Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

### Дневник

производственной практики

по МДК 04.01. «Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований »

Кошман Кристина Витальевна

ФИО

Место прохождения практики: Фармацевтический колледж (дистанционно)

(медицинская организация, отделение)

с «04» июня 2020г. по «24» июня 2020г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) Жукова М. В.

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) Жукова М. В.

Методический – Ф.И.О. (его должность) Жукова М. В.

Красноярск, 2020

**Содержание**

1. Цели и задачи практики

2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Инструктаж по технике безопасности

6. Содержание и объем проведенной работы

7. Манипуляционный лист (Лист лабораторных / химических исследований)

8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики:**

1. Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам микробиологических и иммунологических исследований.
2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам микробиологических и иммунологических исследований.
3. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
4. Осуществление учета и анализ основных микробиологических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в бактериологической лаборатории.

**Программа практики.**

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ЛПУ.
3. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
4. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- приготовления питательных сред для культивирования различных групп микроорганизмов с учетом их потребностей

- техники посевов на чашки Петри, скошенный агар и высокий столбик агара.

**Освоить умения:**

- готовить материал к микробиологическим исследованиям;

- определять культуральные и морфологические свойства ;

- вести учетно-отчетную документацию;

- производить забор исследуемого материала;

- принимать, регистрировать, материал;

- утилизировать отработанный материал.

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологический лаборатории;

- основные методы и диагностическое значение исследований протеолитических , сахаралитических, гемолитических свойств микроорганизмов, антигенной структуры.

**Тематический план**

**Квалификация Медицинский технолог**

**6 семестр**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Наименование разделов и тем практики** | | | **108** |
| 1 | *Организация рабочего места:*  Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителей воздушно-капельных инфекций и заболеваний передающихся половым путем. | | | 12 |
| 2 | *Микробиологическая диагностика возбудителейинфекционных заболеваний*  ( воздушно-капельных, кишечных инфекций ) | | | 48 |
| 3 | *Иммунодиагностика*  РА, РП, РСК,РИФ, РСК,ПЦР. | | | 12 |
| 4 | *Санитарно – бактериологическое исследование*  воздуха, смывов. | | | 18 |
| 5 | *Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ:*  Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | | | 12 |
| 6 | Дифференцированный зачет | | | 6 |
| **Итого** | | | **108** | |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Дифференцированный зачет | | |

**График прохождения практики.**

**6 семестр**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **оценка** | **Подпись руководителя.** |
| 1 | 04.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 2 | 05.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 3 | 06.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 4 | 08.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 5 | 09.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 6 | 10.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 7 | 11.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 8 | 12.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 9 | 13.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 10 | 15.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 11 | 16.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 12 | 17.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 13 | 18.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 14 | 19.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 15 | 20.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 16 | 22.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 17 | 23.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |
| 18 | 24.06.2020 | 8:00-14:00 |  |  |

**ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Кошман Кристина Витальевна

Группы 307 специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) производственную (преддипломную) практику

с 04.06.2020 по 24.06.2020 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | Виды работ 6 семестр | **Количество** |
| 1. | - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ: | 6 |
| 2. | - прием, маркировка, регистрация биоматериала. | 12 |
| 3. | Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ. | 12 |
| 4. | Изучение культуральных, морфологических свойствисследуемой культуры. | 6 |
| 5 | Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности исследуемой культуры. | 12 |
| 6 | Серодиагностика РА | 6 |
| 7 | РП | 6 |
| 8 | РСК | 6 |
| 9 | РИФ | 6 |
| 10 | РНГА | 6 |
| 11 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; | 12 |
| 12 | участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований | 12 |
| 13 | Санитарная микробиология исследование воздуха | 9 |
| 14 | Санитарная микробиология исследование смывов с рук и объектов  окружающей среды | 9 |

Текстовой отчет

|  |
| --- |
| 1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики: |
| -приём, регистрация, учёт биоматеоиала |
| -определение культуральных свойств биоматериала |
| -определение морфологических свойств биоматериала |
| -ведение учётно-отчётной документации |
| -утилизация отработанного материала |
| -забор биоматериала |
|  |
|  |
| 1. Самостоятельная работа: |
| -работа с нормативными документами |
| -поиск научной информации в сети Интернет |
| -выполнение индивидуального задания |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей: |
| Оформление дневника |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Замечания и предложения по прохождению практики: |
| Замечаний нет |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

Общий руководитель практики **Жукова М.В.**

*(подпись) (ФИО)*

М.П.организации

**ХАРАКТЕРИСТИКА**

**Кошман Кристина Витальевна**

*ФИО*

обучающийся (ая) на \_\_\_курсе по специальности СПО **060604Лабораторная диагностика**

успешно прошел (ла) производственную практику по профессиональному модулю: **Проведение лабораторных микробиологических исследований**

МДК **Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований**

в объеме 108 часов с «04» июня 2020г. по «24» июня 2020г.

в организации Фармацевтический колледж (дистанционно)

*наименование организации, юридический адрес*

За время прохождения практики:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № ОК/ПК | Критерии оценки | Баллы  0-2 |
| ПК 4.1,  ОК13, ОК 12, | - Работа с нормативными документами и приказами. |  |
| ПК 4.1, ПК4.2,  ОК1, 9 | - Организация рабочего места для проведения микробиологических исследований. |  |
| ПК 41 ,  ОК13, ОК 12 | - Прием, регистрация биоматериала. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,  ОК13, ОК 12 | - Прием, регистрация биоматериала. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,  ОК13, ОК 12 | Приготовление общеупотребительных питательных сред, приготовление дифференциально - диагностических сред |  |
| ПК4.2,  ОК1,2, 3, 6, 7, 8 | Техника посевов |  |
| ПК 4.1, ПК4.2,  ОК1, 6, 9 | Изучение культуральных свойств м/о |  |
| ПК 4.1, ПК4.2,  ПО, ОК1, 6, 9 | Изучение биохимических свойств м/о |  |
| ПК 4.2, | Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований биологических материалов, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов; участвовать в контроле качества |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,  ОК13, ОК 11, 12 | - Регистрация результатов исследования. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,  ОК13, ОК 11, 12 | Проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции и стерилизации использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. |  |

«24» июня 2020 г.

Подпись непосредственного руководителя практики

Жукова М.В. /ФИО, должность

Подпись общего руководителя практики

Жукова М.В. /ФИО, должность

м.п.

**Аттестационный лист производственной практики**

Студент (Фамилия И.О.) Кошман Кристина Витальевна

Обучающийся на курсе по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика»

при прохождении производственной практики по

ПМ 04 Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований

МДК 04.01 Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований

с 04.06.2020г. по 24.06.2020г. в объеме \_\_\_\_108\_\_\_ часов

в организации Фармацевтический колледж (дистанционно)

освоила общие компетенции ОК 1 – ОК 14

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

освоил профессиональные компетенции ПК 4.1, ПК 4.2,ПК 4.3, ПК4.4

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Этапы аттестации производственной практики | Оценка |
|  | Оценка общего руководителя производственной практики |  |
|  | Дневник практики | 4 |
|  | Индивидуальное задание | 4 |
|  | Дифференцированный зачет | 5 |
|  | **Итоговая оценка по производственной практике** |  |

Дата 24.06.2020 г. Жукова М.В.

(подпись общего руководителя производственной практики от организации)

МП организации

Дата 24.06.2020 г. методический руководитель Жукова М.В.

(подпись)

МП учебного отдела

**Инструктаж по технике безопасности**

К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинский осмотр, инструктаж по охране труда и пожарной безопасности.

Обязанности при работе:

- Соблюдение правил внутреннего трудового распорядка;

- Соблюдение режимов труда и отдыха;

- Немедленное извещение заведующей отделением о ситуации, угрожающей жизни и здоровью;

- Выполнение требований нормативных документов, инструкций по охране труда, правил пожарной безопасности;

- Выполнение требований личной гигиены, содержание в чистоте рабочего места;

- Необходимо руководствоваться принципом, что все пациенты потенциально инфицированы.

При работе в лаборатории необходимо использовать специальную одежду, сменную обувь, шапочку, средства индивидуальной защиты (фартук прорезиненный, перчатки, нарукавники, очки защитные, маска). После любой процедуры двукратно тщательно моют руки и дезинфицируют их.

При транспортировке биоматериала соблюдают следующие правила:

- Емкости с биоматериалом плотно закрывать пробками;

- Биоматериал транспортировать в штативах, поставленных в контейнеры, биксы или пеналы (на дно помещают салфетку)

- Не вкладывать бланки и другую документацию в пробирки.

- Заполняют всю документацию на чистом столе.

Запрещено:

- Использовать покрытие лаком для ногтей, искусственные ногти, ювелирные украшения;

- Работать с неисправным оборудованием;

- Оставлять включенным в сеть приборы, за исключением некоторых, которые могут находиться в круглосуточном режиме работы;

- Есть в неположенном месте;

- Пипетировать ртом;

- Переливать кровь, сыворотку через край пробирки.

По окончании работы инструменты и перчатки поместить в контейнер для обеззараживания, поверхности столов обработать дезсредством, провести влажную уборку кабинета, кварцевание и проветривание.

1 день.

4.06.2020

**Организация рабочего места**

**Требования, предъявляемые к средам**

Среды должны соответствовать следующим условиям:

1) **быть питательными**, т. е. содержать в легко усвояемом виде все

вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических

потребностей. Ими являются источники органогенов и минеральных

(неорганических) веществ, включая микроэлементы. Минеральные вещества не только входят в структуру клетки и активизируют ферменты,

но и определяют физико-химические свойства сред (осмотическое давление, рН и др.). При культивировании ряда микроорганизмов в среды

вносят факторы роста – витамины, некоторые аминокислоты, которые

клетка не может синтезировать;

2) **иметь оптимальную концентрацию водородных ионов – рН**, так

как только при оптимальной реакции среды, влияющей на проницаемость

оболочки, микроорганизмы могут усваивать питательные вещества. Для

большинства бактерий оптимальна слабощелочная среда (рН 7,2–7,4).

Чтобы во время роста микроорганизмов кислые или щелочные продукты

их жизнедеятельности не изменили рН, среды должны обладать буферностью (содержать вещества, нейтрализующие продукты обмена);

3**) быть изотоничными** для микробной клетки, т. е. осмотическое

давление в среде должно быть таким же, как внутри клетки. Для большинства микроорганизмов оптимальна среда, соответствующая 0,5 %

раствору натрия хлорида;

4**) быть стерильными**, так как посторонние микробы препятствуют

росту изучаемого микроба, определению его свойств и изменяют свойства среды (состав, рН и др.);

5) плотные среды **должны быть влажными** и иметь оптимальную

для микроорганизмов консистенцию;

6) **обладать определенным окислительно-восстановительным потенциалом**, т. е. соотношением веществ, отдающих и принимающих

электроны, выражаемым индексом RH2. Этот потенциал показывает

насыщение среды кислородом. Для одних микроорганизмов нужен высокий потенциал, для других – низкий. Например, анаэробы размножаются при RH2 не выше 5, а аэробы – при RH2 не ниже 10. Окислительновосстановительный потенциал большинства сред удовлетворяет требованиям к нему аэробов и факультативных анаэробов;

7) **быть** по возможности **унифицированным**, т. е. содержать постоянные количества отдельных ингредиентов.

**Желательно, чтобы среды были прозрачными** – удобнее следить за

ростом культур, легче заметить загрязнение среды посторонними микроорганизмами.

**Классификация питательных сред**

Потребность в питательных веществах и свойствах среды у разных

видов микроорганизмов неодинакова. Это исключает возможность создания универсальной среды. Кроме того, на выбор той или иной среды

влияют цели исследования (выделение, выращивание, длительное сохранение микроорганизмов в культурах).

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

**1. Исходные компоненты**

По исходным компонентам различают натуральные, полусинтетические, синтетические среды. Натуральные среды готовят из продуктов

животного и растительного происхождения (мяса, рыбы, молока, овощей, фруктов и др.), поэтому точный состав этих сред неизвестен. Их

используют в том случае, когда хотят вырастить различные виды микроорганизмов.

Чаще всего обычно используют полусинтетические среды, в которых ценные пищевые продукты (мясо и др.) заменены непищевыми:

костной и рыбной мукой, кормовыми дрожжами, сгустками крови и др.

Примером таких сред могут быть мясопептонные среды, в которые,

кроме мясного экстракта и пептона, входят: поваренная соль, фосфат

калия. Полусинтетические среды хороши для выращивания определенных групп микроорганизмов, а также для выделения из среды продуктов их жизнедеятельности: антибиотиков, витаминов.

Синтетические среды готовят из определенных химически чистых

органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных

концентрациях и растворенных в бидистиллированной воде. Важное

преимущество этих сред в том, что состав их постоянен (известно,

сколько и какие вещества в них входят), поэтому эти среды легко воспроизводимы.

**2. Консистенция (степень плотности)**

Среды бывают жидкие, плотные и полужидкие. Плотные и полужидкие среды готовят из жидких веществ, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин.

Агар-агар – это полисахарид, получаемый из определенных сортов

морских водорослей. Он не является для микроорганизмов питательным

веществом и служит только для уплотнения среды. В воде агар плавится

при 80–100°С, застывает при 40–45°С.

Желатин – белок животного происхождения. При 25–30°С желатиновые среды плавятся, поэтому культуры на них обычно выращивают

при комнатной температуре. Плотность этих сред при рН ниже 6,0 и

выше 7,0 уменьшается, и они плохо застывают. Некоторые микроорганизмы используют желатин как питательное вещество – при их росте

среда разжижается.

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

**3. Состав**

Среды делят на простые и сложные. К первым относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду. Сложные среды готовят,

прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма.

2 день.

5.06.2020

**1. К основным** относятся среды, применяемые для выращивания

многих бактерий. Например, это триптические гидролизаты рыбных

продуктов или казеина, из которых готовят жидкую среду (питательный

бульон) и плотную (питательный агар). К ним относят и мясопептонный агар (МПА), который применяют для культивирования

мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов,

и солодовый агар (СА) – применяют для культивирования дрожжей и

плесневых грибов. Такие среды служат основой для приготовления

более сложных питательных сред. В качестве основных иногда

используют синтетические питательные среды, к которым добавляют

аминокислоты, витамины, пептон, дрожжевой экстракт и т.д.

**2. Специальные** среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах. Например, для культивирования стрептококка к средам прибавляют сахар, для пневмококков –сыворотку крови;

**3. Элективные (избирательные)** среды служат для выделения

определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют,

задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Среды

становятся элективными при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении рН. Например, среда Эшби является селективной для рода Azotobacter, в среде Виноградского развиваются только

нитрифицирующие бактерии.

Жидкие элективные среды называют средами накопления. Примером

такой среды служит пептонная вода с рН 8,0. При таком рН на ней активно размножается холерный вибрион, а другие микроорганизмы не растут;

**4. Дифференциально-диагностические** среды применяются для

быстрой идентификации близкородственных видов микроорганизмов,

для определения видовой принадлежности, в клинической

бактериологии и т.д. Принцип построения таких сред основан на том,

что разные виды бактерий различаются между собой по биохимической

активности и имеют неодинаковый набор ферментов, расщепляющих

субстраты, входящие в состав питательной среды.

В состав дифференциально-диагностической среды входят: а)

основная питательная среда, обеспечивающая размножение бактерий; б)

определенный химический субстрат, отношение к которому является

диагностическим признаком для данного микроорганизма; в) цветной

индикатор, изменение окраски которого свидетельствует о

биохимической реакции и наличии данной ферментной системы у

исследуемого микроорганизма.

Например, среда Левина в качестве индикаторов содержит эозин и

метиленовый синий, исходно окрашена в черно-синий цвет. Клетки,

осуществляющие брожение, образуют колонии, окрашенные в черный с

металлическим блеском цвет, а колонии, не обладающие этим

свойством, бесцветны. Данная среда позволяет отличать бактерии рода

Escherichia от бактерий рода Proteus. Для этой же цели на практике

часто используют среду Эндо.

**5. Консервирующие** среды предназначены для первичного посева и

транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание микроорганизмов и подавляется развитие других микроорганизмов.

**Приготовление питательных сред**

По консистенции среды могут быть жидкими, полужидкими, твердыми, сыпучими.

**Жидкие** питательные среды получают при растворении в воде

определенного необходимого набора питательных веществ, макро- и

микроэлементов. По составу они могут быть как натуральными, так и

синтетическими.

Среды в **твердом** состоянии в форме плотных гелей используются

в бактериологии со времен Р. Коха. Наиболее важным преимуществом

использования твердых сред является то, что на них можно выращивать

микроорганизмы в виде колоний, образующихся из отдельных клеток

популяции.

Приготовление твердых питательных сред достигается

добавлением к жидким средам определенных уплотнителей, в качестве

которых могут выступать агар, желатина, силикагель, каррагенан.

