МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ПОЛИТИКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. ПАСТЕРА
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ДЕТСКИХ ИНФЕКЦИЙ

ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗ И ИЕРСИНИОЗ

(эпидемиология, клиника, диагностика, терапия)

Санкт-Петербург
2005

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. ПАСТЕРА
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ДЕТСКИХ ИНФЕКЦИЙ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента
госсанэпиднадзора
Минздрава России
С.И.Иванов

«14» 05 2004.
НН-3/8-09

ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗ И ИЕРСИНИОЗ

(эпидемиология, клиника, диагностика, терапия)

Методические рекомендации

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2005

Методические рекомендации содержат современные сведения по эпидемиологии иерсиниозов, особенности клинических проявлений и детальное освещение вопросов дифференциальной диагностики иерсиниозов с различными инфекционными и терапевтическими болезнями.

Особое внимание уделено методам обнаружения возбудителей (антигенов), эффективным средствам специфической диагностики.

Методические рекомендации предназначены эпидемиологам, инфекционистам, педиатрам и микробиологам.

Методические рекомендации разработаны специалистами:

ФГУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» - д.м.н. проф. Г.Я. Ценевой, н.с. Г.И. Кокориной, к.б.н. Е.А. Воскресенской; к.м.н. О.А. Шендерович;

ФГУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт детских инфекций» - д.м.н. проф. В.В. Ивановой, д. м. н. О.В. Тихомировой, к.м.н. М.К. Бехтеревой;

Министерства здравоохранения и социальной политики Российской Федерации – главным специалистом Т.Н. Фролочкиной.

Рецензенты: профессор В.В. Тэц
профессор О.И. Кошиль

ВВЕДЕНИЕ

Y. pseudotuberculosis и *Y. enterocolitica* широко распространены во многих странах мира, являясь причиной спорадической и групповой заболеваемости, при этом псевдотуберкулез характерен, в основном, для территорий с умеренным и холодным климатом.

В России псевдотуберкулез регистрируется практически повсеместно, однако наиболее высокие показатели заболеваемости характерны для Сибирского региона (в 2003 г. 24,45 на 100 тыс.), Дальнего Востока (10,52 на 100 тыс.) и Северо-Запада (9,75 на 100 тыс.), включая Санкт-Петербург. Заболеваемость иерсиниозом в указанных регионах также примерно в 2 – 2,5 раза превышает заболеваемость по стране: показатели на 100 тыс. в 2003 г. составили 2,95; 3,08 и 4,39, соответственно.

Дети болеют псевдотуберкулезом, как и иерсиниозом, в 4-5 раз чаще, чем взрослые. В последние годы отмечается тенденция к росту рецидивирующих и хронических форм.

Надо полагать, что фактическая заболеваемость, особенно иерсиниозом, значительно выше официально зарегистрированной, т.к. лабораторная диагностика данных инфекций до настоящего времени остается неунифицированной. Лабораторное подтверждение псевдотуберкулеза в Санкт-Петербурге в последние годы находится на уровне 50 %. В то же время во многих регионах России оно существенно ниже. Имеющийся на вооружении практики набор диагностических методов и средств для обнаружения возбудителей и их антигенов, определения специфических антител используется ограниченно и без учета особенностей клинического течения и периода болезни. Продолжает снижаться объем проводимых лабораторных исследований с диагностической целью, а также объектов внешней среды, продуктов питания, мелких млекопитающих, как с профилактической целью, так и по эпидемиологическим показаниям. Это приводит к искажению данных об уровне заболеваемости псевдотуберкулезом и иерсиниозом, тормозит расшифровку ОИЗ неясной этиологии, равно как и снижает эффективность эпиднадзора за инфекциями. Принадлежность *Y. enterocolitica* к 4 группе условно-патогенных бактерий также отрицательно влияет на обязательность проведения бактериологических исследований на этот вид микроорганизмов. Следует подчеркнуть, что вид *Y. enterocolitica*

объединяет большое число серотипов, чрезвычайно гетерогенных по своим вирулентным свойствам. Существуют также различия в проявлении патогенных свойств не только в пределах видов иерсиний, но также внутри отдельных серологических вариантов: от выраженной степени до их отсутствия у отдельных представителей. В этой связи определение патогенности изолированных иерсиний является обязательной.

