

Л. А. АРЕВШАТЯН, Г. А. СРАПЯН

Ք МЕТОДИКЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗЕЛЕНИ, ОВОЩЕЙ И ПЛОДОВ НА ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ

Отечественными и зарубежными авторами неоднократно высказывалось мнение, что плоды, овощи и зелень являются факторами передачи кишечных инфекций бактериальной и вирусной этиологии [2, 3, 6, 15].

При изучении эпидемиологических особенностей брюшного тифа и паратифов возникла необходимость выяснить, какое значение имеют вышеуказанные пищевые продукты в передаче этих инфекций в условиях Армении. Доказано, что роль овощей, зелени и плодов в передаче кишечных инфекций, особенно в летний период, в республике велика.

Подъем заболеваемости в летний сезон некоторыми кишечными инфекциями (брюшной тиф, паратиф, дизентерия), а также результаты эпидемиологических наблюдений побудили нас приступить к детальному бактериологическому исследованию зелени, плодов и овощей, продаваемых на рынках г. Еревана.

В работе поставлена цель—выявить истинную зараженность обследуемых пищевых продуктов патогенными кишечными бактериями путем использования наиболее приемлемых методов и бактериологических сред и выяснить возможность внедрения их в повседневную лабораторную практику.

В стерильную колбу помещаются зелень, овощи или плоды (50 г), которые заливаются простерилизованной водопроводной водой в количестве 250 мл. Колба тщательно встряхивается в течение 15—20 мин. Из полученной смывной воды производится непосредственный посев на твердые дифференциальные среды Эндо, Плоскирева и Вильсон-Блера. С целью максимальной концентрации микроорганизмов 150 мл из смывной воды центрифугируется (5000—6000 об/мин. в течение 30 мин.), и из полученного осадка делается повторный посев на тех же твердых средах. Остаток воды в колбе засеивается в жидкие обогатительные среды (селенитовая и висмут-сульфитная электролиты—для тифо-паратифозных и дизентерийных возбудителей). Селенитовая среда готовилась в двойной концентрации с добавлением смывной воды в соотношении 1 : 1. Висмут-сульфитная среда бралась в тройной концентрации. При этом соотношение среды и смыва составляло 1 : 2. После внесения смывной воды в указанных соотношениях жидкие обогатительные среды не меняют своей первоначальной концентрации.

Посевы на твердых дифференциальных и жидких электролитных средах помещались в термостат при 37° в течение 18—20 ч. (кроме посевов на агар Вильсон-Блера, которые содержались 40—48 ч.), после чего на твердых средах учитывались результаты роста бактерий, а из жидких

сред производился пересев вновь на среды Эндо, Плоскирева и Вильсон-Блера, которые держались в термостате при тех же условиях до следующего дня.

Из бактерий, выращенных на твердых питательных средах, выбирались подозрительные колонии патогенных возбудителей в количестве 1—8 колоний (в среднем 4—5), дальнейшее изучение которых проводилось обычными бактериологическими методами до окончательной идентификации данной культуры.

Применение таких разнообразных сред и методов для изучения одной пробы имеет следующие преимущества: это позволяет увеличивать объем засеваемого материала, использовать имеющиеся отдельные положительные стороны разных питательных сред, расширить возможность дифференциации колоний на отдельных питательных средах, а также выяснить сравнительную эффективность разных питательных сред и методов. Последнее обстоятельство особенно важно, так как в нашей республике агар Вильсон-Блера и селенитовая среда были внедрены в лабораторную практику совсем недавно.

Ряд отечественных и зарубежных авторов [7, 9, 10, 12] отмечает большую элективность висмут-сульфитных сред для выращивания тифо-паратифозных микробов (агар, предложенный Вильсоном и Блером, а также жидкая висмут-сульфитная среда Емельяничика).

