли. Из сегментов шприцем извлекают жидкость

и измеряют ее количество. Вычисляют коэффициент из отношения количества жидкости (в миллилитрах к длине отрезка в сантиметрах).

В положительных случаях коэффициент равен 0 или десятым долям. В отрицательных случаях и в контроле — до 2—4.

Если сывороток много, а животных мало, то определяют просто наличие токсиннейтрализующих антител, смешивая 1 мл сыворотки в разведении 1 : 10 с 2 единицами холерогенного токсина.

Смесь, как описано выше, вводят в 1 сегмент и результаты оценивают из отношения опытного сегмента к контрольному.

в) Кожная проба по Крейгу с модификации Зыкина с соавторами. Холерогенный токсин предварительно оттитровывают для определения минимальной кожной дозы. Для этого делают ряд последовательных разведений токсина забуференным физиологическим раствором или фосфатным буфером (pH 7,2). Каждое разведение токсина вводят в объеме 0,1 мл строго внутрикожно в чисто выбритую (выщипанную) кожу кролика или морской свинки светлой масти. Реакцию учитывают через 18 часов. Минимальной кожной дозой следует считать такую, которая вызывает образование инфильтрата не менее 10 мм в диаметре при толщине кожной складки (определяемой циркулем) не менее 5 мм.

При определении токсиннейтрализующих антител в исследуемой сыворотке необходимо приготовить двукратные разведения сыворотки, начиная с 1 : 10 в объеме 0,2 мл, и к каждому разведению сыворотки добавить две минимальные кожные дозы также в объеме 0,2 мл, смесь поставить на 1 час в термостат при 37°, затем ввести по 0,1 мл строго внутрикожно.

Параллельно ставят два контроля: 1) нормальная сыворотка человека + токсин; 2) сыворотка, содержащая токсиннейтрализующие антитела, + токсин. Учитывают реакцию через 18 часов.

При наличии токсиннейтрализующих антител в исследуемой сыворотке инфильтрат отсутствует, отмечают лишь места укола (реакция как во втором контроле); в отрицательном случае кожная реакция идентична первому контролю.

Титр токсиннейтрализующих антител определяют степенью разведения сыворотки, которая нейтрализует 1 кожную дозу токсина.

Реакцию рекомендуется повторять в процессе заболевания и реконвалесценции.

Увеличение титра токсиннейтрализующих антител в 5 раз и более говорит о холерной этиологии перенесенного заболевания.

ВЫДЕЛЕНИЕ ХОЛЕРНОГО БАКТЕРИОФАГА

Выделение холерного бактериофага из испражнений. Выделение бактериофага без подращивания. В пробирку с 5 мл стерильного бульона вносят 1—2 г исследуемых испражнений. После тщательного перемешивания взвесь центрифугируют при 3000 об/мин в течение 30—40 минут или фильтруют через бумажный и бактериальные фильтры (свечи или мембранные фильтры № 2, 3). Фильтрат или надосадочную жидкость испытывают на наличие фага методом агаровых слоев.

Выделение бактериофага с подращиванием. В 5 мл бульона, содержащего 0,5 мл 3-часовой бульонной культуры холерного вибриона, чувствительной к бактериофагу, вносят 1—2 г исследуемых испражнений и тщательно перемешивают. Смесь инкубируют при 37° в течение 4 часов и проверяют на наличие фага по той же методике.

Можно взвесь испражнений в бульоне после перемешивания предварительно профильтровать через бактериальные фильтры и затем добавить в нее 0,5 мл 3-часовой бульонной культуры холерного вибриона. Вторая пробирка — 5 мл бульона и 0,5 мл той же культуры будет служить контролем.

Опытные и контрольные пробирки ставят в термостат и после 2-часовой инкубации просматривают через каждые 30 минут.

При наличии бактериофага в фильтрате испражнений в опытной пробирке рост вибрионов отсутствует или заметно отстает от контрольной, в которой наблюдается рост в виде помутнения. В таких случаях наличие бактериофага подтверждают методом агаровых слоев.