Наиболее распространенным из уплотнителей является **агар** –

полисахарид, выделяемый из красных морских водорослей и состоящий

из двух полисахаридов – агарозы (70 %) и агаропектина. Он обладает

рядом полезных свойств, в частности: 1) способен образовывать в воде

гели; 2) плавится при температуре 100 °С и затвердевает при 45 °С; 3)

не расщепляется под влиянием ферментов многих видов

микроорганизмов; 4) термолабильные вещества и живые

микроорганизмы не разрушаются при добавлении к нагретому до 45 °С

расплавленному агару, если смесь сразу же охладить; 5) агаровые гели

имеют высокую степень прозрачности; 6) наиболее часто используемые

концентрации 1,5–2,0 % являются относительно невысокими и их

применение относительно экономично.

**Желатина** – белок, приготовленный из кожи и костей.

«Уплотняющая» концентрация желатины – 17–20 %. Используется для

специальных целей, поскольку образуемый ею гель плавится при

температурах около 30 °С. Кроме того, желатина разжижается

протеолитическими ферментами многих микроорганизмов.

**Силикагелем** называют двуокись кремния (SiO2). Среды на основе

силикагеля (1,5–2,0 %) используют для получения культур автотофных

бактерий, так как при этом в среде отсутствуют органические вещества.

С помощью силикагелиевых сред также можно определять потребности

бактерий в витаминах.

**Каррагенан («растительная желатина»)** – добывается путем

экстракции из определенных видов красных морских водорослей.

Каррагенан дешевле агара, используется в концентрации 2 %, не

разрушается большинством видов бактерий. Однако разливать

приготовленные среды следует при высокой температуре – 55–60 °С.

**Полужидкие** среды содержат гелеобразующее вещество в низкой

(0,3–0,7 %) концентрации и имеют мягкую желеподобную

консистенцию. Такие среды пригодны для изучения подвижности и

хемотаксиса клеток, культивирования микроаэрофилов.

**Сыпучие** среды представляют собой массу в той или иной степени

измельченного и увлажненного сырья (чаще всего растительного).

Основное их назначение – использование в пищевой промышленности

(получение соевого соуса или водки), сельском хозяйстве (силосование

кормов, выращивании грибов) и т. д.

**Определение состава питательной среды** **предполагает**, что при

этом будут учтены и такие биофизические факторы как рН среды,

температура, подача и удаление молекулярного кислорода,

являющимися критическими для роста любой бактериальной культуры.

**Наиболее используемые питательные среды**

**в бактериологической практике**

В бактериологической практике чаще всего используются сухие

питательные среды, которые получают в промышленных масштабах –

триптические гидролизаты дешевых непищевых продуктов (рыбные

отходы, мясокостная мука, технический казеин) и питательный агар.

Сухие среды могут храниться в течение длительного времени, удобны

при транспортировке и приготовлении, имеют относительно

стандартный состав.

3 день

6.06.2020

Методический день

4 день

8.06.2020

**Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (воздушно-капельных инфекций)**

**Менингококки**

Род Neisseria включает два вида микробов, патогенных для человека: N. meningitidis и N. gonorrhoeae. Neisseria meningitidis были выделены из цереброспинальной жидкости больного Вексельбаумом (1887).

**Морфология.** Менингококки - это парные кокки, состоящие из двух бобовидных кокков, лежащих вогнутыми сторонами друг к другу, наружные стенки у них выпуклые (см. рис.4). Размер каждого кокка 0,6-0,8 × 1,2-1,5 мкм. Они полиморфны. Менингококки неподвижны, не имеют спор, образуют капсулу. Грамотрицательны. В чистых культурах располагаются тетрадами и в виде отдельных кокков без определенного порядка, а в мазках, приготовленных из спинномозговой жидкости, чаще располагаются попарно. В гнойном материале находятся внутри лейкоцита.

**Культивирование.** Менингококки - аэробы. Они требовательны к питательным средам, размножаются только на средах, содержащих нативный белок (сыворотку, кровь). Растут при температуре 36-37° С (при 25° С рост прекращается), рН среды 7,4-7,6. Для их размножения необходима влажная среда и повышенное количество углекислоты (фактор, стимулирующий их рост). Посев следует производить на свежеприготовленную среду.

На плотных питательных средах менингококки образуют небольшие 2-3 мм в диаметре, нежные, полупрозрачные, голубоватые, вязкие колонии. В бульоне с сывороткой менингококки дают легкую муть и небольшой осадок. Свежевыделенные штаммы в S-форме. Старые культуры могут диссоциировать, образовывать шероховатые R-формы колоний.

**Ферментативные свойства.** Биохимически менингококки мало активны. Они расщепляют глюкозу и мальтозу с образованием кислоты. Протеолитические свойства у них не выражены (не створаживают молоко, желатин не разжижают).

Патогенность менингококков обусловливается наличием капсулы, которая препятствует фагоцитозу, пи лей, способствующих прикреплению микроба к поверхности эпителиальных клеток, и образованием ферментов: гиалуронидазы и нейраминидазы.

**Токсинообразование.** При разрушении бактериальных клеток высвобождается сильный термоустойчивый эндотоксин, который является липополисахаридом клеточной стенки. При заболевании он обнаруживается в крови и в спинномозговой жидкости больных. Тяжесть заболевания часто зависит от количества накопившегося токсина.

**Антигенная структура.** По полисахаридному (капсульному) антигену менингококки разделяют на серогруппы: А, В, С, D, X, Y U-135 29E (всего девять серогрупп).

Согласно международной классификации основными группами являются А, В и С. Менингококки группы А часто вызывают генерализованные процессы и имеют наибольшее эпидемиологическое значение. Менингококки групп В и С вызывают спорадические заболевания. Остальные серогруппы мало изучены.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Менингококки малоустойчивы. Температура 70° С губит их через 2-3 мин, 55° С - через 5 мин. В отличие от других кокков этой группы они плохо переносят низкую температуру, особенно чувствительны к температурным колебаниям.

Обычные концентрации дезинфицирующих растворов губят их быстро.

**Восприимчивость животных.** В естественных условиях животные не чувствительны к менингококкам. Но при субдуральном введении менингококков обезьянам можно вызвать у них заболевание.

Внутрибрюшинное заражение морских свинок и белых мышей вызывает их гибель за счет действия эндотоксина.

**Источники инфекции.** Больной человек и бактерионоситель.

**Пути передачи**. Основной путь воздушно-капельный.

**Заболевания у человека:**

1) назофарингит;

2) менингококкцемия;

3) цереброспинальный эпидемический менингит.

**Патогенез.** Попав на слизистую оболочку носоглотки, менингококки могут там локализоваться, обусловив носительство или вызвать острый назофарингит. Если они проникают в лимфатические сосуды, кровь и генерализуются, то вызывают глубокие изменения в паренхиматозных органах за счет действия эндотоксина. Развивается менингококкцемия. При проникновении менингококков в мозговые оболочки возникает гнойное воспаление - менингит. При менингококковом менингите спинномозговая жидкость мутная (в отличие от туберкулезного менингита). При спинномозговой пункции жидкость вытекает струей вследствие повышенного внутричерепного давления. Менингеальные явления характеризуются головной болью, ригидностью затылка, рвотой и т. д. Менингитом чаще болеют дети. У взрослых чаще заражение ограничивается носительством или назофарингитом.

**Иммунитет**. Постинфекционный иммунитет напряженный, он обусловливается опсонинами, комплементсвязывающими и бактериоцидными антителами. От интенсивности образования антител к полисахаридным и белковым антигенам зависит течение заболевания.

**Профилактика.** Сводится к раннему выявлению носителей, изоляции заболевших назофарингитом. Больные подлежат госпитализации.

**Специфическая профилактика.** Разработана химическая вакцина, состоящая из полисахаридов серогрупп А и С. Для экстренной профилактики используется иммуноглобулин.

**Лечение.** Антибактериальные препараты - пенициллин, левомицетин, ампициллин.

5 день

9.06.2020

**Возбудитель дифтерии**

Возбудитель дифтерии относится к роду Corynebacterium (от лат. coryna - булава, diphthera - пленка). Бактерии имеют булавовидные утолщения на концах. К этому роду относятся патогенные для человека дифтерийные палочки и непатогенные виды - ложнодифтерийные палочки и дифтероиды, обнаруживаемые на слизистых оболочках и кожных покровах.

Возбудители дифтерии - Corynebacterium diphtheriae - были обнаружены Т. Клебсом (1883) и выделены в чистом виде Ф. Леффлером (1884).

**Морфология.** Возбудители дифтерии слегка изогнутые, тонкие палочки, размером 3-6 × 0,3-0,5 мкм, на концах которых имеются утолщения. В этих утолщениях имеются зерна волютина (зерна Бабеша - Эрнста). Бактерии дифтерии неподвижны, не имеют спор и капсул. Грамположительны. Они хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями, при этом волютиновые зерна окрашиваются интенсивнее. Для окраски обычно применяют щелочной метиленовый синий или кристаллический фиолетовый. Особенностью коринебактерий дифтерии является их полиморфность; в одной кулатуре встречаются различные по форме и размерам палочки: изогнутые, прямые, длинные, короткие, толстые, иногда коккобактерии. Характерно расположение бактерий в мазках - они обычно располагаются попарно под острым или тупым углом, в виде растопыренных пальцев и т. д. Расположение в мазках и наличие зерен волютина является дифференциально-диагностическим признаком при микроскопическом исследовании. Непатогенные представители рода коринебактерий - ложнодифтерийные палочки и дифтериоды чаще располагаются в виде частокола, зерна волютина у них могут отсутствовать либо быть на одном конце (см. рис. 4).

**Культивирование.** Коринебактерий дифтерии - факультативные анаэробы. Растут при температуре 35-37° С, рН среды 7,4-7,8. Они не размножаются на обычных питательных средах. Культивируют их на средах, содержащих кровь или сыворотку.

В конце XIX века французский ученый Э. Ру для культивирования бактерий дифтерии предложил использовать свернутую бычью или лошадиную сыворотку, а Ф. Леффлер рекомендовал добавлять к ней бульон (25%) и 1% глюкозу. На этих средах коринебактерий растут быстро, в течение 14-18 ч образуют несливающиеся выпуклые колонии кремового цвета (рост на скошенной среде напоминает шагреневую кожу). Однако отдифференцировать на этих средах дифтерийные палочки от ложнодифтерийных невозможно.

В настоящее время основными средами для выращивания являются среда Клауберга (содержащая сыворотку крови и теллурит калия), хинозольная среда Бунина, среда Тинсдаля и др. На основании культуральных и ферментативных свойств коринебактерий дифтерии делят на три биовара: гравис (gravis), ми тис (mitis), интермедиус (intermedins). Биовар гравис обычно находится в R-форме. На среде Клауберга бактерии этого биовара растут в виде крупных колоний 2-3 мм, серовато-черного цвета (так как восстанавливают теллурит в теллур), имеют изрезанные края, что придает им вид розетки. При прикосновении к колонии петлей она как бы рассыпается. На бульоне бактерии этого биовара образуют крошащуюся пленку и зернистый осадок.

Коринебактерии биовара митис (mitis) на среде Клауберга растут в виде небольших, гладких колоний (S-форма) черного цвета. На бульоне они дают равномерное помутнение.

Коринебактерии биовара интермедиус (intermedins) являются промежуточными. На среде Клауберга бактерии этого биовара чаще растут в виде блестящих, мелких, черных колоний (этот биовар встречается редко).

**Ферментативные свойства.** Все три биовара дифтерийных бактерий обладают ферментом цистиназой, расщепляющим цистин с образованием сероводорода. Эти свойства используются для дифференциации возбудителей дифтерии от непатогенных представителей этого рода.

**Токсинообразование.** Вирулентные штаммы возбудителей дифтерии продуцируют экзотоксин. Химически он представляет собой термолабильный белок, состоящий из Двух фракций. Фракция В фиксирует токсин на чувствительных к нему тканях организма. Фракция А ответственна за токсическое действие. Силу токсина дифтерийных культур можно устанавливать "in vivo" на чувствительных к этому токсину морских свинках. Dim дифтерийного экзотоксина - минимальная смертельная доза, это минимальное количество яда, убивающее морскую свинку массой 250 г на 4-й день.

Наличие экзотоксина можно обнаружить также "in vitro" - на плотной питательной среде. Этот метод широко используется в практической работе. Дифтерийный экзотоксин малоустойчив. Он быстро разрушается под влиянием температуры, света и кислорода воздуха. После добавления к токсину формалина (0,3-0,4%) и выдерживания его при температуре 37-38° С в течение нескольких недель он переходит в анатоксин, который теряет ядовитость, но сохраняет антигенные свойства токсина. Токсины, образуемые различными штаммами, не различаются между собой и могут быть нейтрализованы дифтерийным антитоксином.

**Антигенная структура**. У бактерий дифтерии имеется поверхностный термолабильный белковый антиген и типоспецифический полисахаридный О-антиген. Кроме этого, среди коринебактерий различают 19 фаговаров, которые учитываются при идентификации культур. С помощью фаговаров выявляют источник заболевания.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Возбудители дифтериии сравнительно устойчивы. Температура 60° С убивает их через 10-15 мин, 100° С - через минуту. В пленке они выдерживают нагревание до 90° С. На свернутой сыворотке при комнатной температуре сохраняются до 2 мес, на детских игрушках - несколько суток. Низкие температуры коринебактерий переносят хорошо. К высушиванию возбудители дифтерии довольно устойчивы. Дезинфицирующие вещества (3% раствор фенола, 1% раствор сулемы, 10% раствор перекиси водорода) убивают эти бактерии в течение нескольких минут.

**Восприимчивость животных.** В естественных условиях животные дифтерией не болеют. Из экспериментальных животных наиболее восприимчивы морские свинки и кролики. При внутрикожном или подкожном заражении у них развивается картина токсикоинфекции с образованием на месте введения воспаления, отека, некроза. В надпочечниках наблюдаются кровоизлияния.

**Источники заболевания.** Больные люди и бактерионосители.

**Пути передачи.** Воздушно-капельный путь, контактно-бытовой (через посуду, игрушки, книги, полотенца и т. д.).

**Заболевание у человека:** 1) дифтерия зева; 2) дифтерия носа.

Реже возникает дифтерия трахеи, бронхов, глаз, уха, влагалища и дифтерия поврежденной кожи.

**Патогенез.** Входными воротами являются слизистые оболочки дыхательных путей и поврежденная кожа. Попав на слизистую оболочку, возбудители дифтерии размножаются в месте внедрения и вызывают некроз ткани. Образуется пленка, тесно связанная с подлежащими тканями. На поверхности слизистой появляются грязно-серые или желтоватые налеты, состоящие из разрушенного эпителия, фибрина, лейкоцитов и коринебактерий дифтерии. При снятии пленки ватным тампоном или шпателем поверхность слизистой может кровоточить.

В процессе размножения коринебактерий дифтерии в некротических участках накапливается экзотоксин, который может привести к отеку слизистой оболочки и клетчатки. Со слизистой оболочки отек может распространяться на гортань, бронхи и вызвать явления асфиксии. Токсин, циркулирующий в крови, избирательно поражает сердечную мышцу, надпочечники и клетки нервной ткани.

Дифтерия - это токсикоинфекция. Тяжесть процесса зависит от степени токсигенности штамма и от защитных сил организма.

**Иммунитет**. Невосприимчивость обусловливается антитоксическим и антибактериальным иммунитетом. Грудные дети не болеют, так как у них имеется пассивный иммунитет, переданный от матери.

О наличии антитоксического иммунитета судят по реакции Шика. Для постановки реакции 1/40 Dlm (летальной дозы токсина для морской свинки), содержащегося в 0,2 мл изотонического раствора натрия хлорида, вводят внутрикожно в области предплечья. При отсутствии в крови антитоксина в месте введения через 24-48 ч появляется краснота и припухлость (до 2 см в диаметре). При наличии антитоксина припухлости и красноты нет (имеющийся в крови антитоксин нейтрализовал введенный токсин).

Перенесенное заболевание оставляет иммунитет. Однако в 6-7% случаев наблюдаются повторные заболевания.

**Профилактика.** Ранняя диагностика. Изоляция. Дезинфекция. Выявление носителей токсигенной дифтерийной палочки.

**Специфическая профилактика** осуществляется введением анатоксина. В СССР проводят обязательную вакцинацию детей вакциной АКДС - это комплексная вакцина, в которую входят дифтерийный и столбнячный анатоксин и взвесь убитых коклюшных палочек. Вакцинируют детей с 5-6 месяцев с последующей ревакцинацией. Для ревакцинации вводят вакцину без коклюшных палочек.

**Специфическое лечение.** Применяют противодифтерийную антитоксическую сыворотку. Доза и кратность определяется лечащим врачом, вводят также антимикробные препараты.