В настоящее время серотипирование иерсиний на ряде территорий России не проводится. Имеющийся набор коммерческих поликлональных диагностических сывороток не велик, а моноклональные сыворотки, разработанные в России, не имеют промышленного производства. Между тем серологическое типирование является обязательным. Оно необходимо для оценки этиологической значимости выделенных бактерий, а также регистрации новых серотипов в целях усовершенствования диагностики.

Вследствие полиморфизма клинических проявлений псевдотуберкулез и иерсиниоз могут сопровождаться проявлениями, сходными с аналогичными признаками 36 нозологических форм. В этой связи для повышения эффективности диагностики важно освещение вопросов дифференциальной диагностики иерсиниозов с различными инфекционными, терапевтическими и хирургическими болезнями.

Для совершенствования лабораторной диагностики представлены экспресс-методы, в том числе ПЦР, определены наиболее информативные биологические субстраты и оптимальные сроки их исследования, предложена общая тактика лабораторной диагностики заболеваний, обусловленных иерсиниями.

1. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

Клинико-дифференциальную диагностику иерсиниоза и псевдотуберкулеза следует проводить с приведенным ниже перечнем инфекций во избежание гипо- и гипердиагностики.

Методы лабораторной диагностики иерсиниоза и псевдотуберкулеза необходимо внедрить во всех регионах России в качестве унифицированных.

Противопоказаний нет.

2. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ МЕТОДА

Оборудование:

- стандартное оборудование для бактериологических лабораторий;
- стандартное оборудование для серологических лабораторий;
- стандартное оборудование для иммунологических лабораторий.

Диагностические наборы:

- сыворотки диагностические к *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* распространенных сероваров О-моновалентные кроличьи сухие для РА на стекле;
- сыворотка диагностическая к вирулентным *Yersinia enterocolitica* адсорбированная кроличья сухая для РА на стекле (СВИ) (НИИЭМ им. Пастера, г.Санкт-Петербург) утв. МЗ 25.02.03.;
- «Тест-система иммуноферментная для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза I серовара» (НИИЭМ им. Пастера, г. Санкт-Петербург) утв. МЗ 1995г.;
- наборы для ПЦР «Иерпсевдоамплитест» и «Иерсэнтероамплитест» производства ЗАО «Ниармедик плюс» (г. Москва);
- «Латексный псевдотуберкулезный диагностикум» (Санкт-Петербургскии НИИ вакцин и сывороток), рег. № 92/203/17;
- диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный сухой (Санкт- Петербургский НИИ вакцин и сывороток) рег. № 94/161/71;
- диагностикум эритроцитарный кишечноиерсиниозный О:3 антигенный сухой (Санкт- Петербургский НИИ вакцин и сывороток) рег. № 94/161/383;
- диагностикум эритроцитарный кишечноиерсиниозный О:9 антигенный сухой (Санкт- Петербургский НИИ вакцин и сывороток) рег. № 94/161/383.

Питательные среды:

- питательная среда для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза, рег. № 97/306/5;
- среда для определения чувствительности к антибиотикам (АГВ) (ФС 42-3521-98, НПО «Питательные среды»);
- агар Хоттингера (МУК 4.1/4.2.588-96, с.46);

- бульон Хоттингера (МУК 4.1/4.2.588-96, с.45);
- среда Игла, рег. № 94/16/81;
- сыворотка крупного рогатого скота, рег. № 91/28/5;
- пептон ферментативный, ГОСТ 13805-76Е;
- питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар + Эндо-ГРМ) (ГПЦПЦ, Оболенск), рег. № 98/306/5.

Химические реактивы:

- двузамещенный фосфорно-кислый калий (K_2HPO_4), ГОСТ 2493-75;
- фосфатно-солевой буфер, кат. № В-60201;
- натрий хлористый, ГОСТ 4233-77;
- КОН, СТ СЕВ 1439-78.

3. ОПИСАНИЕ МЕТОДА

3.1. Этиология псевдотуберкулеза и иерсиниоза

Возбудители псевдотуберкулеза и иерсиниоза - микроорганизмы рода *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae*. Возбудитель псевдотуберкулеза впервые был выделен в 1883 г. L. Malasses и W. Vignal. Несколько позже C.Eberth (1886), выделив культуру и изучив ее на лабораторных животных как спонтанно болеющих, так и зараженных в эксперименте, отметил сходство патологоанатомических изменений внутренних органов погибших животных с таковыми при туберкулезной инфекции и назвал изучаемый микроорганизм «псевдотуберкулезным». У человека этот микроорганизм вызывает заболевание, сопровождающееся энтеритами, энтероколитами и тяжелой генерализованной инфекцией с множественными поражениями отдельных органов и систем.