Основными ингредиентами этих сред являются лимоннокислый висмут, соль Мора, сульфит натрия, маннит или глюкоза, бриллиант-грюн или трипафлавин. В процессе роста тифозные бактерии в присутствии сбраживаемого углевода способны восстанавливать сульфиты до сульфатов. При наличии солей железа колонии приобретают черную окраску. На этой среде рост кишечной палочки подавляется висмут-сульфитом. Добавление бриллиант-груна способствует еще большему подавлению роста сопутствующей микрофлоры. Специальными опытами доказано, что наличие висмут-сульфита в среде парализует дыхательный процесс кишечной палочки, препятствуя окислению пировиноградной кислоты [4]. Элективность этой среды очень высока, она позволяет обнаружить 1 тифозную палочку в 1 мл сточных вод.

Основное действующее вещество селенитовой среды (цит. по [8]) — натрий-кислый-селенисто-кислый (NaHSeO_3), который избирательно действует на различные бактерии, тормозя рост кишечной и сенной палочек, стафило- и энтерококков и создает оптимальные условия для изоляции салмонелл (исключая *S. suipestifer*) и частично — шигелл [8, 13].

Всего нами было взято 344 пробы зелени, овощей и плодов, ввозимых частными лицами на рынки из пригорода г. Еревана, а также из районов республики. Из вышеуказанного количества проб в 31 случае (9%) были выделены 33 культуры, принадлежавшие к группе кишечных патогенных бактерий (табл. 1).

Как видно из таблицы, больше всего выделялись возбудители *Sh. dlexneri*, *S. anatum*, *Sh. sonnei*, *S. paratyphi* „В“, сравнительно меньше — бактерии брюшного тифа и паратифа «А». При этом был выде-

Таблица 1

Зараженность овощей, плодов и зелени патогенными микроорганизмами
кишечной группы

Количество исследованных проб	Число зараженных проб	% зараженных проб	Пробы, зараженные возбудителями в %										
			S. typhi	S. paratyphi „A“	S. paratyphi „B“	S. anatum	S. london	S. eastbourne	S. enteritidis	Негитизирующиеся салмонеллы	Sh. flexneri	Sh. sonnei	Sh. boydi
344	31	9,0	0,3	0,3	0,6	1,7	0,3	0,3	0,6	0,6	2,1	0,8	0,6

лен также редко встречающийся в нашей республике представитель салмонеллезной группы—S. eastbourne.

По данным Г. Р. Азизова [1, 2], при исследовании рыночных овощей тифо-паратифозные бактерии обнаруживались в 0,6, дизентерийные—0,3% случаев, между тем как, по нашим данным, эти показатели соответственно равнялись 1,16 и 4,3%.

Столь высокая загрязненность пищевых продуктов объясняется, по-видимому, разной методикой работы, а также тем обстоятельством, что мы, помимо овощей, изучали также зелень, загрязненность которой оказалась высокой.

Говоря об эффективности разных методов исследования, следует отметить, что для выделения салмонелл и шигелл наиболее эффективным оказался метод обогащения первичного смыва в селенитовой среде (процент высеваемости—5,2), далее следовал метод посева материала после центрифугирования смывной воды на твердые дифференциальные среды (высеваемость—4%). Непосредственный посев смывной воды на агары, а также обогащение ее висмут-сульфитным бульоном дали очень низкую высеваемость (0,8 и 0,9%), и поэтому мы считаем, что применение их для бактериологических исследований зелени и овощей нецелесообразно (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная эффективность различных методов исследования овощей, плодов и зелени

Возбудители	Метод прямого посева			Метод центрифугирования			Метод обогащения селенитовой средой			Метод обогащения висмут-сульфитной средой		
	проведено анализов	выделено возбудит.	°/о высеваемости	проведено анализов	выделено возбудит.	°/о высеваемости	проведено анализов	выделено возбудит.	°/о высеваемости	проведено анализов	выделено возбудит.	°/о высеваемости
Дизентерийная группа	344	2	0,7	342	10	2,9	286	4	1,4	127	—	—
Салмонеллезная группа		1	0,2		4	1,1		11	3,9		1	0,8

Примечательно, что для выделения бактерий дизентерийной группы самая высокая высеваемость была получена нами при применении метода центрифугации (2,9%). По высеваемости этот метод превосходил метод селенитового обогащения более чем в 2 раза (высеваемость—1,4%). Для выделения салмонелл отмечалась обратная картина: высеваемость при обогащении селенитовой средой (3,9%) превосходила тот же показатель при методе центрифугирования в 3,5 раза.