6 день

10.06.2020

**Возбудитель натуральной оспы**

Семейство Poxviridae включает несколько родов, имеющих разнообразных хозяев. Патогенным для человека является вирус натуральной оспы.

Заболевание оспой известно с незапамятных времен (около 3000 лет до н. э.) и распространено оно было во всех странах мира.

Один из древних историков писал: "Никакой народ, никакая раса, ни звание, ни возраст, ни пол не щадились оспой. Все трепетало перед ней". Оспа страшна своей контагиозностью. В Германии в XVIII веке от оспы погибло 80 тыс. человек. От оспы умерли русский царь Петр II, австрийский император Иосиф, французский король Людовик XIV, английская королева Анна, знаменитая русская актриса Комиссаржевская и др.

Нам сейчас трудно представить себе ту сокрушительную силу, с которой орудовал вирус оспы. Но этот бич человечества был сломлен наукой. Прекратились эпидемии оспы.

И за последние несколько лет не было зарегистрировано ни одного случая оспы во всем мире.

Этиология оспы была установлена к концу XIX века. В 1892 г. Гварниери в гистологических срезах, сделанных и роговицы глаз кролика, зараженного оспенным материалом, обнаружил шаровидные и серповидные включения величиной от 3-4 до 10 мкм, окрашивающиеся по Романовскому - Гимзе в красный цвет. Эти включения были названы тельцами Гварниери. А в 1906 г. в содержимом оспенных пустул Пашен обнаружил оспенные корпускулы, в препаратах, обработанных методом серебрения по Морозову. Эти корпускулы были названы тельцами Пашена - Морозова.

**Морфологическая структура.** Вирус оспы крупный, размером 300-350 нм, кубоидальной формы. На ультрасрезах оспенных вирионов обнаружена липопротеидная оболочка, под ней вироплазма, в которой содержится нуклеокапсид. ДНК у вируса оспы - двунитчатая. Из нуклеокапсида вириона выделены некоторые ферменты.

**Культивирование.** Вирус натуральной оспы хорошо развивается в куриных эмбрионах на хорион-аллантоисной оболочке. Репродукция его характеризуется образованием на оболочке белых, плотных точечных бляшек с блестящей поверхностью, величиной около 1 мм.

Вирус можно также культивировать на первичных и перевиваемых клеточных культурах человека и животных. Здесь рост характеризуется цитопатическим действием (дегенерацией клеток через 48-72 ч).

**Антигенная структура.** У вируса оспы обнаружено несколько антигенов: растворимые (L-термолабильный и S-термостабильный), нуклеопротеидный NP-антиген. Вирусы оспы имеют общие антигены с вирусом оспенной вакцины и эритроцитами человека группы А и АВ.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** При температуре 100° С вирусы погибают моментально. Температура 60° С губит их через час. Низкие температуры и высушивание вирусы натуральной оспы переносят хорошо - в оспенных корочках сохраняются длительно. Дезинфицирующие растворы (30% хлорамин, лизол) инактивируют вирусы оспы через 30 мин. К фенолу и эфиру они более устойчивы, а в 50% глицерине вирусы оспы сохраняются месяцами.

**Восприимчивость животных.** К вирусу оспы чувствителен мелкий и крупный рогатый скот. В экспериментальных условиях легко заражаются обезьяны, морские свинки, кролики и др. Однако воспроизвести заболевание, сходное по клинике с болезнью человека, можно только у обезьян.

У новорожденных белых мышей вирус вызывает оспенный энцефалит.

**Источники инфекции.** Больные люди.

**Пути передачи**. Воздушно-капельный и воздушно-пылевой (вирус передается при кашле, разговоре, через посуду, а также через пылевые частицы, находящиеся на одежде).

**Патогенез.** Вирус оспы проникает через слизистую оболочку дыхательных путей и через кожные покровы. Проникнув в организм, вирусы локализуются в регионарных лимфатических узлах. Размножившись там, они попадают в кровь, обусловливая вирусемию. Вторичная репродукция (размножение) происходит в лимфоидной ткани и сопровождается клиническими проявлениями заболевания: высокой температурой, головной болью, потерей сознания и т. д. Обладая дермотропными свойствами, вирусы попадают в эпидермис. На коже и слизистых оболочках образуются папулы, везикулы и пустулы. Оспенные папулы характеризуются прозрачным содержимым и имеют вид жемчужин с перламутровым блеском. На месте появления пустул образуется некроз, после заживления которого остаются рубцы. Образование рубцов на слизистой глаз приводит к слепоте (в 25% случаев). Процент смертности при оспе велик, при геморрагической форме - 100%. При этой форме пустулы наполняются кровью - черная оспа.

Встречаются легкие формы оспы, когда заболевание протекает без температуры и сыпи.

**Иммунитет.** У переболевших людей иммунитет пожизненный. Обусловливается он вируснейтрализующими, гемагглютинирующимися и комплементсвязывающими антителами. Искусственная иммунизация с последующей ревакцинацией дает стойкий иммунитет. Считают, что интерферон также является фактором защиты.

**Профилактика.** Ранняя диагностика, изоляция, дезинфекция, предупреждение завоза оспы из других стран, карантин и т. д.

**Специфическая профилактика.** В борьбе с натуральной оспой большое значение имеет специфическая профилактика. За много лет до нашей эры на востоке существовали разные методы борьбы с оспой. В Индии, Иране - растертые корочки из пустул больных легкой формой втирали в кожу здоровых, а в Китае наносили на слизистые оболочки носа.

В 1796 г. английский врач Э. Дженнер после длительных наблюдений использовал содержимое пустул коровьей оспы для вакцинации людей. Отсюда название - вакцина (от лат. vacca - корова).

Вакциной, приготовленной таким методом, пользовались длительное время. Затем был разработан метод получения ововакцины (вирус накапливали в курином эмбрионе). Этот метод удобнее для изготовления и экономнее.

В настоящее время вакцину готовят из вируса, выращенного в культуре клеток.

В марте 1919 г. В. И. Лениным был подписан декрет об обязательном оспопрививании. После проведения массовой иммунизации оспа в СССР была ликвидирована.

В 1958 г. по инициативе СССР на XI Ассамблее ВОЗ было принято решение о ликвидации оспы во всем мире путем массовой вакцинации. В результате за последние годы не было зарегистрировано ни одного случая заболевания оспой в мире и в 1981 г. по рекомендации ВОЗ обязательная прививка против оспы была отменена.

7 день

11.06.2020

**Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (кишечных инфекций)**

К семейству энтеробактерий Enterobacteriaceae относят многочисленные микроорганизмы, сходные по морфологии, тинкториальным и культуральным свойствам. Они обитают в кишечнике человека и животных и могут быть обнаружены во внешней среде.

В настоящее время все кишечные бактерии делят на 12 родов, из которых будут рассмотрены следующие: Escherichia, Shigella, Salmonella, Proteus, Klebsiella, Yersinia.

Роды эти, в свою очередь, разделены на виды, биологические и серологические варианты (биовары и серовары).

Считают, что родоначальником всей этой группы микроорганизмов является кишечная палочка. В процессе эволюции разновидности кишечной палочки приспособились к паразитическому способу существования, приобрели патогенные свойства и являются в настоящее время возбудителями многих болезней человека и животных.

К патогенным представителям семейства кишечных бактерий относятся возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, токсикоинфекций, дизентерии. Многие кишечные бактерии постоянно обитают в кишечнике. При изменении условий существования (например, ослабление организма хозяина) они становятся возбудителями заболеваний. Это так называемые условно-патогенные бактерии.

Все кишечные бактерии грамотрицательные палочки. Они являются факультативными анаэробами. Хорошо растут на простых питательных средах

Энтеробактерий отличаются ферментативной активностью, которая наиболее выражена у сапрофитов и уменьшается по мере усиления патогенности. Эту закономерность можно объяснить тем, что микроорганизмы, приспособляясь к паразитическому образу жизни, утратили ставшие ненужными ферменты.

**Эшерихии**

Этот род представлен только одним видом бактерий - Е. coli, но объединяет множество вариантов. Разновидности кишечной палочки отличаются по биологическим свойствам, у них могут быть разные наборы ферментов (биовары) и разная антигенная структура (серовары).

Кишечная палочка впервые выделена в 1888 г. Эшерихом из испражнений человека и названа по его имени.

Естественным местом обитания E. coli является кишечник человека. Кишечная палочка - представитель нормальной микрофлоры кишечника.

В процессе жизнедеятельности E. coli вырабатывает ферменты, способствующие пищеварению (например, расщепляющие клетчатку), синтезирует некоторые витамины (например, витамины группы В). Кроме того, эти бактерии проявляют антагонистическое действие в отношении патогенных микроорганизмов, таких как возбудители Дизентерии, брюшного тифа, токсикоинфекций. Отсутствие кишечной палочки в толстом кишечнике ведет к тяжелому заболеванию - дисбактериозу. При этом нарушается нормальный состав микрофлоры кишечника, развиваются протей, кокковая флора, грибы и т. п.

При снижении устойчивости организма (голодании, переутомлении и т. п.) эшерихии могут проникнуть в Другие органы и ткани и стать причиной тяжелых патологических процессов. Таким образом, можно считать, что эшерихии - типичные условно-патогенные микроорганизмы: в обычных условиях они являются сапрофитами, а ПРИ изменении условий вызывают заболевания.

Выделяясь с фекалиями, кишечная палочка попадает во внешнюю среду. Обнаружение E. coli в почве, воде и на других объектах свидетельствует об их фекальном загрязнении, а определение количества E. coli (коли-титр, коли-индекс) характеризует санитарное состояние объекта.

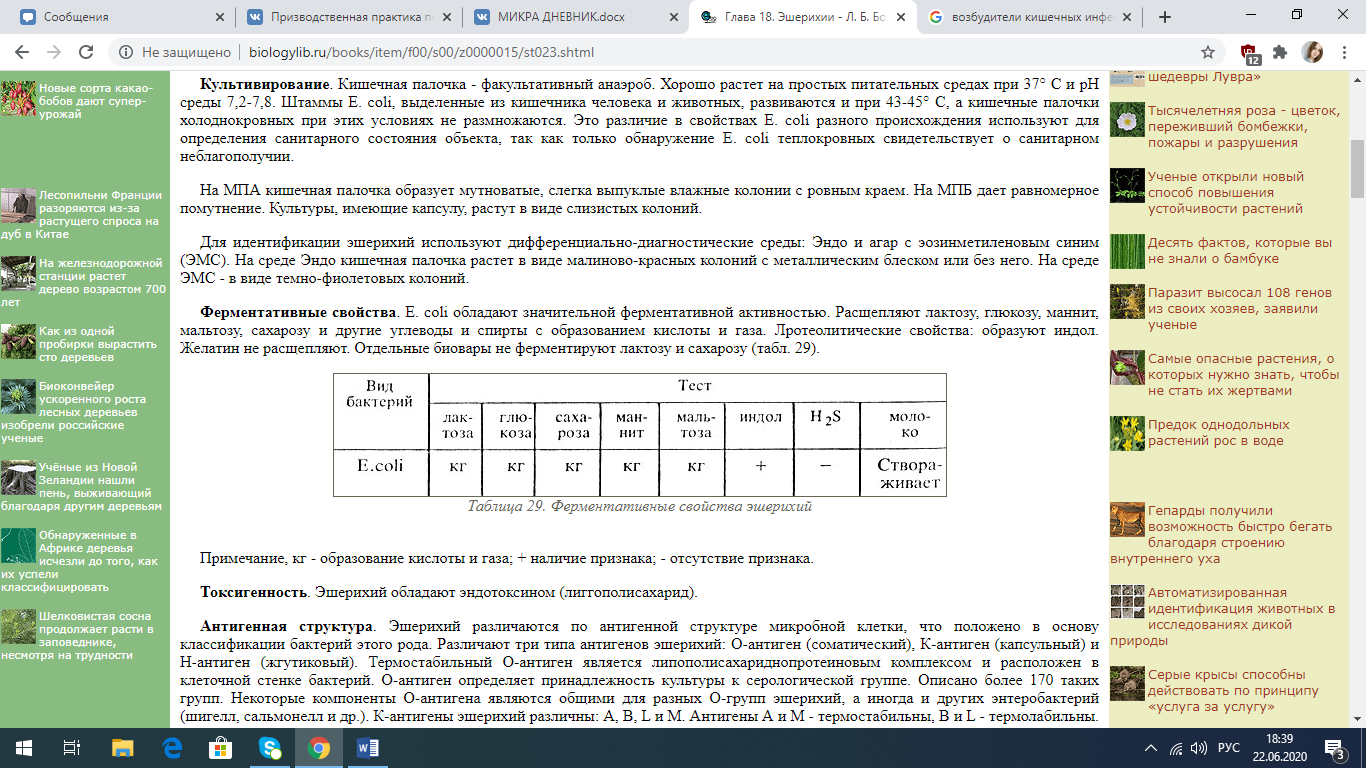
**Морфология.** E. coli - короткие, в среднем 0,5-3,0 × 0,5-0,8 мкм палочки. Грамотрицательны. В большинстве случаев они подвижны, перитрихи. Однако некоторые варианты кишечной палочки неподвижны. Многие штаммы образуют капсулу. Спор не образуют.

**Культивирование.** Кишечная палочка - факультативный анаэроб. Хорошо растет на простых питательных средах при 37° С и рН среды 7,2-7,8. Штаммы E. coli, выделенные из кишечника человека и животных, развиваются и при 43-45° С, а кишечные палочки холоднокровных при этих условиях не размножаются. Это различие в свойствах E. coli разного происхождения используют для определения санитарного состояния объекта, так как только обнаружение E. coli теплокровных свидетельствует о санитарном неблагополучии.

На МПА кишечная палочка образует мутноватые, слегка выпуклые влажные колонии с ровным краем. На МПБ дает равномерное помутнение. Культуры, имеющие капсулу, растут в виде слизистых колоний.

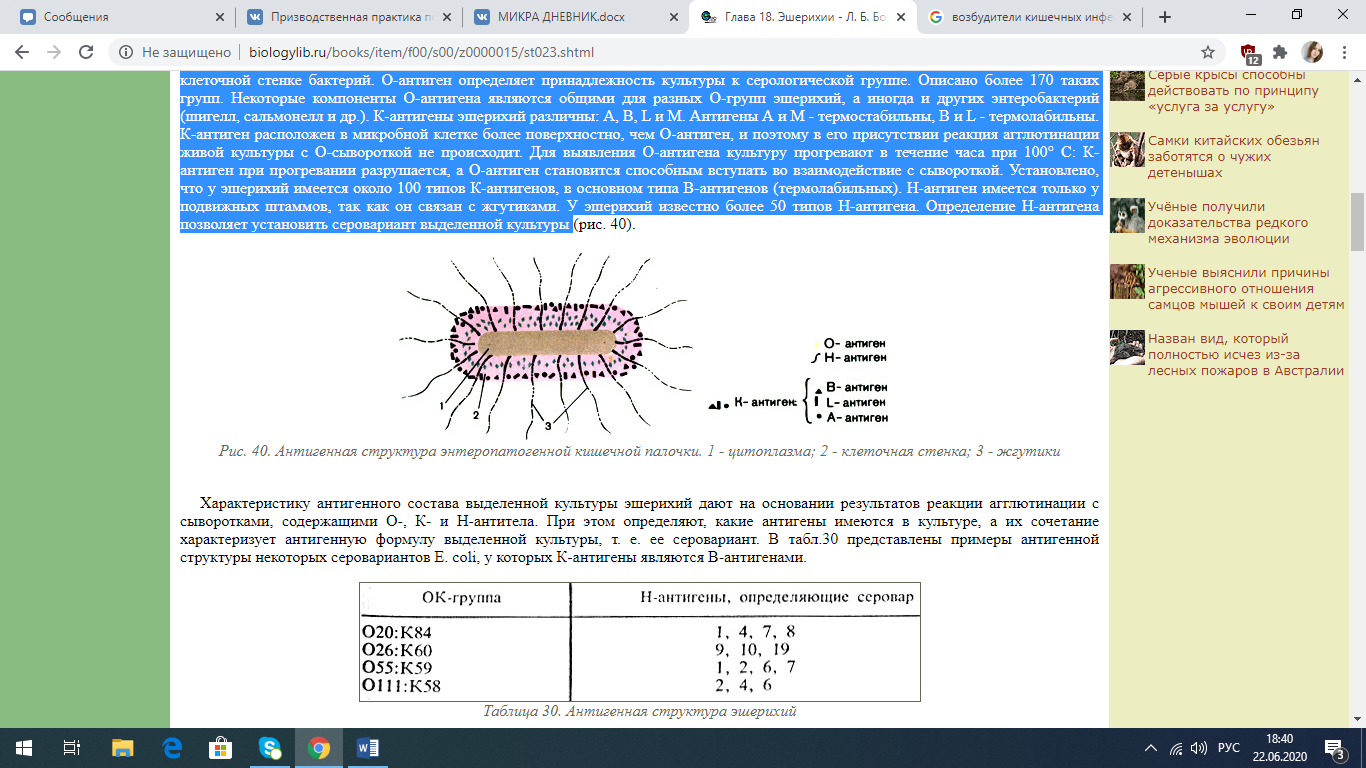
Для идентификации эшерихий используют дифференциально-диагностические среды: Эндо и агар с эозинметиленовым синим (ЭМС). На среде Эндо кишечная палочка растет в виде малиново-красных колоний с металлическим блеском или без него. На среде ЭМС - в виде темно-фиолетовых колоний.