Выделение холерного бактериофага из воды. Для выделения бактериофага из воды (сточной, речной и др.) к 0,5 л исследуемой воды прибавляют 50 мл 10% основного раствора пептона и 10 мл 3-часовой бульонной культуры холерного вибриона, высокочувствительного к бактериофагу. Посевы помещают в термостат при 37° и через 18—20 часов фильтруют через бактериальные свечи или мембранные фильтры № 2, 3. Полученный фильтрат испытывают на наличие в нем бактериофага по методике, указанной выше.

УСТРОЙСТВО И РЕЖИМ РАБОТЫ ХОЛЕРНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ [1]

1. Диагностические исследования на холеру материала, зараженного или подозрительного на зараженность возбудителем холеры, допускаются при наличии разрешения санитарно-эпидемиологического управления Министерства здравоохранения республики или в соответствии с решением противоэпидемического штаба.

2. Диагностические лаборатории должны располагаться в отдельных зданиях или изолированном помещении учреждения, в составе которого они организованы.

3. Временные лаборатории могут размещаться в соответствующим образом приспособленных помещениях, палатках, вагонах и автолабораториях.

4. Диагностическая лаборатория должна иметь два входа: один для сотрудников, другой для приема материалов на исследование.

5. В теплое время года окна и двери лаборатории должны быть закрыты густыми металлическими сетками.

6. В лаборатории должны быть помещения:

— для верхней одежды сотрудников;

— для переодевания защитной одежды;

---

[1] Исследования на холеру материала от больных острыми кишечными заболеваниями, проб воды и др., выполняемые с целью профилактики этой инфекции, могут проводить все бактериологические лаборатории в соответствии с «Правилами устройства и техники безопасности, производственной санитарии и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (1966).

— лаборантская;
— препараторская с установками для стерилизации, варки сред и др.;
— бактериологическая;
— термостатная;
— моечная;
— для обеззараживания с автоклавом и плитой;
— для работы с заразным материалом, состоящее из:
а) предзаразной для надевания защитного костюма;
б) для раздевания и обеззараживания костюма;
в) для приема и первичной обработки заразного материала;
г) посевная;
— для записей;
— душевая;
— туалетная;
— изолятор.

7. Допуск сотрудников к работе с заразным материалом оформляется приказом руководителя один раз в 2 года.

8. Ответственным за выполнение режима в лаборатории является заведующий лабораторией.

9. В помещение, занимаемое лабораторией, допускаются только лица, работающие в ней. Посещение лаборатории не работающими в данной лаборатории может быть допущено только с особого разрешения руководителя учреждения и подлежит обязательному учету в специальном журнале.

10. Ремонтные работы в лаборатории проводятся в присутствии врача или лаборанта с обязательным соблюдением соответствующих правил режима. В лаборатории на это время работа с заразным материалом должна быть прекращена.

11. Время непрерывной работы с заразным материалом в лабораториях ограничивается 3—4 часами, после чего устанавливается часовой перерыв. Вызов из помещения сотрудников в часы работы с заразным материалом запрещается.

12. Работу с заразным материалом по окончании установленного для учреждения рабочего дня можно производить только с разрешения в каждом случае руководителя учреждения и при условии присутствия в лаборатории в это время не менее 2 человек.

13. В период угрозы заноса холеры и во время вспышки холеры в диагностической лаборатории организуется круглосуточное дежурство.

14. Все сотрудники учреждений, которые в процессе своей работы соприкасаются с материалом, подозрительным на зараженность или заведомо зараженным возбудителем холеры, обязательно должны быть вакцинированы. При экстренном развертывании противоэпидемических мероприятий к работе в лаборатории могут быть допущены и лица невакцинированные. В этом случае одновременно с первой прививкой вакцины им назначают курс экстренной профилактики.

Примечание. Лица, имеющие противопоказания к проведению прививок, в виде исключения могут быть допущены к работе с заразным материалом с разрешения руководителя учреждения и подлежат постоянному медицинскому наблюдению. Допуск этих лиц к работе должен быть оформлен приказом по учреждению.