Первые сведения о выделении *Y. enterocolitica* из клинического материала от больных людей появились в США в 1939 г. (Schlifstein J.,Coleman N.). С 1962 года после регистрации эпизоотий, вызванных *Y. enterocolitica* среди шиншилл, микроорганизмы были изучены, идентифицированы и по предложению W. Frederiksen (1964) названы *Y. enterocolitica*. Название принято Международным подкомитетом по таксономии в 1967 г. В России *Y. enterocolitica* впервые была выделена М.А. Беловой, Г.В. Ющенко (1968). Этиологическая роль *Y. enterocolitica* аргументирована при возникновении

илеитов, энтеритов и гастроэнтеритов, мезентериальных лимфаденитов, заболеваний печени и мочевыводящих путей, аппендицитов, других внекишечных проявлений (форм) иерсиниоза.

3.1.1. Биологические характеристики иерсиний

Морфологические свойства

Y. enterocolitica и Y. pseudotuberculosis - грамотрицательные палочки с закругленными концами, диаметром 0,5-0,8 и длиной 1-3 мкм. Размеры палочек колеблются в зависимости от возраста культуры, температуры и среды выращивания. Микроорганизмы окрашиваются всеми анилиновыми красителями. В мазках имеют вид палочек, а из бульонных культур и отпечатков органов экспериментально зараженных животных - коккобактерии с биполярной окраской. В мазках из жидких питательных сред *Y. pseudotuberculosis* могут располагаться цепочками, что не наблюдается у *Y. enterocolitica*.

Культуральные свойства

Возбудители псевдотуберкулеза и иерсиниоза - факультативные анаэробы. Оптимальная температура их культивирования - 22-28 °С, но они могут размножаться при температуре от 2 до 40 °С, в том числе при 2-10 °С, что дало основание J.S.Peterson и R.A.Cook (1963) предложить метод выделения культуры после выдерживания посевов на холоде (4-6 °С) в фосфатном буфере (так называемое холодовое обогащение). При более высокой температуре культивирования иерсинии обоих видов неподвижны. *Y. pseudotuberculosis* имеет 3-5 жгутиков, расположенных перитрихиально или полярно, а *Y. enterocolitica* - множество расположенных перитрихиально. Благодаря жгутикам бактерии подвижны. При температуре выше 30 °С жгутики не активны, а также культуры слабо и/или не активны в серологических реакциях.

Иерсинии неприхотливы и не требовательны к питательным веществам; растут на обычных питательных средах (МПА, агары Хоттингера и Мартена, Эндо и др.). Оптимальной для роста является pH среды 7,2-7,4; хотя иерсинии могут расти при pH от 5,2 до 9,0. *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*

способны размножаться на минимальной среде без добавления аминокислот, что позволяет отнести их к прототрофам.

На плотных средах при температуре 22-28 °С через сутки иерсинии вырастают в виде мелких, выпуклых, полупрозрачных, бесцветных колоний с ровным или волнистым краем. При температуре 37 °С колонии становятся прозрачными и имеют неровные фестончатые края и выпуклый центр. Оба микроорганизма хорошо растут на средах Мак-Конки и дезоксихолатном агаре.

Как правило, *Y. pseudotuberculosis,* выделенные от больных и грызунов, находятся в S-форме при росте на плотной питательной среде, хорошо эмульгируются в физиологическом растворе, полупрозрачные, с ровным краем. При посеве старых, хранившихся в лабораторных условиях, культур и иногда при выделении *Y. pseudotuberculosis* из объектов окружающей среды бактерии растут в виде колоний с выпуклым, бугристым, коричневым центром и тонкой прозрачной «кружевной» периферической зоной (R-форма), имеющих сходство с колониями *Y. pestis.*

Полиморфизм колоний *Y. enterocolitica* менее выражен. Однако в условиях культивирования при 37 °С *Y. enterocolitica* диссоциируют на S-R варианты, колонии не прозрачны, имеют неровный фестончатый край, выпуклый, сферический, иногда бугристый или исчерченный центр. В жидкой питательной среде такие культуры растут в виде хлопьевидного осадка на дне, оставляя бульон прозрачным, а гладкие – равномерно мутят среду. Такой рост в жидкой среде характерен больше для *Y. pseudotuberculosis.* При росте *Y. enterocolitica* бульон не бывает прозрачным. Диссоциированные культуры слабо и/или не активны в серологических реакциях.