**Ферментативные свойства.** E. coli обладают значительной ферментативной активностью. Расщепляют лактозу, глюкозу, маннит, мальтозу, сахарозу и другие углеводы и спирты с образованием кислоты и газа. Лротеолитические свойства: образуют индол. Желатин не расщепляют. Отдельные биовары не ферментируют лактозу и сахарозу.



**Токсигенность.** Эшерихий обладают эндотоксином (лиггополисахарид).

**Антигенная структура.** Эшерихий различаются по антигенной структуре микробной клетки, что положено в основу классификации бактерий этого рода. Различают три типа антигенов эшерихий: О-антиген (соматический), К-антиген (капсульный) и Н-антиген (жгутиковый). Термостабильный О-антиген является липополисахариднопротеиновым комплексом и расположен в клеточной стенке бактерий. О-антиген определяет принадлежность культуры к серологической группе. Описано более 170 таких групп. Некоторые компоненты О-антигена являются общими для разных О-групп эшерихий, а иногда и других энтеробактерий (шигелл, сальмонелл и др.). К-антигены эшерихий различны: А, В, L и М. Антигены А и М - термостабильны, В и L - термолабильны. К-антиген расположен в микробной клетке более поверхностно, чем О-антиген, и поэтому в его присутствии реакция агглютинации живой культуры с О-сывороткой не происходит. Для выявления О-антигена культуру прогревают в течение часа при 100° С: К-антиген при прогревании разрушается, а О-антиген становится способным вступать во взаимодействие с сывороткой. Установлено, что у эшерихий имеется около 100 типов К-антигенов, в основном типа В-антигенов (термолабильных). Н-антиген имеется только у подвижных штаммов, так как он связан с жгутиками. У эшерихий известно более 50 типов Н-антигена. Определение Н-антигена позволяет установить серовариант выделенной культуры.



**Устойчивость к факторам окружающей среды.** E. coli довольно устойчивы. При 55° С они погибают в течение часа, при 60° С - за 15 мин. В почве и воде сохраняются до 2-3 мес, в молоке не только сохраняются, но и размножаются. Растворы дезинфицирующих веществ (3% хлорамин, раствор сулемы 1:1000 и др.) убивают их за 20-30 мин. Особенно чувствительны E. coli к действию бриллиантового зеленого.

**Восприимчивость животных.** Эшерихии отдельных серогрупп патогенны для различных животных и вызывают у них заболевания желудочно-кишечного тракта. Из лабораторных животных наиболее чувствительны к E. coli морские свинки, кролики, белые мыши. В зависимости от способа введения культура кишечной палочки вызывает различные патологические процессы: воспаление и абсцесс при подкожных инъекциях, перитонит и сепсис - при внутрибрюшинном и внутривенном введении.

**Источники инфекции.** Больной человек. При этом бактерии проникают в организм из внешней среды (экзогенная инфекция). Кишечная палочка может также вызвать развитие патологического процесса "изнутри" (эндогенная инфекция).

**Пути передачи.** Основной путь передачи при экзогенной форме инфекции - контактно-бытовой (непрямой контакт). Возбудители могут быть перенесены на грязных руках, через посуду, игрушки, белье, пищу, мух.

**Патогенез.** Заболевания, вызываемые эшерихиями, называют эшерихиозами. Развитие эшерихиозов зависит от пути внедрения возбудителя в организм и от серогруппы, к которой принадлежит возбудитель. При проникновении бактерий через рот могут возникнуть кишечные заболевания детей и взрослых. Некоторые О-группы эшерихии (серовары) наиболее часто являются возбудителями заболеваний человека. Такие бактерии называют энтеропатогенными кишечными палочками (ЭПКП). В настоящее время известно много вариантов ЭПКП, обусловливающих разное течение эшерихиозов. Различают несколько групп ЭКПК:

группа I - возбудители колиэнтерита у детей раннего возраста (серогруппы О111, О26, О55, О86 и др.);

группа II - возбудители дизентериеподобных заболеваний у детей и взрослых (О25, О124, О143, О144 и др.);

группа III - возбудители холероподобных заболеваний (О1, О5, О6, О78 и др.).

Попадая в пищевые продукты, кишечная палочка может в них размножаться. Употребление в пищу таких продуктов ведет к развитию пищевой токсикоинфекции.

Развитие эндогенной инфекции приводит к поражению различных органов: воспалению желчного пузыря (холецистит), мочевого пузыря (цистит), заражению крови (сепсис) и др

**Иммунитет.** Иммунитет вырабатывается только в отношении одного сероварианта эшерихии - возбудителя данного заболевания. Многообразие эшерихии делает практически этот иммунитет недейственным. В развитии иммунного состояния при заболевании детей большое значение имеет образование IgM-антител, которые не проходят через плаценту, а значит не передаются от матери. IgA-антитела к эшерихиям передаются ребенку от матери с грудным молоком.

**Профилактика.** Соблюдение личной гигиены и санитарно-гигиенического режима. Специфическая профилактика отсутствует.

**Лечение.** Антибиотики: ампициллин, тетрациклин и др. В настоящее время выпускают колипротейный фаг, использование которого дает хорошие результаты.

**Шигеллы**

Первый возбудитель дизентерии был открыт А. В. Григорьевым (1891), а в 1898 г. японский ученый Шига изучил и описал его. В последующие годы были выделены и описаны другие представители этого рода: Флекснер (1900), Зонне (1915), Штутцер - Шмитц (1917), Лардж - Сакс (1934).

Согласно Международной классификации все бактерии, вызывающие дизентерию, в честь Шига объединены в один род - шигеллы.

**Морфология.** Шигеллы - это небольшие (2-3 × 0,4-0,6 мкм) палочки с закругленными концами. Отличаются от остальных представителей семейства Enterobacteriaceae отсутствием жгутиков. Они не имеют спор и капсул. Грамотрицательны.

**Культивирование.** Шигеллы - факультативные анаэробы. Неприхотливы к питательным средам. Размножаются на МПА и МПБ при температуре 37° С и рН 7,2-7,4. Элективными и дифференциально-диагностическими средами для них являются среды Плоскирева, Эндо, ЭМС. Растут в виде небольших, полупрозрачных, сероватых, круглых колоний, размером 15-2 мм в S-форме. Исключением являются шигеллы Зонне, которые часто диссоциируют, образуя крупные, плоские, мутные, с изрезанными краями колонии R-формы. В жидких питательных средах шигеллы дают равномерную муть, R-формы образуют осадок.

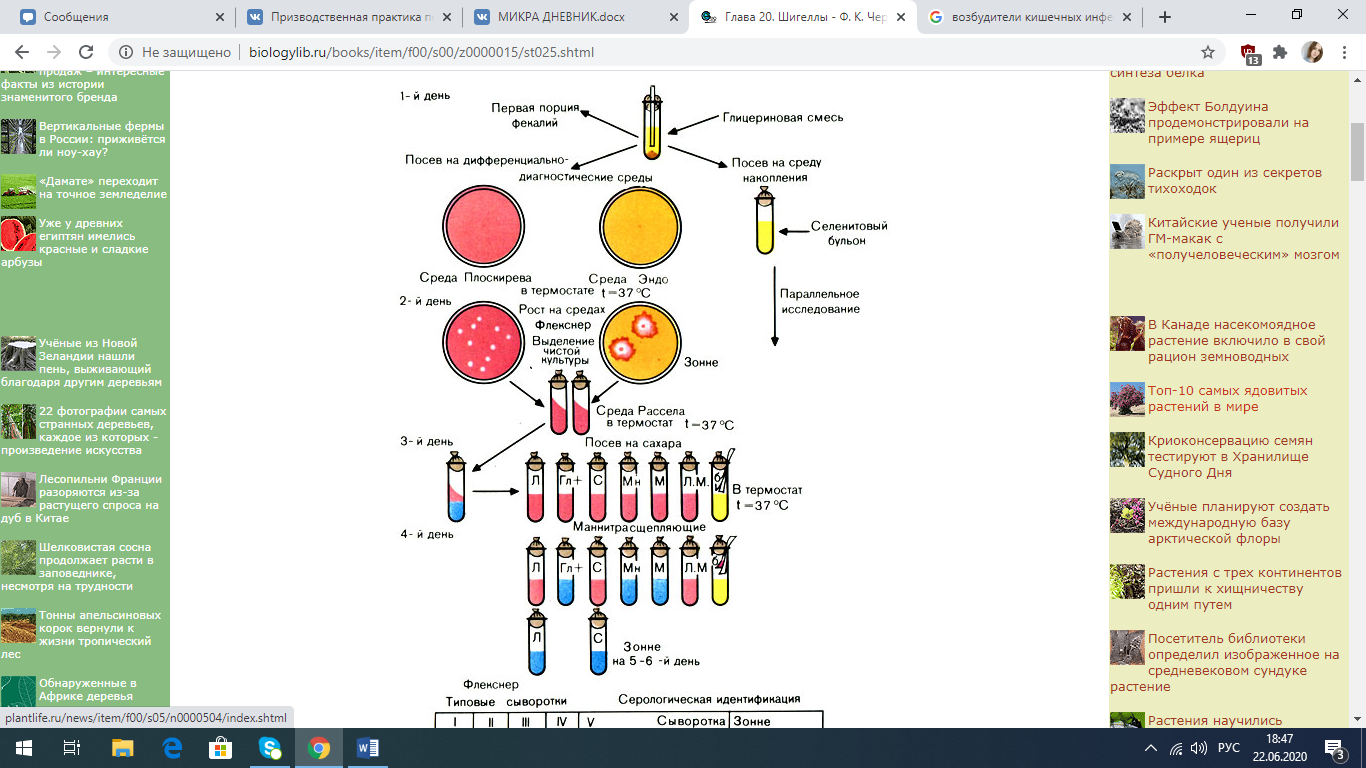


Схема бактериологического исследования при дизентерии

**Ферментативные свойства.** Ферментативные свойства шигелл менее выражены, чем у других представителей Enterobacteriaceae: они расщепляют углеводы без газообразования, не расщепляют лактозу и сахарозу. Исключением являются шигеллы Зонне, которые на 2-3-й сутки расщепляют эти углеводы.

Протеолитические свойства у шигелл мало выражены - образование индола и сероводорода непостоянно, молоко они свертывают, желатин не разжижают.

По отношению к манниту все шигеллы делятся на расщепляющие и нерасщепляющие маннит.



**Токсинообразование.** Шигеллы обладают эндотоксином. Исключением являются шигеллы Шиги, которые помимо эндотоксина выделяют экзотоксин, оказывающий нейротоксическое действие.

**Антигенная структура и классификация.** Шигеллы содержат соматические антигены, к которым относятся групповые и типовые антигены. По Международной классификации шигеллы подразделяют на четыре группы, обозначаемые латинскими большими буквами А, В, С, D.

Группа A S. dysenteriae: 1 - Григорьева - Шиги; 2 - Штутцера - Шмитца; 3-7 - Лардж - Сакса и 8-10 - провизорные. Представители этой группы имеют только типовые антигены, обозначаемые арабскими цифрами.

Группа В S. flexneri. Микробы этой группы имеют более сложную антигенную структуру - они содержат типовые антигены, обозначаемые римскими цифрами, и групповые антигены, обозначаемые арабскими цифрами. Шигеллы Флекснера имеют 6 серовариантов. Шигеллы Флекснер 6 раньше обозначали как подвид S. newcastle.

Группа С S. boydii. Имеет только типовые антигены. В этой группе 15 серологических типов.

Группа D S. sonnei имеет свой видовой антиген

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Температура 100° С убивает шигеллы мгновенно. Температура 60° С убивает их через 20-30 мин. К низким температурам шигеллы устойчивы - в речной воде они сохраняются до 3 мес, на овощах и фруктах - до 10-15 мес. Солнечный свет убивает их через 2-3 ч, а шигеллы Шиги - через 20 мин. Общеупотребительные концентрации дезинфицирующих растворов губят их через 20-30 мин. Наименее устойчивы к влиянию внешних факторов шигеллы группы А, а наиболее устойчивы шигеллы Зонне.

**Восприимчивость животных.** Животные не чувствительны к возбудителям дизентерии, исключением являются обезьяны. Экспериментальное заражение кроликов и белых мышей вызывает у них интоксикацию и гибель.

**Источники инфекции.** Человек, болеющий острой и хронической формой дизентерии, и бактерионоситель.

**Пути передачи.** Пищевой. Большое значение имеет водный путь, овощи, фрукты, различные предметы, обсемененные шигеллами, и мухи.

**Патогенез.** Попав с пищей в кишечник, шигеллы проникают в клетки эпителия слизистой оболочки толстого кишечника, где размножаются. Частично они погибают. Образующийся при разрушении бактерий эндотоксин сенсибилизирует слизистую оболочку, повышается проницаемость кровеносных сосудов, и эндотоксин всасывается в кровь, вызывая интоксикацию. Поражение слизистой оболочки сопровождается отечностью, некрозами, геморрагией. Кроме того, токсин влияет на центральную нервную систему, что приводит к трофическим расстройствам. Особенно тяжело протекает заболевание, вызванное шигеллами Шиги, которые глубоко проникают в слизистую оболочку толстой кишки, вызывая резкую гиперемию, отек и кровавый понос. Образуемый ими экзотоксин вызывает тяжелую интоксикацию.

Для возникновения заболевания имеет значение величина инфицирующей дозы.

**Иммунитет.** У человека имеется естественная резистентность к дизентерийной инфекции. После перенесенного заболевания иммунитет нестойкий, а после дизентерии Зонне практически отсутствует. При заболевании, вызванном шигеллами дизентерии 1 (Григорьева - Шиги) вырабатывается более стойкий антитоксический иммунитет.

**Профилактика.** Общие санитарно-противоэпидемические мероприятия: изоляция, ранняя диагностика, дезинфекция.

**Специфическая профилактика** не нашла широкого применения. Лицам, бывшим в контакте с больными, дают поливалентный дизентерийный бактериофаг.

**Лечение.** Комплексное, сульфаниламиды с антибиотиками. Специфического лечения нет.

8 день

12.06.2020

**Сальмонеллы**

К этому роду семейства энтеробактерий относится более 2000 различных бактерий, вызывающих заболевания человека и животных. Эти заболевания называют сальмонеллезами. Сальмонеллы сходны по морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам, но отличаются по антигенной структуре.

Сальмонеллы делят на монопатогенные и полипатогенные. К первым относятся возбудители брюшного тифа, паратифа А и паратифа В. Этими заболеваниями болеет только человек. Ко второй группе относятся возбудители заболеваний, поражающие человека и животных.

S. typhi впервые были обнаружены Эбертом (1880) в органах человека, погибшего от брюшного тифа. Ашар и Бансод (1886) при заболеваниях, сходных с брюшным тифом, выделили из гноя и мочи больных бактерии, отличающиеся по биохимическим и серологическим свойствам от возбудителей брюшного тифа. Их назвали S. paratyphi А и S. paratyphi В. Почти одновременно американский ученый Д. Сальмон (1885) впервые описал возбудителей холеры свиней (S.choleraesuis). В дальнейшем было описано множество сходных бактерий, объединенных в род Сальмонелла, названного по имени ученого, их описавшего.

**Морфология.** Все сальмонеллы мелкие, 1,0-3,0 × 0,6-0,8 мкм палочки с закругленными концами. Грамотрицательны. Подвижны, перитрихи. Спор и капсул не образуют.

**Культивирование.** Сальмонеллы - факультативные анаэробы. Они не требовательны к питательным средам. Хорошо растут на МПА и МПБ при 37° С (от 20 до 40° С) и рН среды 7,2-7,4 (от 5,0 до 8,0). На МПА образуют нежные, полупрозрачные, слегка выпуклые, блестящие колонии, в МПБ - равномерное помутнение.

При первичном посеве материала от больных (кал, моча, рвотные массы, кровь, желчь) часто отмечают медленный рост сальмонелл. Для их накопления производят посев на среды обогащения: селенитовый бульон, среду Мюллера, среду Кауфмана. Используют также элективные (избирательные) среды: желчь (10-20%) и среду Раппопорт.

На дифференциально-диагностических средах Эндо, ЭМС, Плоскирева сальмонеллы растут в виде бесцветных колоний, так как не расщепляют лактозу, входящую в состав среды. На висмут-сульфитном агаре через 48 ч они образуют колонии черного цвета, оставляющие след после того, как их снимают петлей (кроме сальмонелл паратифа А).