15. Сотрудников, работающих с возбудителем холеры или с материалом, подозрительным на данную инфекцию, обследуют на вибриононосительство при появлении симптомов нарушения функции кишечного тракта, а также во всех случаях допущенных аварий в работе (обязательно с приемом слабительного). Во время вспышки холеры работников лаборатории обследуют на вибриононосительство 1 раз в 10 дней.

16. В случае появления у сотрудников диагностических лабораторий в очаге холеры жидкого стула или других симптомов острых желудочно-кишечных инфекций их отстраняют от работы и госпитализируют в соответствии с общими правилами и показаниями к госпитализации таких больных в очаге холеры. Сотрудники холерных лабораторий, которые не могут явиться своевременно на работу в связи с заболеванием или по другим каким-либо обстоятельствам, обязаны немедленно поставить об этом в известность руководителя учреждения.

17. Вынос сотрудниками из лабораторий за пределы территории учреждения какой-либо лабораторной или хозяйственной посуды, реактивов, инструментария и прочих предметов может проводиться после соответствующей дезобработки и с разрешения руководителя учреждения.

18. Переносить заразный материал по территории учреждения из одного здания в другое нужно в спе-

циально приспособленной металлической посуде в сопровождении лица, допущенного к работе с культурами возбудителя холеры (врач, лаборант).

19. Защитная одежда и белье из лаборатории до передачи в стирку должны быть в обязательном порядке обеззаражены (в 5% лизоле, 3% хлорамине — 2 часа, кипячением в мыльно-щелочном растворе — в течение 1 часа с момента закипания или автоклавированием в том же растворе при 120° в течение 20 минут).

20. Для дезинфекции различных объектов при работе с возбудителем холеры следует предпочтительно пользоваться автоклавированием или кипячением. Из дезинфицирующих средств применяют 1—3—5% растворы лизола или 1—3% раствор хлорамина; 1% раствор лизола используют только при текущей уборке помещений лаборатории.

21. Внутреннюю отделку помещения лаборатории и ее оборудование следует проводить с учетом возможности систематической текущей дезинфекции, а при необходимости — полного обеззараживания.

22. Все сотрудники при входе в помещение, где находится лаборатория, обязаны оставлять пальто, галоши, головные уборы, хозяйственные сумки в отведенном для этого месте, а при входе в лабораторные комнаты надевать защитный костюм (пижаму, тапочки, носки, халат, медицинскую шапочку или косынку).

Примечание. Защитная одежда сотрудников должна быть индивидуальной.

23. Выход из лаборатории как на территорию учреждения, так и за ее пределы в лабораторных халатах, косынках и тапочках, а также производство в них каких-либо хозяйственных работ во дворе учреждения воспрещаются.

24. Вносить в помещение бактериологической лаборатории продукты питания воспрещается. Разрешается заносить в лабораторию письменные принадлежности, рукописи, книги, но хранение их и пользование ими ограничиваются специально отведенным помещением (отдельная комната, предбокснник или коридор). Вносить перечисленные предметы в комнаты и боксы, где производят работы с культурами и другим заразным или подозрительным материалом, не допускается.

25. Курение и питье воды в бактериологических комнатах категорически запрещается и разрешается только в специально отведенном месте.

26. Хранение культур возбудителя холеры, учет их, обмен с другими учреждениями осуществляются согласно специальной инструкции о порядке хранения, обращения и отпуска культур патогенных бактерий, вирусов и других микробов, а также бактерийных токсинов и ядов животного происхождения.

27. Все идентифицированные культуры холерного вибриона заносят в специальный журнал штаммов холерного вибриона с присвоенным каждому штамму номером и сведениями, от кого, когда и кем был выделен штамм. Выделенные и идентифицированные штаммы хранят до получения указания Министерства здравоохранения СССР о передаче или уничтожении. Передача производится согласно действующей инструкции о порядке передачи культур возбудителей особо опасных инфекций. На уничтоженные культуры составляется акт.