Биохимические свойства

В табл. 1 представлены биохимические свойства, дифференцирующие *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica.*

Как видно из таблицы, дифференцирующими тестами являются использование мелибиозы, рамнозы, сахарозы, сорбита, сорбозы, целлобиозы, а также тесты на орнитиндекарбоксилазу, дезоксирибонуклеазу, реакция Фогеса-Проскауэра (при 18-25 °С). *Y. enterocolitica*

Таблица 1

Основные биохимические свойства бактерий рода *Yersinia*, отличающие их от представителей семейства *Enterobacteriaceae*

Тест или субстрат	Y.pestis	Y. pseudotuberc.	Y.enterocolitica Биовары I IA	I IB	II	III	IV	V	Y. frederiksenii	Y. intermedia	Y. kristensenii	Y. ruckeri	Y. aldovae	Y. rohdei	Y. mollaretti	Y. bercovieri	Hafnia	Proteus
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+/-	+	+	+*
Маннит	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-**
Сахароза	-	-	+	+	+	+	+	-/+	+	+	-	-	-/+	+	+	+	-	B
Рамноза	(+)	+	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	+	-
Сорбит	(+\-)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-	-
Мочевина	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+/-	+	+	-	+
Фогес-Проскауэр 22-24 °С	-		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-\+	+	-	-	-	+\-	-
Подвижность 22-24 °С	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+\-	+	+	+	+	+	+
Индол	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+\-	-	-	-	-	-	-	B
Ксилоза	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+/-	+	+/-	+	+	+ ***
Салицин (24 ч)	+\-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-\+	-\+	-	B
Трегалоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	B
Цитрат Симмонса	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	(+)	-	-	-	-	+	B
Фенилаланин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Орнитин-декарбоксилаза	-	-	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	+	+	+\-	+	+	-	- *
Гидролиз эскулина (24 ч)	+	+	+\-		-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-\+	+\-	

*+ - положительная реакция; (+) - положительная реакция только при 22-25 °С; +/- - положительная реакция более, чем у 50 % культур; -\+ - положительная реакция менее, чем у 50 % культур; - - отрицательная реакция; В - вариабельная реакция; * - за исключением P. mirabilis; ** - положительная у P. rettgeri; *** - за исключением P. myxofaciens*

включает в себя достаточно гетерогенную группу штаммов. Основываясь преимущественно на различиях биохимических реакций, *Wauters et al. (1987) разделили их на 6 биогрупп (табл. 1, 2).*

При этом биогруппа 1 подразделена также на 2 подгруппы (1А и 1В), исходя из ферментации салицина, эскулина и наличия пиразинамидазы. Считают, что представители 1В (американский вариант) и 2-5 (европейский вариант) биотипов являются патогенными, а подгруппы 1А – непатогенными. Однако некоторые штаммы *Y. enterocolitica* биотипа 1А могут вызывать заболевания у людей, особенно у детей 1-го года жизни, кроме того, они имеют хорошо определяемые детерминанты вирулентности, кодируемые плазмидой 42 МДа и разными хромосомными генами.

К настоящему времени известен 21 серотип (по О-антигену) *Y. pseudotuberculosis* и 29 серотипов *Y.enterocolitica* (табл. 3).

Из Y.enterocolitica только 11 серотипов наиболее часто ассоциируются с инфекциями человека. Чаще всего заболевания вызывают всемирно распространенные штаммы, принадлежащие к серогруппе О:3 (биотип 4); О:5,27 (биотипы 2 и 3), О:8 (биотип 1В) и О:9 (биотип 2) (см. табл. 2). Виды *Y. mollaretii* и *Y. bercovieri* классифицированы как биогруппа 3А и 3В, поскольку эти виды имеют значительные отличия от *Y. enterocolitica* биотипа 3 и других биотипов этого вида по ДНК, по О-Н-антигенным компонентам, по патогенности для людей, а также по экологии.