У свежевыделенных культур S. paratyphi В после инкубации в термостате в течение 18-20 ч и выдерживания при комнатной температуре в течение 1-2 сут на периферии колонии образуется слизистый вал.

**Ферментативные свойства.** Сальмонеллы расщепляют глюкозу, маннит, мальтозу с образованием кислоты и газа. Исключением являются возбудители брюшного тифа (S. typhi), которые расщепляют эти сахара только до кислоты. Сальмонеллы не ферментируют лактозу и сахарозу. Протеолитические свойства: большинство сальмонелл расщепляет белковые среды с образованием сероводорода (возбудители паратифа А отличаются отсутствием этого свойства). Индол не образуют. Желатин не разжижают.

**Токсигенность.** Сальмонеллы содержат эндотоксин - липополисахариднопротеиновый комплекс.

**Антигенная структура и классификация.** Еще в начале XX века ученые заметили различную природу антигенов сальмонелл. Кауфман (1934) на основании результатов реакции агглютинации разных сальмонелл с набором сывороток разделил все сальмонеллы на группы и типы и предложил диагностическую схему их антигенной структуры. В соответствии с этой схемой в настоящее время производят идентификацию сальмонелл.

Сальмонеллы содержат два антигенных комплекса: О и Н,О-антиген - липополисахариднопротеиновый комплекс; он термостабилен, инактивируется под действием формалина. Н-антиген связан со жгутиками, имеет белковую природу; он термолабилен, инактивируется под действием спирта и фенола, но устойчив к воздействию формалина.

Все сальмонеллы разделены на О-группы, каждая из которых характеризуется наличием определенных О-антигенов: основного, обозначенного арабской цифрой (2, 4, 7, 8, 9 и т. д.), и дополнительных, общих для нескольких О-групп (1, 12). В настоящее время известно более 60 О-групп, обозначаемых прописными буквами латинского алфавита (А, В, С, D, Е и т. д.).

S. typhi содержит, кроме того, Vi-антиген, который расположен в микробной клетке более поверхностно, чем О-антиген, и препятствует агглютинации культуры с О-сывороткой. Этот антиген термолабилен. Его присутствие связывали с вирулентностью возбудителя. Vi-антиген содержится также в клетках S. paratyphi С.

Н-антигены сальмонелл имеют две фазы. Сальмонеллы различных серовариантов одной О-группы имеют различную первую фазу Н-антигена, которую обозначают строчными буквами латинского алфавита: а, b, с, d, eh ... u, z и т. д. Вторую фазу Н-антигена обычно обозначают арабскими цифрами: 1, 2, 5, 6, 7 и строчными латинскими буквами. Сочетание различных О- и Н-антигенов определяет антигенную структуру культур и их название.

В практической работе для определения антигенной структуры сальмонелл используют адсорбированные монорецепторные агглютинирующие сыворотки, которые содержат антитела к одному антигену. Ставят реакцию агглютинации на стекле и по наличию агглютинации с определенными сыворотками характеризуют антигенную структуру выделенной культуры. Например, культура агглютинируется О-сыворотками "9" и "12" и Н-сывороткой "d"; находят в схеме серовар с таким антигенным составом (S. typhi), ставят дополнительно реакцию с Vi-сывороткой

Имеются наборы специфических сальмонеллезных фагов, которые лизируют только сальмонеллы соответствующего фаговара. Для определения фаговара культур S. typhi, содержащих Vi-антиген, в нашей стране выпускают 45 фагов; для S. paratyphi В-11 фагов; S. paratyphi А - 6 и т. д. Эти исследования проводят для определения источника и путей передачи инфекции.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Сальмонеллы довольно устойчивы. При температуре 100° С погибают мгновенно, при 60-70° С - за 10-15 мин. Они хорошо переносят низкую температуру, могут сохраняться в чистой воде и льду в течение нескольких месяцев; в копченом и соленом мясе - до 2 мес. Устойчивы к высыханию, длительно сохраняются в пыли.

Под действием дезинфицирующих веществ погибают в течение нескольких минут (2-5% раствор фенола, 1:1000 раствор сулемы, 3-10% раствор хлорамина).

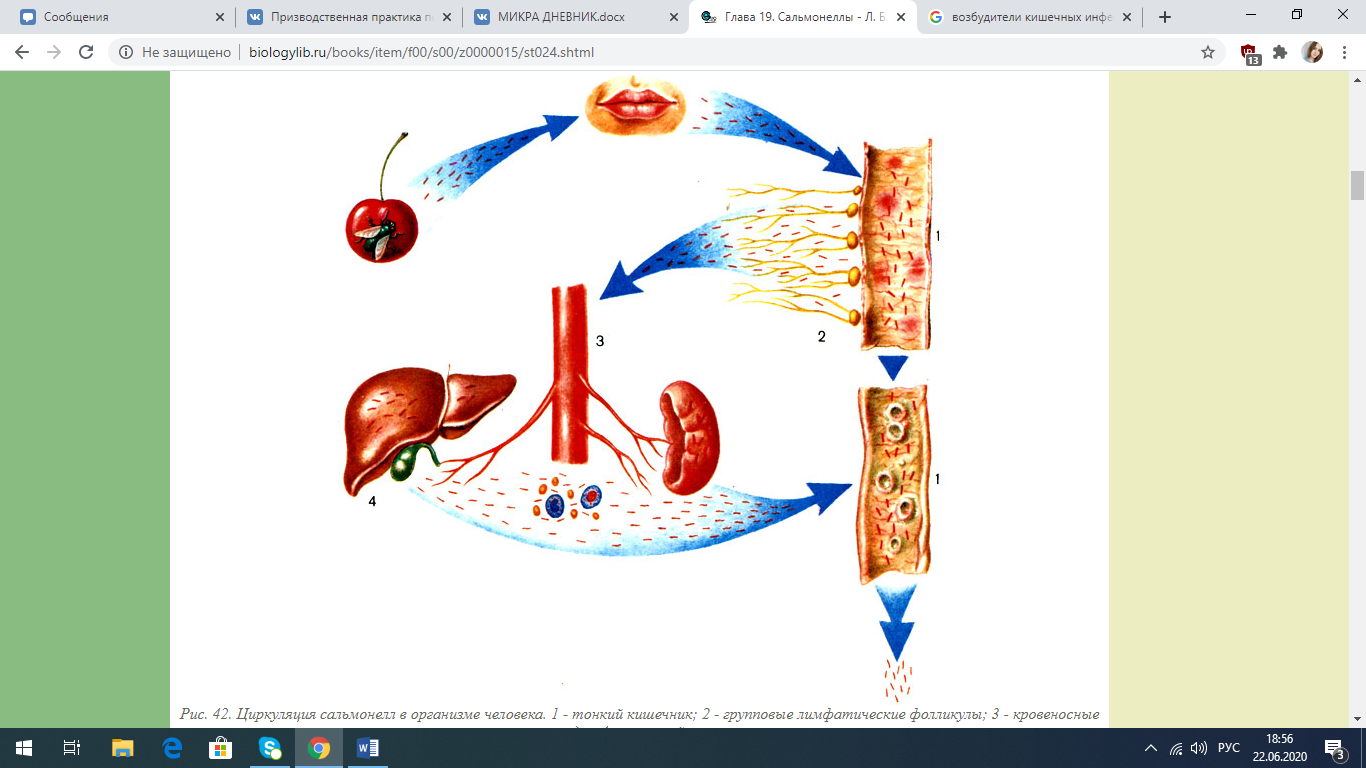
**Восприимчивость животных.** Большинство сальмонелл вызывает заболевания человека и многих видов животных и птиц (полипатогенные).

**Брюшной тиф, паратифы А и В**

**Источник инфекции.** Больной человек и бактерионоситель.

**Пути передачи.** Возбудители инфекции передаются через предметы, загрязненные выделениями человека, через руки, воду, пищу. Часто возбудителей переносят мухи. В зависимости от путей передачи различают бытовые, водные, пищевые вспышки брюшного тифа и паратифов.

**Патогенез.** Заражение происходит через рот. Из ротовой полости микроорганизмы попадают в желудок, где частично разрушаются под воздействием желудочного сока и ферментов. Оставшиеся сальмонеллы поступают в тонкий кишечник, проникают в лимфоидную ткань тонкого кишечника (групповые лимфатические и солитарные фолликулы), в которой размножаются в течение инкубационного периода (10-14 дней). К концу этого срока возбудители поступают в лимфу и кровь (бактериемия) и разносятся по всему организму. В этот период они локализуются в лимфоидной ткани внутренних органов, системе макрофагов, печени, селезенке, костном мозге. Сальмонеллы накапливаются в желчном пузыре, где находят благоприятные условия для размножения, так как желчь - хорошая питательная среда для этих бактерий. При этом они вторично попадают в тонкий кишечник и, поражая уже сенсибилизированную лимфоидную ткань (групповые лимфатические и солитарные фолликулы), вызывают образование специфических брюшнотифозных язв.



Циркуляция сальмонелл в организме человека. 1 - тонкий кишечник; 2 - групповые лимфатические фолликулы; 3 - кровеносные сосуды; 4 - желчный пузырь

В период бактериемии часть микроорганизмов разрушается, при этом освобождается эндотоксин и возникают явления интоксикации: повышается температура, появляется общее недомогание, слабость, головная боль и т. д. С конца 2-й и начала 3-й недели сальмонеллы начинают выделяться из организма с калом, мочой, слюной и т. п.

Период реконвалесценции (выздоровления) характеризуется очищением организма от возбудителя, усилением фагоцитарной активности клеток, накоплением антител в крови.

Однако при брюшном тифе и паратифах бактериовыделение часто не заканчивается с выздоровлением больного - формируется бактерионосительство. Хронические воспалительные явления в желчном пузыре способствуют переживанию сальмонелл в желчи и их длительному выделению из организма (иногда до нескольких лет).

**Иммунитет.** Постинфекционный иммунитет достаточно напряженный и длительный. Повторные заболевания наблюдаются редко. В течение болезни вырабатываются антитела: в концу 1-й недели появляются агглютинины, преципитины и другие виды антител. Количество их нарастает, достигая максимума на 14-15-й день болезни. Антитела сохраняются в сыворотке крови переболевшего Длительное время.

Активность фагоцитов и другие клеточные факторы защиты также имеют значение при формировании иммунного состояния организма.

**Профилактика.** Соблюдение личной гигиены и проведение всех санитарно-гигиенических мероприятий: надзор за источниками водоснабжения, контроль продуктов питания и за предприятиями общественного питания.

**Специфическая профилактика.** Химическая вакцина, содержащая полные антигены возбудителей брюшного тифа, паратифов А и В и столбнячный анатоксин (TAB'te). Имеется также брюшнотифозная спиртовая вакцина, обогащенная Vi-антигеном, введение которой с профилактической целью дает хороший эффект. В очаге заболевания лицам, контактировавшим с больным, дают брюшнотифозный бактериофаг.

**Лечение.** Антибиотики: левомицетин, тетрациклин и др.

**Пищевые токсикоинфекции**

При употреблении продуктов, зараженных сальмонеллами различных сероваров (кроме S. typhi, S. paratyphi A и В), возникают пищевые токсикоинфекции.

**Источники инфекции**. Животные и птицы, больные сальмонеллезами, или здоровые, в организме которых, не причиняя им вреда, находятся сальмонеллы.

**Пути передачи.** Заражение происходит при употреблении мяса, мясных продуктов, яиц, молока, молочных продуктов, инфицированных сальмонеллами. Наиболее опасным является употребление пищи, в которой происходит размножение и гибель сальмонелл и накопление эндотоксина.

**Патогенез.** Попав в организм через рот, сальмонеллы проникают в пищеварительный тракт. При этом значительная часть бактерий погибает и освобождается эндотоксин, который может проникнуть в кровь. Появляются симптомы поражения желудочно-кишечного тракта и общего токсикоза. Заболевание длится не более 4-5 дней; иногда переболевшие становятся носителями сальмонелл.

**Иммунитет** непродолжительный. В крови больных и реконвалесцентов накапливаются различные антитела: агглютинины, преципитины и т. п. Сероваров сальмонелл очень много, а иммунитет специфичен, т. е. направлен только против одного возбудителя, поэтому человек может повторно болеть сальмонеллезом.

**Профилактика.** Постоянный строгий ветеринарно-санитарный контроль за скотом, убоем и разделкой туш, хранением и обработкой мяса и мясных продуктов. Необходимо строгое соблюдение санитарно-гигиенического режима и личной гигиены на предприятиях общественного питания.

**Специфическая профилактика.** Людям, находящимся в очагах пищевой токсикоинфекции, следует давать сальмонеллезный поливалентный бактериофаг.

**Лечение.** Основным терапевтическим средством является дезинтоксикация организма - введение большого количества жидкости, промывание желудка. Применяют также антибиотики.

**Внутрибольничная сальмонеллезная инфекция**

Возбудителем внутрибольничной сальмонеллезной инфекции чаще всего является S. typhimurim. Отмечаются также "госпитальные" вспышки, вызванные S. heidelberg, S. derby и др. Хотя морфологические и культуральные свойства этих возбудителей не отличаются от свойств других сальмонелл, имеются некоторые биологические особенности, характерные для них. Так, например, возбудители внутрибольничных инфекций относятся к определенным биоварам, они более патогенны для белых мышей и т. п.

**Источники инфекции.** Чаще бактерионоситель, реже больной.

**Пути передачи.** Преобладает непрямой контакт (игрушки, белье, предметы ухода за больным). Реже имеют место воздушно-пылевой и пищевой пути передачи.

**Патогенез.** Заболевание развивается на фоне ослабления организма и снижения его иммунной активности. Возбудитель попадает в организм перорально или через дыхательные пути, что и определяет развитие патологического процесса: расстройство функции желудочно-кишечного тракта с обезвоживанием или поражение органов дыхания, бактериемия, септические осложнения. Заболевают в первую очередь дети раннего возраста.

**Иммунитет.** Вырабатывается только по отношению к одному серовару сальмонелл.

**Профилактика.** Строгое соблюдение санитарно-гигиенического режима в лечебных учреждениях.

**Специфическая профилактика.** При возникновении внутрибольничной сальмонеллезной инфекции детям, контактировавшим с больным, следует давать сальмонеллезный поливалентный бактериофаг.

**Лечение.** Симптоматическое.

**Протей**

Род Proteus семейства энтеробактерий объединяет несколько видов, отличающихся способностью ферментировать многие питательные субстраты.

**Морфология.** Бактерии всех видов этого рода мелкие, полиморфные грамотрицательные палочки. Средний размер 0,4-0,6 × 1,0-3,0 мкм. Подвижны, перитрихи. Спор и капсул не образуют.

**Культивирование.** Протеи - факультативные анаэробы, хорошо растут на простых питательных средах при 20-37° С. Некоторые виды дают ползучий рост на плотной питательной среде, а при посеве в конденсационную воду скошенного агара - рост по всей поверхности среды (способ выделения чистой культуры по Шукевичу).

**Ферментативные свойства.** Обладают сахаролитическими и протеолитическими ферментами.

**Токсинообразование.** Содержат эндотоксин.

**Антигенная структура.** Протеи содержат О- и Н-антигены. В настоящее время известно более 150 О-антигенов и около 80 Н-антигенов. Сочетание О- и Н-антигенов в микробной клетке определяет принадлежность возбудителей к той или иной О-серогруппе или серовару.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Сравнительно устойчивы во внешней среде. Переносят нагревание до 60° С в течение часа и воздействие слабых растворов дезинфицирующих веществ. Обладают устойчивостью ко многим антибиотикам.

**Восприимчивость животных.** Заболевания животных, вызванные протеем, не описаны.

**Источники инфекции.** Протеи обычно попадают во внешнюю среду с испражнениями человека. Таким образом, человек - источник инфекции.

**Пути передачи.** Пищевой, контактно-бытовой (грязные руки, белье, предметы обихода, хирургические инструменты).

**Патогенез**. Протей вызывает различные формы инфекции. При попадании в организм через рот, особенно с пищевыми продуктами, в которых произошло размножение возбудителя, протей вызывает пищевые токсикоинфекции. При внедрении в организм через раневую и ожоговую поверхность развиваются гнойно-воспалительные процессы в различных органах.

**Профилактика.** Соблюдение санитарно-гигиенического режима на пищевых предприятиях, в больницах и детских учреждениях. Специфическая профилактика отсутствует.

**Лечение**. Гентамицин, карбенициллин, канамицин и др. При поражении мочеполовой области применяют препараты нитрофуранового ряда: фурагин, 5-НОК и др. Имеется протейный фаг, применение которого дает хороший эффект.