28. Дежурный врач ведет точный учет движения рабочих культур за каждый день (посеяно, уничтожено и состоит) в специальном прошнурованном и опечатанном журнале культур, передавая журнал учета по дежурству.

29. Идентификацию и изучение выделенных культур холерного вибриона следует проводить в отдельном боксе.

30. Надписи на объектах с культурами и посевами должны быть сделаны тщательно, с подробным обозначением засеянного материала и указанием даты посева.

31. По окончании работы все термостаты, шкафы и холодильники с заразным материалом опечатываются врачами, в ведении которых находится заразный материал. Перед уходом из лаборатории тщательно проверяют состояние комнат (окна, форточки, горелки, водопроводные краны и пр.), запирают лабораторию на замок и опечатывают.

32. Категорически запрещается оставлять после окончания работы на рабочих столах и вообще на открытых местах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с заразным материалом.

При необходимости оставлять на столах приготовленную для работы бактериологическую посуду с пита-

тельными средами надписанную, но не засеянную в каждом отдельном случае следует на этой посуде делать соответствующую пометку.

33. При работе в бактериологических лабораториях с возбудителем холеры запрещается пипетирование ртом; для этого необходимо применять шланги, груши или автоматические устройства.

34. В случае выхода из комнаты в течение рабочего дня лица, ведущего работу с заразным материалом или с живыми культурами, комната должна быть заперта на замок или выходящий обязан убрать объекты с заразным материалом со стола в термостат, холодильник или сейф и закрыть их на замок, обработать стол, после чего выйти из комнаты.

35. Руки дезинфицируют 70° спиртом, раствором лизола (3%), хлорамина (1%) и тщательно моют с мылом.

36. Дезинфицирующие растворы готовит врач, лаборант или препаратор, за качеством их следит врач. Дезинфицирующие растворы в кристаллизаторах, предназначенные для дезинфекции рук, применяют свежеприготовленными. Введение в практику новых дезинфицирующих средств допускается только после их апробации, с разрешения Министерства здравоохранения СССР.

37. Обеззараживание посевов, посуды и другого зараженного материала производят кипячением в воде в течение $1^1/_2$ часов с момента закипания, автоклавированием при 120° в течение 1 часа или погружением в дезинфицирующие растворы на 5 часов (5% лизол, 3% хлорамин). В последнем случае посуда после обеззараживания тщательно промывается.

38. Работа вне заразного отделения лаборатории производится в защитном костюме, состоящем из пижамы, медицинского халата, шапочки или косынки, носков, тапочек или другой легкой обуви.

Примечание. При отсутствии пижам можно использовать специально выделенные для этого домашнее платье.

39. Все работы, связанные с приемом и первичной обработкой заразного материала, разрешается производить только в заразном отделении лаборатории.

40. В заразном отделении лаборатории должна находиться только самая необходимая для работы мебель

и аппаратура, которая может быть легко продезинфицирована.

41. Перед началом работы в заразном отделении лаборатории надевают другой халат, шапочку или косынку, резиновые перчатки, глубокие галоши (или тапочки).

42. По окончании работы с заразным материалом защитную одежду снимают и подвергают обеззараживанию путем замачивания в дезинфицирующих растворах, автоклавирования или кипячения (обувь обрабатывают снаружи).

43. Полы во всех комнатах заразного отделения лаборатории моют только дезинфицирующим раствором. Весь мусор, собранный в помещении лабораторий, в которых работали с заразным материалом, обеззараживают погружением в дезраствор (не менее чем на 2 часа), автоклавированием, кипячением или сжиганием. Жидкие отходы спускают в канализацию только после обеззараживания.

В бактериологических комнатах канализационной системой не пользуются.

45. При лаборатории, работающей с возбудителем холеры, должен быть предусмотрен изолятор для индивидуальной изоляции сотрудников.