Таблица 2

Биогруппы/серогруппы *Y. enterocolitica* и их связь с патогенностью

Патогенные свойства	Биогруппа	Серогруппа
Есть	1 В	О:8; О:4; О:13а,13b; О:18; О:20; О:21;
Нет	2	О:9; О:5,27;
	3	О:1,2,3; О:5,27;
	4	О:3;
	5	О:2,3;
	1 А	О:5; О:6,30; О:6,31; О:7,8; О:10; О:13,7; О:14; О:16; О:18; О:19,8; О:22; О:36; О:41,42; О:41,43; О:46; О:63; О:64; О:65; О:66; О:72

Таблица 3

Серотипы *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*

Y. pseudotuberculosis	*Y. enterocolitica*
O:1a, O:1в, O:1c, O:2a, O:2в, O:2c, O:3, O:4a, O:4в, O:5a, O:5в, O:6, O:7, O:8, O:9, O:10, O:11, O:12, O:13, O:14, O:15	O:1,2,3; O:2,3; O:3; O:4; O:5; O:5,27; O:6,30; O:6,31; O:7,8; O:8; O:9; O:10; O:13; O:13,7; O:14; O:16; O:18; O:19,8; O:20; O:21; O:22; O:36; O:41,42; O:41,43; O:63; O:64; O:65; O:66; O:72

3.2. Эпидемиология псевдотуберкулеза и иерсиниоза

Псевдотуберкулез широко распространен в мире, в том числе в России, что обусловлено выраженными адаптационными способностями возбудителя к существованию в организме теплокровных животных и во внешней среде. В настоящее время представители вида *Y. pseudotuberculosis* обнаружены не менее, чем у 210 видов млекопитающих, 17 видов птиц, 5 видов пресмыкающихся, 1 вида земноводных, 7 видов рыб, около 50 видов членистоногих (Кузнецов В.Г., 1997). Однако ни один из указанных видов животных не является специфическим хозяином этого возбудителя, в то же время каждый из них может служить более или менее длительным его резервуаром.

Основными естественными резервуарами возбудителя псевдотуберкулеза являются наиболее восприимчивые дикие мышевидные грызуны. Микроб циркулирует в популяциях полевок, мышей, землероек-бурозубок, большой песчанки, длиннохвостого суслика и других видов грызунов, характерных для определенных географических ландшафтов, формируя природные очаги инфекции.

Заражение животных происходит с инфицированной пищей. Возбудитель, локализуясь в желудочно-кишечном тракте грызунов, выделяется в основном с фекалиями. Это обусловливает обсеменение почвы, мелких непроточных водоемов, а способность *Y. pseudotuberculosis* существовать вне живого организма обеспечивает дальнейшее инфицирование здоровых животных. Психрофильность, олигонитро-олигокарбофильные свойства *Y. pseudotuberculosis* обеспечивают способность размножаться в почве подобно почвенным бактериям (Сомов Г.П., Литвин В.Ю.,

1988). В условиях холодовой инкубации (4-8 °С) *Y. pseudotuberculosis* сохраняется в почве в течение не менее 8 месяцев.

Таким образом, в природных очагах псевдотуберкулеза передача бактерий осуществляется по цепи: животное а внешняя среда а животное.

Наряду с природными очагами, формируются антропургические (в населенных пунктах), представляющие основную опасность для человека. Это происходит при заносе микроба из природного очага в результате миграции грызунов (крысы, домовой мыши и др.) из природы в осенний период, а в весенний – в природу. Такие очаги более активны в связи с высокой концентрацией синантропных грызунов, большой плотности их популяций и интенсивностью инфицирования внешней среды. Между тем степень инфицированности грызунов в антропургических очагах на территории России существенно варьирует от 0,8 $^{o}/_{oo}$ на Северо-Западе до 38,5 % - на Чукотке. Высокая инфицированность отмечается среди мышевидных грызунов на объектах, связанных с хранением и реализацией овощей, а также продукции животного происхождения.

Загрязняя окружающую среду, грызуны способствуют заражению домашних животных (свиней, крупного рогатого скота, оленей, собак и кошек).

Для поддержания эпизоотической активности очага *Y. pseudotuberculosis* должны периодически попадать в организм восприимчивых животных из окружающей среды для восстановления своих вирулентных свойств.