9 день

13.06.2020

Методический день

10 день

15.06.2020

**Клебсиеллы**

Род Klebsiella, относящийся к семейству энтеробактерий, объединяет капсульные бактерии, вызывающие различные заболевания: пневмонию и гнойно-воспалительные процессы - К. pneumoniae, риносклерому - К. rinoscleromatis, озену (зловонный насморк) - К. ozaenae.

**Морфология.** Клебсиеллы - короткие толстые палочки, размером 0,6-6,0 × 0,3-1,5 мкм с закругленными концами. Неподвижны. Образуют капсулу. В мазках располагаются одиночно, попарно или короткими цепочками.

**Культивирование.** Клебсиеллы - факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при 35-37° С. На плотных средах образуют куполообразные слизистые колонии, на бульоне - интенсивное помутнение.

**Ферментативные свойства.** Ферментируют лактозу, расщепляют глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа, разлагают мочевину, не образуют индола и сероводорода.

**Токсинообразование.** Обладают эндотоксином. Вирулентность их зависит от наличия капсулы - бескапсульные формы менее вирулентны.

**Антигенная структура**. Клебсиеллы содержат капсульые К- и соматические О-антигены. Сочетание этих нтигенов обусловливает принадлежность культур к определенным сероварам. В настоящее время известно 80 К- и 11 О-антигенов.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Благодаря наличию капсулы клебсиеллы устойчивы и длительно сохраняются в почве, воде, на предметах обихода. При 65° С погибают в течение часа. Чувствительны к действию растворов дезинфицирующих веществ (хлорамина, фенола и др.). Отмечается высокая резистентность к антибиотикам.

**Восприимчивость животных.** В естественных условиях вызывают заболевания различных животных: коров, свиней, лошадей (мастит, пневмонию, септицемию).

**Источники инфекции.** При экзогенной инфекции источником инфекции являются больной человек и здоровый носитель.

**Пути передачи**. Контактно-бытовой (грязные руки, предметы обихода). В детских учреждениях и больницах инфекция часто передается через белье, инструментарий, игрушки.

**Патогенез.** Клебсиеллезы развиваются большей частью как вторичная инфекция у лиц с пониженной сопротивляемостью и у новорожденных (недоношенных). Бактерии из верхних дыхательных путей и кишечника проникают в различные органы и кровь и вызывают гнойно-воспалительные процессы, сепсис, менингит.

**Иммунитет.** Послеинфекционный иммунитет непродолжителен и развивается только в отношении одного определенного возбудителя (серовара).

**Профилактика.** Соблюдение санитарно-гигиенического режима в родильных домах, больницах, детских учреждениях. Специфическая профилактика отсутствует.

**Лечение** затруднено в связи с высокой устойчивостью клебсиелл к антибиотикам. Наиболее эффективно применение гентамицина, канамицина, иногда ампициллина.

**Иерсинии**

Род Yersinia относится к семейству энтеробактерий, включает несколько видов: Yersinia pestis - возбудитель чумы; Yersinia pseudotuberculosis - возбудитель псевдотуберкулеза, Yersinia enterocolitica и др.

Yersinia enterocolitica широко распространены в природе. Обычно они обитают в организме грызунов, часто встречаются у домашних животных.

**Морфология.** Мелкие грамотрицательные палочки с закругленными концами. Средний размер 0,8-1,2 × 0,3-0,7 мкм, но в старых культурах могут быть длиннее и иметь вид нитей. Подвижны. Спор не образуют.

**Культивирование.** Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах. Наиболее благоприятна для роста температура 22-28° С.

На МПА образуют мелкие блестящие бесцветные колонии (росинки), увеличивающиеся при удлинении сроков выращивания (при 22-25° С). При культивировании при 37° С колонии непрозрачны, имеют неровный фестончатый край и выпуклый центр.

Могут расти при высоком содержании натрия хлорида в среде (до 4%)

**Ферментативные свойства.** Расщепляют глюкозу без образования газа, не ферментируют сахарозу. Сероводород не образуют, образование индола непостоянно.

**Токсинообразование.** Содержат эндотоксин. Некоторые штаммы продуцируют экзотоксин.

**Антигенная структура.** Y. enterocolitica имеют О-, К- и Н-антигены. О-соматический антиген является липополисахаридом. Возбудители заболеваний человека чаще всего принадлежат к сероварам О9, О3, О5.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** К воздействию высокой температуры неустойчивы. При 100° С погибают мгновенно, при нагревании до 60-80° С - через 15-20 мин. Хорошо сохраняются при низкой температуре (-15 -20° С), при 4-14° С не только сохраняются, но и размножаются. Прямой солнечный свет убивает их в течение 30 мин, рассеянный - через 6-8 ч. Быстро погибают при высыхании. В пищевых продуктах могут длительно сохраняться и даже размножаться.

Растворы дезинфицирующих веществ (сулема, хлорамин, фенол) убивают иерсинии за несколько минут.

**Восприимчивость животных.** Лабораторные животные практически не чувствительны к Y. enterocolitica. В естественных условиях они могут вызвать тяжелые заболевания грызунов, свиней, кошек, собак, часто со смертельным исходом.

**Источники инфекции.** Чаще больные животные, реже человек.

**Пути передачи.** Пищевой.

**Патогенез.** Попадая через рот в желудочно-кишечный тракт, иерсинии размножаются. Иногда они проникают в эпителиальные клетки кишечника и размножаются внутри них. Эндотоксин и токсические вещества, вырабатываемые иерсиниями, вызывают явления острого гастроэнтероколита. При проникновении возбудителей в кровь развиваются бактериемия и генерализованный процесс, при котором поражаются разные органы: печень, селезенка и др.

**Профилактика.** Санитарный контроль за хранением и обработкой пищевых продуктов. Соблюдение санитарно-гигиенического режима на предприятиях общественного питания и правил личной гигиены.

**Специфическая профилактика** отсутствует.

**Лечение.** Антибиотики и симптоматическое лечение.

11 день

16.06.2020

**Иммунодиагностика (РА, РП, РСК, РИФ, РНГА, ПЦР)**

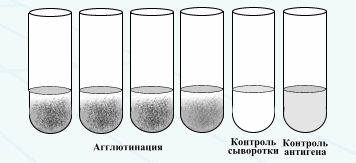
**Реакция агглютинации (РА).**

Реакция агглютинации – это иммунная реакция взаимодействия антигена с антителами в присутствии электролитов. При данной реакции происходит склеивание антигенов с антителами, образуется хлопьевидный осадок.

Самый простой способ постановки РА – РА на стекле: ориентировочная РА, применяемая для определения возбудителя, выделенного от больного.

На предметное стекло наносят диагностическую агглютинирующую сыворотку (разведение 1:10 или 1:20), затем вносят культуру от больного. Реакция положительна, если в капле появляется хлопьевидный осадок. Рядом ставят контроль: вместо сыворотки наносят каплю физраствора.

При отрицательном результате в капле наблюдается равномерная муть.



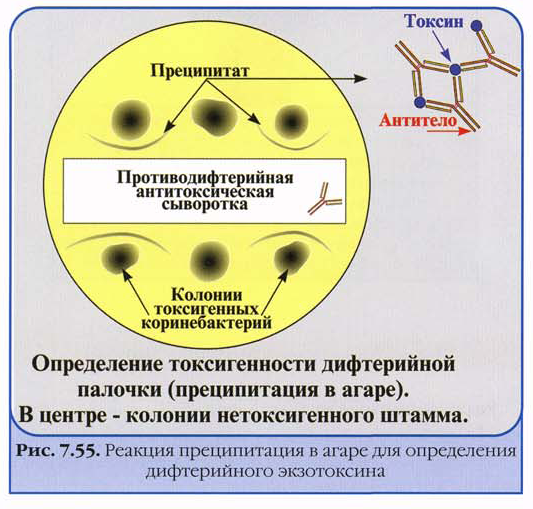
**Реакция преципитации (РП) в агаре.**

Взаимодействие антигена и антитела происходит в плотной среде. Образующийся преципитат при взаимодействии токсина и антитоксина дает в толще среды мутную полосу (закругленные линии). Отсутствие полосы свидетельствует о несоответствии компонентов реакции. Реакция применяется при изучении токсинообразования у возбудителя дифтерии.

В чашки Петри разливают агар Мартена (12-15 мл), сохраняя прозрачность. После застывания агара накладывают полоску стерильной фильтровальной бумаги, смоченной противодифтерийной антитоксической сывороткой.

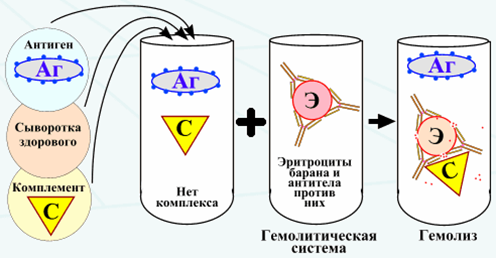
Испытуемую культуру засевают с помощью петли «бляшками» (d=0.8-1.0 см) на расстоянии 0,5-0,7 см от края бумаги. Между двумя бляшками испытуемой культуры засевают бляшки токсигенного штамма.

Испытуемую культуру считают токсигенной, если линии преципитации четки и сливаются с линиями преципитации контрольного (токсигенного) штамма. Если линии преципитации перекрещиваются с линиями контрольного штамма или отсутствуют, выделенную культуру считают нетоксигенной.



**Реакция связывания комплемента (РСК)**

Антитела, взаимодействуя с соответствующим антигеном, связывают добавленный комплемент (1-я система). Индикатором связывания комплемента служат эритроциты, сенсибилизированные гемолитической сывороткой, т. е. антителами к эритроцитам (2-я система). Если комплемент не фиксируется в 1 системе, т.е. не происходит реакция антиген-антитело, то сенсибилизированные эритроциты полностью лизируются (отрицательная реакция). При связывании комплемента иммунными комплексами 1-й системы после добавления сенсибилизированных эритроцитов гемолиз отсутствует (положительная реакция). РСК используется для диагностики инфекционных болезней.



12 день

17.06.2020

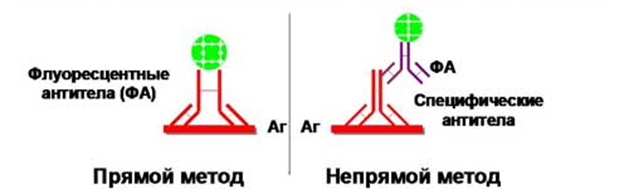
**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) (метод Кунса).**

Различают три разновидности метода прямой, непрямой, с комплементом. Реакция Кунса является методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами.

В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.



**Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА или РПГА)**

В лунках полистироловых планшетов готовят ряд последовательных разведений сыворотки. В предпоследнюю лунку вносят - 0,5 мл заведомо положительной сыворотки и в последнюю 0,5 мл физиологического раствора (контроль). Затем во все лунки добавляют по 0,1 мл разведенного эритроцитарного диагностикума, встряхивают и помещают в термостат на 2 ч.

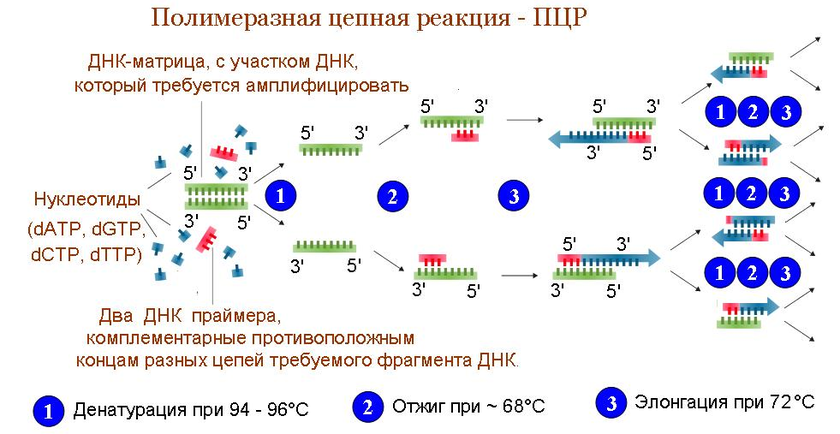
В положительном случае эритроциты оседают на дне лунки в виде ровного слоя клеток со складчатым или зазубренным краем (перевернутый зонтик), в отрицательном - оседают в виде пуговки или колечка.



**ПЦР**

Полимера́зная цепна́я реа́кция (ПЦР) — метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

Метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка нуклеиновой кислоты ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (in vitro). При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. В отличие от амплификации ДНК в живых организмах (репликации), с помощью ПЦР амплифицируются относительно короткие участки ДНК. В обычном ПЦР-процессе длина копируемых ДНК-участков составляет не более 3000 пар оснований (3 kbp[10]). С помощью смеси различных полимераз, с использованием добавок и при определённых условиях длина ПЦР-фрагмента может достигать 20—40 тысяч пар нуклеотидов. Это всё равно значительно меньше длины хромосомной ДНК эукариотической клетки.



13 день

18.06.2020

**Санитарно-бактериологическое исследование воздуха, смывов**

**Методы и приборы для отбора проб воздуха**

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха включает 4

этапа:

1) отбор проб воздуха;

2) обработку, транспортировку, хранение проб и концентрирование;

3) выделение микробов;

4) идентификацию выделенной культуры.

**Первый этап** - отбор проб - является наиболее ответственным.

Правильное взятие проб гарантирует точность исследования. В закрытых

помещениях точки отбора проб устанавливаются из расчета на каждые 20 м2

площади одна проба воздуха по типу конверта: 4 точки по углам комнаты (на

расстоянии 0,5 м от стен) и 5-я точка - в центре. Пробы воздуха забирают на

высоте 1,6 - 1,8 м от пола - на уровне дыхания в жилых помещениях и на

уровне коек - в условиях больничных палат. Пробы необходимо отбирать днем

(в период активной деятельности человека), после влажной уборки и

проветривания помещения, что необходимо для получения более полных

сведений о бактериальной загрязненности воздуха. Атмосферный воздух

исследуют в жилой зоне на уровне 0,5 - -2 м от земли вблизи источников

загрязнения, а также в зеленых зонах (парки, сады и т. д.) для оценки их

влияния на микрофлору воздуха.

Все методы отбора проб воздуха можно разделить: **седиментационные**

**и аспирационные.**

**Седиментационный** - наиболее старый метод, широко распространен

благодаря простоте и доступности, однако является неточным. Метод

предложен Р. Кохом и заключается в способности микроорганизмов в силу

тяжести и под влиянием движения воздуха (вместе с частицами пыли и

капельками аэрозоля) оседать на поверхность питательной среды в открытые

чашки Петри. Чашки устанавливаются в точках отбора на горизонтальной

поверхности. При определении общей микробной обсемененности чашки с

мясопептонным агаром оставляют открытыми на 5 - 10 мин или дольше в

зависимости от степени предполагаемого бактериального загрязнения. Для

выявления санитарно-показательных микробов применяют среду Гарро или

Туржецкого для обнаружения стрептококков, молочно-солевой или желточносолевой для определения стафилококков. Чашки оставляют открытыми в

течение 40 - 60 мин. По окончании экспозиции все чашки закрывают,

помещают в термостат на сутки для подращивания, затем на 48 ч оставляют

при комнатной температуре для образования пигмента

пигментообразующими микроорганизмами.

**Седиментационный метод имеет ряд недостатков:** на поверхность

среды оседают только грубодисперсные фракции аэрозоля; нередко колонии

образуются не из единичной клетки, а из скопления микробов; на

применяемых питательных средах вырастает только часть воздушной

микрофлоры. К тому же этот метод совершенно непригоден при исследовании

бактериальной загрязненности атмосферного воздуха.

Более совершенными методами являются **аспирационные**, основанные

на принудительном осаждении микроорганизмов из воздуха на поверхность

плотной питательной среды или в улавливающую жидкость (мясопептонный

бульон, буферный раствор, изотонический раствор хлорида натрия и др.).

В практике санитарной службы используется аппарат Кротова,

бактериоуловитель Речменского, прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-l),

пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-l), бактериальновирусный электропреципитатор (БВЭП-l), прибор Киктенко, приборы

Андерсена, Дьяконова, МБ и др. для исследования атмосферы могут быть

использованы и мембранные фильтры N~ 4, через которые воздух

просасывается с помощью аппарата Зейтца. Большое разнообразие приборов

свидетельствует об отсутствии универсального аппарата и о большей или

меньшей степени их несовершенства.