46. При авариях во время работы с заразным материалом в лаборатории (бой посуды с посевами, а также во всех случаях, ведущих к загрязнению заразным материалом окружающих предметов, одежды, открытых частей тела и др.) необходимо провести обеззараживание всех объектов, на которые попал заразный материал или есть подозрение на его попадание, а также помещение, в котором произошла авария. Объем и вид дезинфекции определяются характером аварии.

47. Дезинфекцию открытых частей тела проводят 70° спиртом или 3% раствором лизола, 1% раствором хлорамина; при попадании заразного материала на слизистые оболочки глаз, носа, рта последние немедленно обрабатывают раствором тетрациклина (в 1 мл 200 000 ЕД).

48. О происшедшей аварии и проведенных мероприятиях по ее ликвидации немедленно сообщают руководителю учреждения или его заместителю, которые решают вопрос о необходимости изоляции, назначения профилактического лечения и исследования на

вибриононосительство пострадавшего, учитывая конкретную обстановку.

49. Все случаи аварий и принятые в связи с ними меры подлежат обязательной регистрации.

50. Об авариях во время работы с возбудителем холеры, которые вызывают необходимость профилактического лечения пострадавших, необходимо информировать Главное санитарно-эпидемиологическое управление Министерства здравоохранения СССР. В случае возникновения заболевания информацию и мероприятия осуществляют в установленном порядке.

51. Сотрудники, непосредственно манипулирующие с возбудителем холеры или материалом, зараженным или подозрительным на зараженность этим возбудителем, а также работающие в помещениях, где проводятся исследования такого материала, после окончания работы в лаборатории или при необходимости выезда в другие населенные пункты сроком более чем сутки, проходят пятисуточную обсервацию.

52. На это время за обсервируемым лицом устанавливается ежедневное медицинское наблюдение, ему не разрешается посещение тех комнат, где ведут работу с зараженным материалом.

Режим работы в диагностических холерных лабораториях направлен на обеспечение всеми сотрудниками этих учреждений личной и общественной профилактики против заражения холерой. Соблюдение режима обязательно для всех лиц, работающих в этих лабораториях.

Лица, виновные в нарушении режима, привлекаются к дисциплинарной или уголовной ответственности.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Нормы расходования диагностических препаратов и питательных сред на 1 анализ при исследовании на холеру

№ п/п	Наименование	Единица измерения	При единичных анализах	При массовом исследовании
	I. Диагностические бактерийные препараты			
1	Холерная агглютинирующая сыворотка О	мл	0,5	0,03
2	Холерная агглютинирующая сыворотка RO	»	0,1	0,01
3	Холерная агглютинирующая сыворотка Инаба	»	0,2	0,01
4	Холерная агглютинирующая сыворотка Огава	»	0,2	0,01
5	Холерная антифаговая сыворотка	»	0,2	0,05
6	Холерные диагностические бактериофаги (С, Эль-Тор II)	»	0,2	0,01
7	Холерный диагностикум	»	0,1	0,01
8	Холерная люминесцирующая сыворотка	»	0,05	0,005
	II. Питательные среды			
1	Пептон сухой	г	0,1	0,01
2	Основной раствор пептона: анализ от людей	мл	10,0	10,0
	» из воды	»	102,0	102,0
3	Агар-агар	г	0,5	0,05
4	Агар мясо-пептонный pH 8,0 (готовый)	»	100,0	100,0
5	Агар мясо-пептонный pH 7,2	»	25,0	25,0
6	Бульон мясо-пептонный	»	2,0	0,1
7	Сахароза	»	0,5	0,15
8	Лактоза	»	0,5	0,15
9	Маннноза	»	0,05	0,005
10	Арабиноза	»	0,05	0,005
11	Глюкоза	»	0,1	0,01
12	Теллурит калия: анализ от людей	»	0,001	0,001
	» воды	»	0,015	0,015

НАПРАВЛЕНИЕ

(первичное, повторное — подчеркнуть)