Почва и вода являются промежуточными факторами передачи инфекции. С частицами почвы на клубнях возбудитель транспортируется в овощехранилища, где имеются оптимальные условия для его накопления. В результате образуется микробная масса, достаточная для формирования заражающей дозы (Кузнецов В.Г., 1997)

Заражение человека происходит при употреблении различных продуктов питания, контаминированных выделениями грызунов, при этом наибольшее значение имеют овощи и молочные продукты.

Человек не является источником инфекции при псевдотуберкулезе. Только в первые дни заболевания отмечено наличие в испражнениях не менее 10^2 иерсиний.

При оценке вирулентности культур различного происхождения установлено, что максимальную вирулентность проявляли *Y.pseudotuberculosis*, изолированные от грызунов и больных с аппендикулярным синдромом. Она соответствовала 1,5±0,5 - 3,4±0,3 lg числа микробных клеток; с меньшей вирулентностью (6,7±0,8 - 8,0±0,7 lg) выделяли культуры из испражнений больных другими формами инфекции. Высокой вирулентностью характеризовались также иерсинии, выделенные из смывов с овощей (5,1±0,5 lg).

Таким образом, очевидно реальное значение овощей в заражении людей и грызунов.

Для псевдотуберкулеза характерна вспышечная заболеваемость, однако в последние годы преобладает спорадическая.

В течение последнего десятилетия заболеваемость детей псевдотуберкулезом в 6-9 раз превышает таковую среди взрослых. Наиболее интенсивно в эпидемический процесс вовлекаются дети 3-6 и 7-14 лет. Между тем в отдельных регионах России преобладают заболевания среди людей возраста 20-40 лет. Для ряда территорий России характерна зимне-летняя сезонность псевдотуберкулеза с пиком ее выраженности в апреле-мае (Западная и Восточная Сибирь). Для Северо-Западного региона - преимущественно летняя (июнь-июль).

К настоящему времени установлена повсеместная циркуляция *Y. enterocolitica* среди различных видов животных. Особое внимание привлекают свиньи как носители *Y. enterocolitica* и один из источников возбудителей иерсиниоза. *Y. enterocolitica* с разной частотой (от 5,8 % до 26,9 %) обнаруживали в фекалиях и миндалинах здоровых свиней, в свинине, в плодах и их оболочках в разных странах Европы; в России - более 10%.

В мясе цыплят, сосисках, свином фарше их обнаруживали в 10-17% случаев; нередко выявляли обсемененность молока и молочных продуктов. Ведущая роль сельскохозяйственных животных в заражении людей подтверждена многочисленными случаями иерсиниоза среди профессиональных групп населения из очагов. В Центральной России до 43% рабочих свиноводческих комплексов в отдельные годы содержали специфические антитела.

Вспышки различного характера и масштаба наблюдали во многих странах мира.

Имеются сообщения о семейных случаях иерсиниоза, в которых доказана роль продуктов, зараженных *Y. enterocolitica* серотипа О:3 и серотипа О:21, вызвавших тяжелые заболевания с летальными исходами в США и Японии. Крупные вспышки иерсиниоза (172 случая), связанные с употреблением молока, отмечены в США. В Монголии заболевания 187 человек обусловлены *Y. enterocolitica* серотипов О:5,27 и О:9 и связаны с употреблением в пищу импортированных цитрусовых. В России описаны групповые заболевания, вызванные употреблением воды. На протяжении ряда лет иерсиний различных серо- и биотипов выделяют из воды на территории Санкт-Петербурга и его окрестностей. Отмечено также увеличение в 2,5 раза циркуляции патогенных *Y. enterocolitica*. Вместе с тем, в отечественных источниках распространение иерсиниоза у людей часто связывают с инфицированными овощами (морковь, капуста, лук, картофель) и фруктами после длительного хранения.

Чаще болеют дети в возрасте до 14 лет, в единичных случаях наблюдали иерсиниоз у детей 1-го года жизни.

Больных иерсиниозом регистрируют в течение всего года с весенним подъемом в марте-мае и возрастанием числа случаев в осенне-зимние месяцы.