**Прибор Кротова.** В настоящее время этот прибор широко применяется

при исследовании воздуха закрытых помещений и имеется в лабораториях

СЭс. Принцип работы аппарата Кротова (рис. 1) основан на том, что воздух,

просасываемый через клиновидную щель в крышке аппарата, ударяется о

поверхность питательной среды, при этом частицы пыли и аэрозоля

прилипают к среде, а вместе с ними и микроорганизмы, находящиеся в

воздухе. Чашку Петри с тонким слоем среды укрепляют на вращающемся

столике аппарата, что обеспечивает равномерное распределение бактерий на

поверхности. Работает аппарат от электросети. После отбора пробы с

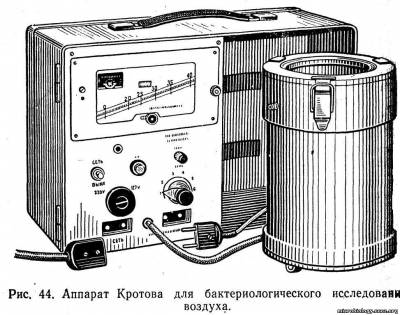
определенной экспозицией чашку вынимают, закрывают крышкой и

помещают на 48 ч в термостат. Обычно отбор проб проводят со скоростью 20

- 25 л/мин в течение 5 мин. Таким, образом определяется флора в 100 л

воздуха. При обнаружении санитарно-показательных микроорганизмов объем

исследуемого воздуха увеличивают до 250 л.



**Определение общей численности сапрофитных бактерий**

Общая бактериальная обсемененность воздуха или микробное число -

это суммарное количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м3

воздуха.

Для определения общего числа бактерий в воздухе закрытых помещений

забирают две пробы на чашки Петри с мясопептонным агаром при помощи

любого прибора (чаще всего аппарата Кротова) объемом по 100 мл каждая.

Число выросших колоний не должно превышать 200 - 250, наиболее

благоприятные условия для подсчета и последующей характеристики - при

росте 100 - 150 колоний (рис. 2). Чашки с посевом помещают в термостат на

сутки для подращивания и затем на 48 ч оставляют при комнатной

температуре. Подсчитывают количество колоний на обеих чашках, вычисляют

среднее арифметическое и делают перерасчет на количество микроорганизмов

в 1 м3

воздуха. Если колонии очень мелкие или их очень много, то

подсчитывать лучше с помощью лупы. Выдерживание чашек с посевами на

свету дает возможность подсчитать раздельно количество пигментных

колоний (желтых, белых, розовых, черных, оранжевых и др.), количество

спорообразующих бацилл, грибов, актиномицетов. Бациллы образуют

колонии, как правило, крупные, круглые, с неровными краями, сухие,

морщинистые. Колонии грибов с пушистым налетом мукор и аспергиллы) и

плотные - зеленоватые или сероватые (пенициллы). Актиномицеты образуют

беловатые колонии, вросшие в агар. Количество каждой группы колоний

(пигментных, беспигментных, плесеней, бацилл, актиномицетов) выражают в

процентах по отношению к общему числу. При определении микробного

числа методом седиментации по Коху подсчитываются колонии, выросшие на

мясопептонном агаре в чашках Петри. Обнаружение патогенных

стафилококков в воздухе закрытых помещений имеет санитарнопоказательное значение и свидетельствует об эпидемическом благополучии.

**Отбор проб воздуха производится с помощью аппарата Кротова** в

количестве 250 л на 2 - 3 чашки с молочно-желточно-солевым агаром (или

молочно-солевым, желточно-солевым) и на чашку с кровяным агаром. Чашки

инкубируют при температуре 37 ос в течение 48 ч. Патогенные стафилококки

на кровяном агаре образуют колонии диаметром 2 - 3 мм, окруженные

прозрачной зоной гемолиза; на молочно-желточно-солевом агаре - колонии,

окруженные зоной просветления (протеолитическая активность) и радужным

венчиком (наличие фермента - лецитовиллазы). Из подозрительных колоний

готовят мазки и окрашивают по Граму. Из колоний, содержащих

грамположительные кокки, располагающиеся в виде характерных

«виноградных гроздей», делают высев на скошенный агар для выделения

чистой культуры. Учет производят через 1, 2, 4 ч и затем 24 ч по образованию

небольшого желеобразного сгустка на дне пробирки. Выделенные

стафилококки подвергаются фаготипированию при необходимости

установления источника возникновения стафилококковой и путей

распространения. Увеличение циркуляции в воздухе больничных палат

патогенных стафилококков определенных фагов, полирезистентных к

антибиотикам, являются предшественником развития внутрибольничных

инфекций. Помимо качественной характеристики отдельных колоний,

подсчитывают количество выросших колоний стафилококков в 1 м3

воздуха.

**Определение стрептококков**

**Стрептококки** также являются санитарно-показательными

микроорганизмами воздуха, в который они попали от больных скарлатиной,

тонзиллитами, ангиной и носителей стрептококков. Отбор проб воздуха при

исследовании на наличие, а - и в-гемолитических стрептококков производится

с помощью аппарата Кротова на чашки с кровяным агаром, средами Гарро и

Туржецкого. Забирают 200 - 250 л воздуха, чашки с посевами выдерживают в

термостате 18- 24 ч и затем 48 ч при комнатной температуре (после

предварительного просмотра и учета). На кровяном агаре стрептококки

образуют мелкие (точечные) сероватые колонии с прозрачной зоной гемолиза

(Р- гемолитические) и колонии с зеленовато-бурым ореолом и повышенной

прозрачностью среды (а-зеленящие). На кровяном агаре нередко рост

стрептококков подавляется быстрорастущей другой микрофлорой воздуха.

Поэтому учет лучше вести на чашках с элективными средами - Гарро и

Туржецкого, в которые для подавления сопутствующей флоры добавляют

генциан фиолетовый, обладающий бактериостатическими свойствами в

отношении сапрофитов воздуха. После подсчета выросших колоний из

подозрительных на стрептококки делают мазки (стрептококки располагаются

короткими цепочками или скоплениями) и затем пересевают на кровяной агар

или в сахарный бульон. В бульоне стрептококки образуют цепочки, в чем

необходимо убедиться с помощью микроскопии мазков, приготовленных из

характерного придонного осадка (в виде хлопьев или крошек на дне пробирки

при прозрачном бульоне).



**Первый день исследования**

Отобранные пробы помещают в термостат при 37° С на 18-24 ч.

**Второй день исследования**

Чашку вынимают из термостата и производят подсчет колоний. Бактериальное загрязнение воздуха выражается общим числом микробов в 1 м3 его.

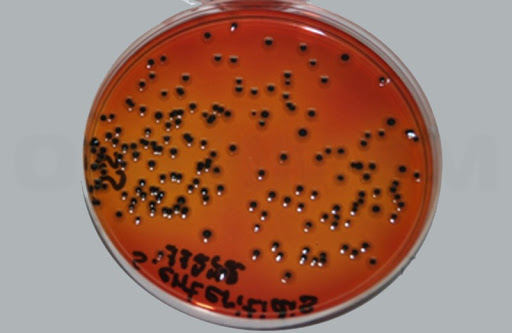
Расчет. Например, за 10 мин пропущено 125 л воздуха, на поверхности выросло 100 колоний.

Число микробов в 1 м воздуха = (100×1000)/125= 800

Для определения золотистого стафилококка забор производят на желточно-солевой агар. Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37° С в течение 24 ч и 24 ч выдерживают при комнатной температуре для выявления пигмента. Колонии, подозрительные на S. aureus, подлежат дальнейшей идентификации.



В детских учреждениях воздух проверяют на наличие сальмонелл. Для этого воздух засевают в чашку со средой висмут-сульфитный агар.



Выявление патогенных бактерий и вирусов в воздухе закрытых помещений проводят по эпидемиологическим показаниям. Для выявления возбудителей туберкулеза пользуются прибором ПОВ, в качестве улавливающей используется среда Школьниковой.

14 день

19.06.2020

**Санитарно-бактериологическое исследование смывов**

Для оценки санитарно-гигиенического состояния предприятий общественного питания, предприятий пищевой промышленности, лечебно-профилактических и детских учреждений проводят исследование смывов с рук персонала и предметов окружающей обстановки.

В зависимости от цели исследования определяют:

1. Наличие БГКП.

2. Наличие S. aureus.

3. Общее количество бактерий.

Исследования на патогенную микрофлору проводят только по эпидпоказаниям.

На предприятиях общественного питания и в детских учреждениях исследования обычно ограничивают выявлением БГКП (как показатель фекального загрязнения) и S. aureus.

В отделениях хирургического профиля (операционных, отделениях реанимации, интенсивной терапии и т. д.), кроме вышеуказанных показателей, определяют количественную обсемененность микроорганизмами, наличие синегнойной палочки и протея.

**Отбор проб.** Взятие проб осуществляют методом смывов. Используют ватные тампоны (палочка с намотанной на нее ватой вставлена в пробирку) или салфетки 5×5 см, которые захватывают стерильным пинцетом. Тампоны и салфетки увлажняют, помещая их в пробирки с 2 мл изотонического раствора натрия хлорида.

*Примечание*. Марлевые салфетки, предварительно завернутые по одной в бумажные пакетики, и ватные тампоны, помещенные в пробирки, стерилизуют в стерилизационном шкафу 1 ч при 160° С.

Смывы с рук делают в следующей последовательности: начинают с левой руки, с участков меньшей загрязненности - протирают тыльную сторону руки от кисти к пальцам, затем ладонную сторону, между пальцами и под ногтевым ложем. Этим же тампоном в такой же последовательности производят смывы с правой руки.

Смывы с предметов обихода при контроле больших поверхностей делают из нескольких мест. Исследуемые участки ограничивают рамкой трафарета площадью 50×50 или 100×100 см2. Трафарет изготовляют из проволоки и перед употреблением прожигают над пламенем горелки.

*Примечание.* Смывы, как правило, берут с чистых, подготовленных к работе предметов, а с бывших в употреблении - только по эпидпоказаниям.

**Исследование на БГКП**

**Первый день исследования**

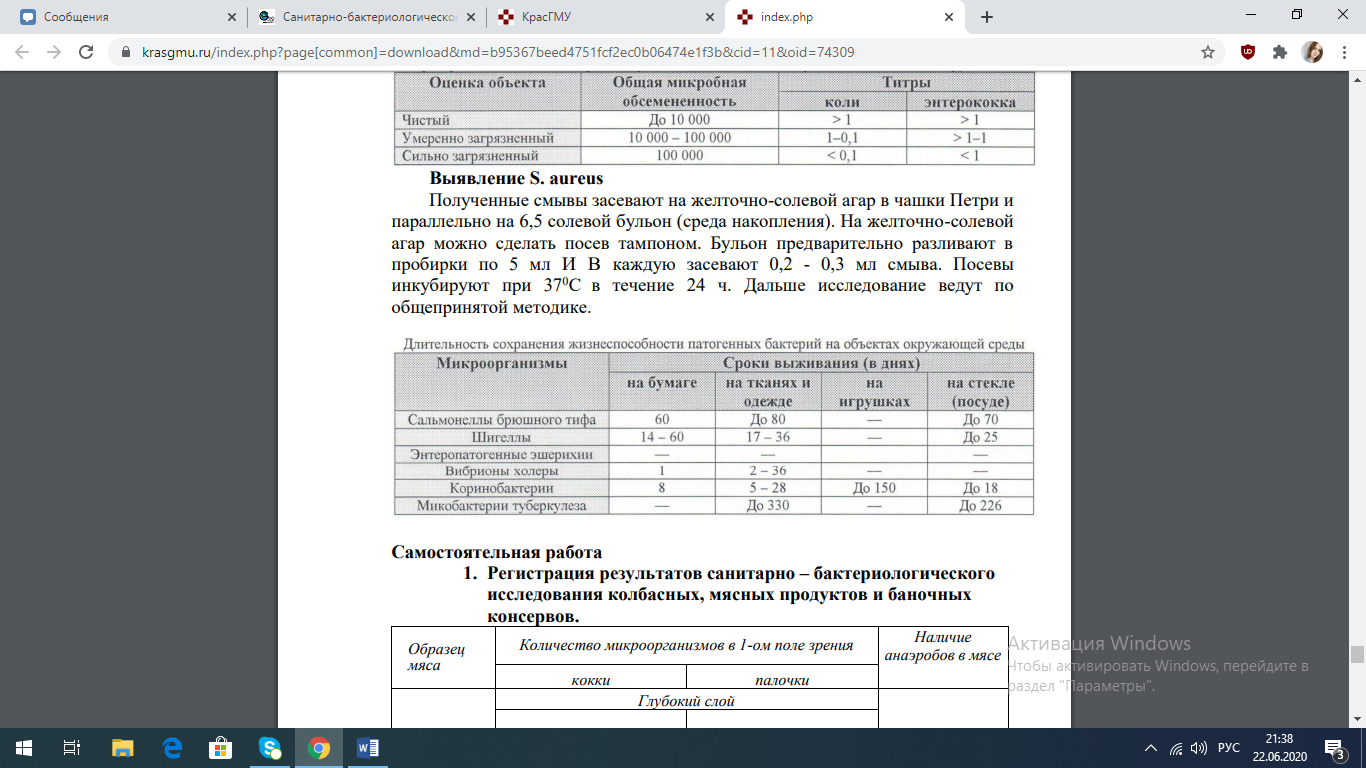
Взятые смывы засевают на среду Кода. При росте кишечной палочки среда изменяет цвет. При изменении цвета среды исследуемый материал пересевают на среду Эндо.

**Второй день исследования**

Изучают колонии на среде Эндо. Из подозрительных колоний делают мазки и микроскопируют. Дальше исследование ведут по обычной схеме.

**Выявление S. aureus**

Полученные смывы засевают на желточно-солевой агар в чашке Петри и параллельно на 6,5% солевой бульон (среда накопления). На желточно-солевой агар можно сделать посев тампоном. Бульон предварительно разливают в пробирки по 5 мл и в каждую засевают 0,2-0,3 мл смыва. Посевы инкубируют при 37° С в течение 24 ч. Дальше исследование ведут по общепринятой методике.



**Определение стафилококков, сальмонелл, протеев, синегнойной**

**палочки в смывах**

Имеющиеся инструктивные материалы по санитарномикробиологическому контролю предприятий общественного питания и торговли пищевыми продуктами указывают на то, что фекальное загрязнение

должно быть исключено, т. е. не должно быть БГКП на оборудовании, на

вымытой посуде. На всех обследуемых предметах обихода и оборудования не

должны обнаруживаться патогенные микроорганизмы, их присутствие

указывает на реальную опасность заражения. К сожалению, в больничных

условиях избежать фекального загрязнения не всегда удается.

В связи с этим, исходя из опыта санитарной практики, если БГКП

обнаруживается только в 5 проб, взятых с предметов обихода и оборудования,

санитарно-гигиеническое состояние обследуемого лечебного учреждения

расценивается как удовлетворительное. В то же время выделение патогенных

стафилококков в клиниках хирургического профиля и в родильных домах с

предметов обихода и от персонала свидетельствует о санитарном

неблагополучии. В этом случае проводится обязательное определение

фаговаров и антибиотикограммы выделяемых стафилококков.

При обследовании различных объектов на стерильность (перевязочный и

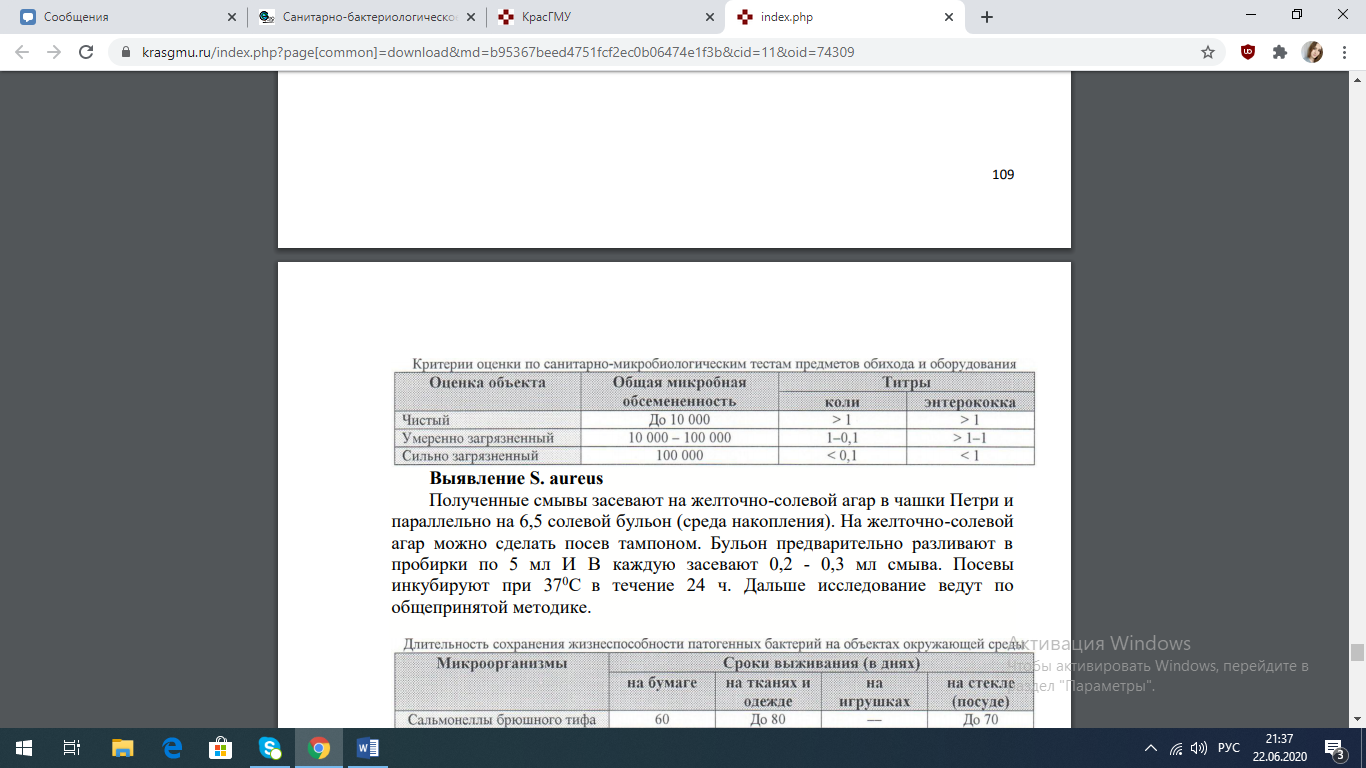
шовный материал, системы переливания крови, шприцы, иглы, грудное

молоко, жидкость для питья детей и т. д.) не должно быть роста во всех

посевах.