Это говорит о том, что во время бактериологических исследований объектов внешней среды на выявление салмонелл необходимо придерживаться метода обогащения смывов селенитовой средой, а для выявления шигелл—метода центрифугации с последующим посевом осадка на твердые дифференциальные среды. По нашим данным, при применении обоих методов исследования ни в одном случае не наблюдалось совпадения положительных результатов. Надо полагать, что при идентичных исследованиях для максимального выявления как салмонелл, так и шигелл рационально применение обоих методов параллельно.

О сравнительной эффективности выявления патогенных бактерий на твердых дифференциальных средах говорят данные, приведенные в табл. 3.

Таблица 3.

Высеваемость различных возбудителей на твердых питательных средах при исследовании овощей, плодов и зелени

Выявленные микроорга- низмы	Количество выделенных возбудите- лей	Н а с р е д а х		
		Эндо	Плоскирева	Вильсон- Блера
Шигеллы	16	2	13	1
Салмонеллы	17	1	7	9

Из таблицы видно, что из 33 культур, полученных при разных методах исследования, 20 выделены на среде бактоагар Плоскирева, 10—на агар Вильсон-Блера и лишь 3—на среде Эндо.

Из 20 культур, выделенных на бактоагаре Плоскирева, 13 принадлежали к бактериям дизентерийной группы, остальные 7—к салмонеллам. Из 10 выделенных бактерий на среде Вильсон-Блера подавляющее количество культур (9) принадлежало к салмонеллам. Следовательно, агар Вильсон-Блера можно считать самым элективным для выделения салмонелл, а бактоагар Плоскирева—для шигелл. Последний в достаточной степени пригоден и для выращивания салмонелл. Что касается агара Эндо, то эта среда, по нашим данным, не отличалась высокой эффективностью при выявлении изучаемых нами бактерий. В целях сокращения времени и объема работы при бактериологических исследованиях зелени и овощей целесообразно, на наш взгляд, довольствоваться параллельным применением бактоагара Плоскирева и агара Вильсон-Блера.

При подобных исследованиях вызывает интерес и вопрос о сезонном ходе выявления патогенных кишечных бактерий. По литературным данным известно, что в холодное время года создаются более благоприятные условия для долгой выживаемости микроорганизмов во внешней среде [14, 16]. Наблюдениями Е. М. Дашковой [5] установлено, что в экспериментально зараженной почве наиболее быстро (20—26 дней) обезвреживание бактерий наступало в летне-осенний период; осенью и зимой обезвреживание замедлялось (43—80 дней), что связано с отсутствием оптимальных температурных условий. В весенне-летний период на поверхности почвы жизнеспособность возбудителя сохранялась от 6 до 48 ч. В осенне-зимний период при той же интенсивности инфицирования она удлинялась до 7—10 дней.

С другой стороны, обилие дождей (осень) способствует более интенсивному загрязнению зелени и овощей в связи с тем, что капли дождя, отскакивая от почвы и попадая на эти растения, увеличивают возможность переноса микробов из почвы (табл. 4).