Наименование учреждения, направившего материал на исследование___

_____

Рвотные массы. испражнения (нужное подчеркнуть)_____

Ф. и. о. _____

Возраст_____

Больной, выздоравливающий, контактный, на вибриононосительство: население, медицинский работник, пищевик (нужное цодчеркнуть)

_____

Место работы и должность _____

Адрес _____

ата и часы забора материала _____

Материал направил _____

Дата и время приема материала _____

№ анализа _____

Материал принял _____

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Общие сведения о холере 3
Клиническая диагностика и лечение больных холерой . . . 7
Патогенез 7
Патологическая анатомия 8
Клиника 9
Лечение 14
Устройство и режим холерного стационара 21
Устройство и режим провизорного стационара . . . 25
Эпикриз больного холерой, находившегося в клинике, больнице 28
Карта лечения больного холерой 33
Профилактические мероприятия 34
Организационные мероприятия 34
Санитарно-профилактические мероприятия 35
Санитарно-профилактические мероприятия при угрозе распространения холеры 36
Организационные мероприятия 36
Санитарно-профилактические мероприятия 37
Санитарно-профилактические мероприятия по обеспечению передвижения людей и перевозки грузов из неблагополучных по холере районов 39
Мероприятия по локализации и ликвидации вспышки холеры 43
Ограничительные меры и карантин 44
Выявление больных холерой и острыми желудочно-кишечными заболеваниями 48
Выявление вибриононосителей 50
Выявление лиц, находившихся в контакте с больными холерой и вибриононосителями 50
Транспортировка и госпитализация больных холерой, вибриононосителей, контактных с ними и больных острыми кишечными заболеваниями 51
Эпидемиологическое обследование в очаге холеры . . 52
Эпидемиологический анализ вспышки холеры . . . 53
Санитарно-гигиенические мероприятия в очаге холеры 54
Мероприятия в населенных пунктах после ликвидации вспышки холеры 56
Мероприятия в отношении лиц, перенесших заболевание холерой и вибриононосительство 56
Мероприятия, проводимые среди декретированных групп населения 59
Профилактические и санитарно-гигиенические мероприятия в населенных пунктах после ликвидации вспышки холеры 60

Лабораторная диагностика холеры 62
Порядок взятия и доставки материала на исследование 62
Основные этапы исследования материала 69
Исследование материала от больного, трупа и от здоровых лиц на вибриононосительство 75
Исследование воды, пищевых продуктов и других объектов внешней среды 75
Питательные среды для выращивания холерных вибрионов 77
Методика проверки качества питательных сред . . 81
Идентификация культур холерного вибриона . . . 81
Морфология микробной клетки в окрашенных препаратах 83
Изучение других свойств холерного вибриона . . . 96
Методы определения чувствительности холерных вибрионов к антибиотикам 96
Определение патогенности вибрионов 99
Тест вытеснения на питательных средах 102
Ускоренные методы диагностики холеры 103
Люминесцентно-серологический метод 103
Метод экспрессной серологической идентификации холерных вибрионов с помощью фазовоконтрастного устройства — микроагглютинации (З. В. Ермольева, Н. И. Гивенталь) 106
Метод иммобилизации и микроагглютинации вибрионов под влиянием специфической холерной О-сыворотки и типовых холерных бактериофагов . . . 108
Реакция агглютинации в пептонной воде с холерной О-сывороткой в разведении до $^1/_2$ титра (Полева—Ермольевой) 109
Реакция агглютинации с холерной О-сывороткой в пептонной воде и проба с диагностическим бактериофагом 109
Методика быстрого обнаружения холерных вибрионов в питьевой воде при помощи реакции агглютинации 110
Серологические методы исследования 112
Реакция агглютинации 112
Определение вибриоцидных антител в сыворотке . . 113
Реакция непрямой гемагглютинации с использованием холерного антительного эритроцитарного диагностикума (М. Ф. Шмутер) 118
Определение копроантител 128
Определение токсинейтрализующих антител . . . 129
Выделение холерного бактериофага 133
Устройство и режим работы холерных диагностических лабораторий 134
Приложение 142

gost.e-ecolog.ru