При оценке санитарно-гигиенического состояния предметов обихода и

оборудования можно ориентироваться на критерии.



**Проведение санитарно бактериологического исследования смывов**

**и хирургического материала**

Посевы исследуемого материала производят в боксе, соблюдая правила

асептики. Выявляют аэробную и анаэробную микрофлору.

**Для проведения посевов необходимы:**

1) набор стерильных инструментов (ножницы, корнцанги, анатомические

пинцеты);

2) стерильный 10% раствор гипосульфита;

3) стерильная дистиллированная вода;

4) питательные среды: сахарный бульон Хоттингера, среда Сабуро и

тиогликолевая среда.

**Материал для исследования направляют в день его стерилизации в**

**закрытых и опечатанных биксах.**

**Исследованию подлежат:** бинты, тампоны, ватные шарики, марлевые

салфетки и шовный материал (кетгут и шелк).

Материал, подлежащий исследованию, достают из бикса стерильным

пинцетом, над пламенем горелки вырезают из разных участков кусочки,

помещают их в стерильные чашки Петри и производят посев каждого образца

в 2 пробирки сахарного бульона и среду Сабуро.

**Шовный материал.** Кетгут сохраняют в спиртовом растворе йода. Для

нейтрализации йода кетгут помещают на 24 ч в баночку с 10% раствором

гипосульфита и на 24 ч в стерильную дистиллированную воду. Шелк

сохраняют в спирте, а перед посевом моток шелка выдерживают 24 ч в

стерильной дистиллированной воде.

Подготовленный таким образом шовный материал стерильным пинцетом

извлекают из дистиллированной воды, кладут в чашку Петри, стерильными

ножницами разрезают на куски длиной 2-5 см. Отдельные кусочки засевают

на 2 пробирки каждой из вышеуказанных сред.

Посевы ставят в термостат при температуре 37° С, инкубируют 12-14

дней, просматривая их каждый день (посевы на среде Сабуро инкубируют при

20-22° С). При наличии роста в пробирках материал признается нестерильным.

**Определение общего числа бактерий**

**Первый день исследования**

К 2 мл взятых смывов прибавляют 8 мл изотонического раствора натрия хлорида. Получается разведение 1:5. Тампоны тщательно отмывают встряхиванием. 1 мл засевают в чашку Петри и заливают 12 мл расплавленного и остуженного до 45° С агара. Чашки инкубируют в термостате при 37° С 24 ч.

**Второй день исследования**

Посевы вынимают из термостата, подсчитывают количество выросших колоний и делают пересчет на 1 см2 исследуемой поверхности.

15 день

20.06.2020

Методический день

16 день

22.06.2020

**Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ**

**Стерилизация** – это обеспложивание, т. е. полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

Стерилизацию производят различными способами:

1) физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, использование бактериальных фильтров);

2) химическими (использование различных дезинфектантов, антисептиков);

3) биологическим (применение антибиотиков).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

**1.Стерилизация с помощью высокой температуры.**

Эта стерилизация представляет собой прокаливание на пламени спиртовки. С помощью этого метода можно простерилизовать иглы и петли для посева, пинцет идр. Петлю или иглу поднести к пламени и держать до тех пор, пока она не покраснеет, после этого инструмент считается стерильным.

**2.Кипячение.**

Кипячение с добавлением в воду 1% соды В этот раствор помещают инструментарии и кипятят в течение 30 минут.

**3.Стерилизация паром под давлением.**

При этой стерилизации происходит полное уничтожение спор, при температуре 120 градусов.

**4.Дробная стерилизация.**

Это повторное кипячение через 24 часа.

**5.Стерилизация текучим паром под давлением в аппарате Коха.**

Здесь температура достигает 100 градусов.

**6. Стерилизация сухим паром в печи Пастера.**

Температура 170 градусов, стерилизация должна длится 2 часа.

**7.Пастерилизация.**

Стерилизация при температуре 60 – 70 градусов. Этим методом уничтожаются только вегетативные формы микроорганизмов.

17 день

23.06.2020

**Дезинфекции** подвергается отработанный патологический материал (гной, моча, кровь, спинномозговая жидкость, мокрота) перед сливом его в канализацию. Обеззараживание проводят сухой хлорной известью или 3 – 5% раствором хлорамина.

Загрязненные патологическим материалом или культурами микроорганизмов пипетки, шпатели, предметные и покровные стекла опускают на сутки в стеклянные банки с 3% раствором фенола или перекиси водорода.

По окончании работы с заразным материалом лаборант должен обработать дез. раствором рабочее место и руки.

Поверхность стола протирают кусочком ваты, смоченным 3% раствором хлорамина. Руки дезинфицируют 1% раствором хлорамина.

**Схема приготовления растворов хлорной извести**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Концентрация  хлорной извести в рабочих (осветленных)  растворах % | Количество основного раствора(10%) для приготовления осветленного рабочего раствора, мл | | Примечание |
| На 1 л | На 10 л |
| 0,2  0,5  0,1  3,0  5,0  10,0 | 20  50  100  300  500  основной раствор | 100  500  1000  3000  5000  основной раствор | Процент рабочего раствора определяется по весовому количеству хлорной извести, взятой для приготовления хлорно-известковой взвеси |

**Схема приготовления различных растворов хлорамина**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Концентрация, % | Количество хлорамина, г | |
| На 1 л | На 10 л |
| 0,2  0,5  1,0  2,0  5,0  10,0 | 2  5  10  20  50  100 | 20  50  100  200  500  1000 |

**Схема приготовления различных растворов карболовой кислоты**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Концентрация рабочего раствора карболовой кислоты % | Количество кристаллической кислоты г | | Количество жидкой карболовой кислоты, мл | |
| Для приготовления | | | |
| 1 л | 10 л | 1 л | 10 л |
| 3  5 | 30  50 | 300  500 | 33  55 - 60 | 330  550 - 600 |

18 день

24.06.2020

**Ответы на тест**

|  |  |
| --- | --- |
| № | ответ |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 4 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 4 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 4 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 4 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 4 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 4 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 3 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 1 |
|  | 2 |
|  | 1 |
|  | 1 |

**Индивидуальное задание**

**Возбудители туберкулеза**

Представители семейства микобактерий Mycobacteriaceae имеют вид тонких, иногда ветвистых палочек, чем напоминают гриб. Медленный рост на питательных средах также сближает их с грибами. Эти особенности объясняют название семейства, рода - Mycobacterium.

Микобактерий кислото-щелоче- и спиртоустойчивы, что обусловливается наличием в оболочках их клеток жировосковых веществ.

Род микобактерий включает патогенных и непатогенных представителей. Патогенными для человека являются возбудители туберкулеза и возбудитель лепры.

Туберкулез широко распространен среди животных, птиц, грызунов.

Существуют несколько видов туберкулезных палочек:

1. Человеческий - Mycobacterium tuberculosis

2. Бычий - Mycobacterium bovis

3. Птичий - Mycobacterium avium

4. Мышиный - Mycobacterium murium

5. Встречаются микобактерий, вызывающие заболевания у холоднокровных. К ним относится особая группа атипичных микобактерий.

В настоящее время атипичные микобактерий приобретают особое значение. Их делят по ряду признаков на 4 группы: I, II, III, IV (по Раньону). Они отличаются от микобактерий туберкулеза меньшей требовательностью к питательным средам. Между собой они различаются по отношению к питательным средам, скорости роста, по способности образовывать пигмент, а также по каталазной и пероксидазной активности. Вызывают заболевания у человека представители групп I и III.

**Морфология.** Возбудители туберкулеза были открыты р. Кохом в 1882 г. Это тонкие палочки величиной 1,5-4 × 0,3-0,5 мкм. Они очень полиморфны: встречаются прямые, изогнутые, колбовидные. Как результат изменчивости бактерий, имеются кислотоподатливые формы и очень мелкие, так называемые зерна Муха. Разнообразие форм нередко зависит от состава среды, воздействия на них антибиотиков и химиотерапевтических средств. Бактерии туберкулеза неподвижны, не имеют спор и капсул. Грамоположительны, однако они плохо воспринимают анилиновые краски. Хорошо окрашиваются в красный цвет по методу Циля- Нильсена (см. рис. 4), где используются концентрированные краски и протравливание.

**Культивирование.** Возбудители туберкулеза - аэробы. Растут при температуре 37-38° С и рН среды 5,8-7,0, Отличительными культуральными особенностями туберкулезной палочки являются медленный рост и требовательность к питательным средам. Первично они растут только на специальных средах: среде Петраньяни, Петрова, Левенштейна - Йенсена. Их можно выращивать на глицериновом бульоне, глицериновом агаре, глицериновом картофеле. Глицерин стимулирует рост микобактерий. М. bovis не нуждаются в глицерине. Наибольшее распространение получила среда Левенштейна - Йенсена, которая рекомендована ВОЗ в качестве стандартной среды для выращивания туберкулезных палочек. В настоящее время пользуются также средой Финна II, которая отличается от среды Левенштейна - Йенсена тем, что вместо аспарагина в ней используется глутамин натрия. На этой среде микобактерий туберкулезарастут несколько быстрее, чем на среде Левенштейна - Йенсена, и процент выделения культур выше. Туберкулезные палочки можно культивировать и на синтетических средах, например среде Сотона.

Микобактерий туберкулеза встречаются в R- и S-форме. Более вирулентной является R-форма (М. bovis чаще встречается в R-форме). На плотных питательных средах возбудители туберкулеза образуют сухие морщинистые колонии кремового цвета с чуть приподнятым Центром и изрезанными краями (см. рис. 26). В жидких питательных средах микобактерий туберкулеза вырастают на 10-15-й день в виде пленки, которая постепенно утолщается, становится грубой, морщинистой, ломкой и в силу тяжести иногда падает на дно. Бульон под пленкой остается прозрачным.

**Ферментативные свойства.** Возбудители туберкулеза биохимически мало активны. У них обнаружен протеолитический фермент, который в определенных условиях (кислая и щелочная среда) расщепляет белок. Они расщепляют также некоторые углеводы, образуют уреазу. Но свойства эти непостоянны. Поэтому изучение ферментов не имеет диагностического значения.

**Токсинообразование.** Возбудители туберкулеза образуют эндотоксин - это белковое вещество впервые выделил Р. Кох (1890) и назвал его туберкулином. "Старый" туберкулин - это культуральная жидкость, полученная при росте культуры в глицериновом бульоне и выпаренная при 70° С до 1/10 своего первоначального объема. "Новый" туберкулин - очищенный белковый дериват туберкулина.

Туберкулин обладает свойствами аллергена. Он не оказывает токсического действия на здоровый организм. Его действие проявляется только в зараженном организме. Поэтому введение туберкулина используют с диагностической целью, в постановках аллергических проб (Пирке или Манту). Для этой цели туберкулин готовят из бычьего типа микобактерий туберкулеза.

Вирулентные штаммы возбудителей туберкулеза содержат особый липид корд-фактор, который способствует склеиванию микобактерий и росту их в виде кос и тяжей.

**Антигенная структура.** Микобактерий туберкулеза содержат антиген, в который входят белковые, липоидные и полисахаридные факторы. Этот антиген вызывает в организме выработку антител (агглютининов, преципитинов, комплементсвязывающих веществ и др.). Однако эти антитела обнаруживаются в малых концентрациях, поэтому практически с целью диагностики мало используются.

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Микобактерий туберкулеза самые устойчивые из неспороносных форм бактерий (устойчивость обусловливается наличием в их оболочке липидов). Температуру 100° С они переносят в течение 5 мин. УФ-лучи вызывают их гибель только через несколько часов.

В высохшей мокроте они живут до 10 мес. При низких температурах микобактерий туберкулеза длительно сохраняются

Дезинфицирующие растворы: сулема (1:1000), карболовая кислота (5%) губят их только через сутки. Наиболее чувствительны они к хлорамину и хлорной извести.

**Восприимчивость животных**. К М. tuberculosis человек очень чувствителен, животные и птицы малочувствительны. Из экспериментальных животных к нему высокочувствительны морские свинки, у которых инфекция протекает генерализованно и заканчивается обычно гибелью животного.

К M. bovis чувствительны крупный и мелкий домашний скот и домашние животные (человек малочувствителен, но дети могут заражаться при использовании молока больных животных).

Из экспериментальных животных наиболее чувствительны кролики, у которых инфекция протекает генерализованно. М. avium вызывает заболевание у птиц: кур, голубей, фазанов и т. д. Однако могут болеть и некоторые животные (человек редко заражается).

Из экспериментальных животных чувствительны кролики. Инфекция протекает у них остро.

Мышиный вид патогенен главным образом для полевок. У кроликов и морских свинок заболевание протекает в хронической форме.

**Источники инфекции.** Человек. Реже животные.

**Пути передачи**. Наиболее частые пути передачи - воздушно-капельный и воздушно-пылевой; реже пищевой. Возможно внутриутробное инфицирование через плаценту.

**Заболевания у человека и патогенез.** Заболевание туберкулезом характеризуется многообразием клинических форм. Различают легочную (наиболее часто встречающуюся) и внелегочные формы: туберкулез желудка и кишечника, почек, мозговых оболочек, костей и других органов.

Каждая из этих форм может закончиться генерализацией процесса. При воздушно-капельном и воздушно-пылевом заражении первичный очаг возникает в легком. В пораженном органе образуется бугорок - tubercul. Бугорок представляет собой скопление лейкоцитов и гигантских клеток, внутри которых находятся микобактерий туберкулеза. При хорошей сопротивляемости организма соединительная ткань окружает бугорок, он обызвествляется и бактерии, оставаясь жизнеспособными, не выходят за пределы бугорка. Таков "очаг Гона" - обызвествленный, небольшой очаг на месте первичного внедрения туберкулезной палочки (закрытый процесс).

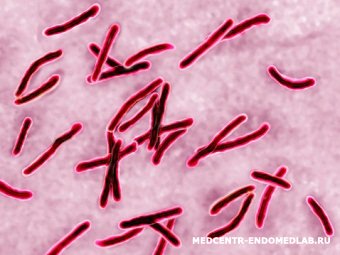
При закрытом процессе палочки туберкулеза не выделяются с мокротой, мочой и др.

Таким образом, даже при доброкачественном течении процесса организм не освобождается от возбудителей туберкулеза. Считают, что 80% людей инфицированы туберкулезными бактериями. Однако клинически они здоровы. Когда организм попадает в неблагоприятные условия, защитные функции его снижаются, бугорок подвергается некрозу, бактерии высвобождаются и вовлекают в процесс новые участки, наступает обострение, образуются каверны - открытый процесс. Иногда может быть генерализация процесса, которая приводит организм к гибели. Чаще туберкулез протекает в хронической форме (закрытый процесс). Большое значение при обострении имеют условия труда и быта.

**Иммунитет.** Человек обладает определенной резистентностью, т. е. при заражении не всегда возникает заболевание, а образуется инфекционный (нестерильный) иммунитет, который обусловливается комплексом защитных факторов: гуморальных, клеточных, а также резистентностью органов и тканей.

**Профилактика.** Ранняя диагностика, изоляция и т. д. Для специфической профилактики используется живая вакцина БЦЖ (BCG), полученная французскими учеными Кальметтом и Гереном. Эту вакцину вводят новорожденным однократно, внутрикожно в наружную поверхность плеча. Ревакцинацию проводят через 7-12 лет, а затем через каждые 5-6 лет до 30 лет.

**Лечение.** Антибактериальные препараты: стрептомицин, рифампицин, ПАСК, фтивазид и др.

микобактерии туберкулёза в чашке Петри микобактерии туберкулёза в мазке