Таблица 4

Выявление микроорганизмов салмонеллезной и дизентерийной группы при исследованиях овощей, плодов и зелени в зависимости от сезона

Возбудители	Весенне-летний сезон			Осенне-летний сезон		
	количество проб	выделено		количество проб	выделено	
		число возбудителей	%		число возбудителей	%
Дизентерийная группа	202	10	4,9	142	5	3,5
Салмонеллезная группа		4	2,0		12	8,4

Если из проб зелени и овощей, привозимых в весенне-летний период, выявлены патогенные кишечные возбудители в 6,9% случаев, то в осенне-зимний период высеваемость повысилась до 11,9%. Нетрудно заметить, что это различие в основном обусловлено выявлением салмонелл. Парадоксальность этого факта требует дальнейшего изучения с целью выяснения его истинной природы.

Таким образом, наши исследования показали, что при исследованиях зелени, овощей и плодов высеваемость патогенных кишечных микроорганизмов в определенной степени зависит от применяемых методик.

Кафедра эпидемиологии
Ереванского медицинского института

Поступило 5/III 1968 г.

Լ. Ա. ԱՐԵՎԵՍՏՅԱՆ, Գ. Ա. ՍԱՐԱԳՏՅԱՆ

ԱՂԻՔԱՅԻՆ ԽՄԲԻ ԱԽՏԱԾԻՆ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ
ՎԵՐԱԲԵՐՅԱԼ ԿԱՆԱԶԵՂՆԵՐԻ ՊՏՈՒՂ-ԲԱՆՋԱՐԵՂՆԵՐԻ
ՀԵՏԱԶՈՏՄԱՆ ՄԵԹՈԴԻԿԱՅԻ ՇՈՒՐՋՐ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Նրանք քաղաքի բանջարահողներից, մի շարք մերձակա շրջաններից բերված ու նրանքի շուկաներում վաճառվող պտուղ-բանջարեղենի և կանաչեղենի վարակվածությունը ախտածին հարուցիչներով բավականին բարձր է՝ 9%:

Նշված սննդամթերքներում ախտածին հարուցիչների հայտնաբերման նպատակով մեր կողմից կիրառված մեթոդներից ամենաարդյունավետը ողողվածքի սելենիտային միջավայրում հարստացման մեթոդն է, այնուհետև ցինտրիֆուգացումից հետո կարծր միջավայրերի վրա նստվածքի ցանքսը:

Ստացված տվյալների համաձայն, պտուղ-բանջարեղենի և կանաչեղենի վարակվածությունը ախտածին հարուցիչներով ավելի բարձր է աշուն-ձմեռային սեզոնում, հիմնականում ի հաշիվ սալմոնելա խմբի:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Азизов Г. Р. Автореферат. М., 1958.
2. Азизов Г. Р. ЖМЭИ, 1961, 12, 118.
3. Григорьева Л. В. Гигиена и санитария, 1965, 12, 28.
4. Дашкевич И. О., Михайлов И. Ф. и Ярославцев А. Л. ЖМЭИ, 1957, 3, 78.
5. Дашкова Е. М. Автореферат. Ашхабад, 1966.
6. Джамбазян М. П. ЖМЭИ, 1958, 11, 73.
7. Емельяничук К. Г. Новая элективная среда для тифо-паратифозных бактерий. Орджоникидзе, 1958.
8. Жарикова М. С. ЖМЭИ, 1963, 8, 108.
9. Иоффе Ф. С. ЖМЭИ, 1940, 2—3, 91.
10. Каден М. М. ЖМЭИ, 1934, 12, 3, 445.
11. Мацына Л. И. ЖМЭИ, 1958, 3, 121.
12. Плоскирев Н. В. и Биткова А. Н. ЖМЭИ, 1952, 9, 67.
13. Равич-Биргер Е. Д., Эпштейн-Литвак Р. В. Бактериологические и серологические методы исследования при инфекционных заболеваниях. М., 1965.
14. Скворцов В. В., Киктенко В. С., Кучеренко В. Д. Выживаемость и индикация патогенных микробов во внешней среде. М., 1966.
15. Уварова А. И. ЖМЭИ, 1958, 3, 124.
16. Фишер Г. М. ЖМЭИ, 1950, 4, 96.