3.3. Клиника псевдотуберкулеза и иерсиниоза

3.3.1. Клинические особенности псевдотуберкулеза

Продолжительность инкубационного периода колеблется от 3 до 18 дней, и заболеванию, свойственна определенная цикличность течения. Клинические проявления псевдотуберкулеза отличаются полиморфизмом. Наиболее типичными проявлениями начального периода болезни (1-3-й день) являются признаки токсико-аллергического синдрома и изменения в месте входных ворот возбудителя (желудочно-кишечном тракте). Период разгара характеризуется максимальным развитием лихорадки и других симптомов интоксикации, экзантемы, появлением признаков локальных органных поражений. Длительность периода разгара зависит от тяжести течения болезни и колеблется в пределах 2-12 дней.

Большинство больных переносят острые формы заболевания, при псевдотуберкулезе такие больные составляют 81,4 %. Для данной формы псевдотуберкулеза характерно острое начало с максимальной выраженностью симптоматики на первой неделе заболевания. Больные жалуются на слабость, головную боль, мышечные и суставные боли. Наиболее постоянным признаком периода разгара является лихорадка. Температура тела поднимается до фебрильных цифр, нередко наблюдается озноб. Максимальных цифр температура тела достигает на 1-й неделе болезни с постепенным или критическим снижением на второй. Но у 10-15 % больных даже на 3-4 неделях болезни сохраняется субфебрилитет с периодическим повышением до фебрильных цифр. Температурная реакция сопровождается другими проявлениями интоксикации: слабостью, недомоганием, головной болью.

Может отмечаться катаральный синдром, гиперемия конъюнктивы и инъекция сосудов склер, покашливание, насморк, гиперемия слизистой оболочки ротоглотки.

У половины больных в первые три дня болезни появляется сыпь, отмечается гиперемия кожи лица и шеи (симптом «капюшона»), отечность и гиперемия стоп и ладоней (симптом «перчаток» и «носков»).

Экзантема встречается у 84,1 % больных псевдотуберкулезом. У большинства больных сыпь носит мелкоточечный, скарлатиноподобный характер, располагается на груди, животе, в локтевых сгибах. Чаще элементы сыпи бывают яркими, обильными, вместе с тем, в отдельных случаях только при тщательном осмотре можно выявить скудную, едва заметную сыпь, преимущественно в естественных складках. У 30 % больных сыпь может носить кореподобный, пятнисто-папулезный характер, сопровождается зудом, чаще такая сыпь регистрируется у лиц с отягощенным аллергическим анамнезом. Локализуется она на разгибательных поверхностях туловища, вокруг суставов. Геморрагический характер сыпи отмечается у 10-15% больных, преимущественно в шейной складке, в локтевых и коленных сгибах, на передне-боковых поверхностях туловища. При рецидивах заболевания на передней поверхности голени, тыльной поверхности стоп могут выявляться элементы узловатой эритемы. Пос-

ле угасания сыпи возможно появление отрубевидного, мелкопластинчатого шелушения кожных покровов, пальцев рук и ног.

Поражение желудочно-кишечного тракта в основном проявляется абдоминальными болями, которые чаще наблюдаются на 3-6-й дни болезни. Боли носят разлитой характер или локализуются в правой половине живота, нередко (около 10 % больных) бывают настолько интенсивными, что требуется консультация хирурга для исключения острой хирургической патологии. Вовлечение желудочно-кишечного тракта в патологический процесс нередко проявляется гастроинтестинальными расстройствами: тошнота, рвота, запор, сменяющийся диареей. Чаще имеет место клиническая симптоматика гастроэнтерита, реже – гастроэнтероколита. Стул бывает либо кашицеобразным, либо жидким, обильным до 7 раз в сутки, с небольшой примесью слизи. Диарейный синдром при псевдотуберкулезе редко является ведущим.

У 2/3 больных наблюдается увеличение печени до 2 см и более. Край печени иногда болезненный при пальпации. В 20-25 % случаев увеличение печени сопровождается признаками паренхиматозного гепатита: желтушностью кожи и склер, темной окраской мочи, гипербилирубинемией, гипертрансфераземией. В начале заболевания язык у больного псевдотуберкулезом обложен, затем начинает постепенно очищаться с кончика и становится малиновым и /или «сосочковым».

Несмотря на то, что субъективные симптомы поражения сердца (боль, сердцебиение, одышка и др.) больные псевдотуберкулезом отмечают редко, почти у 90% из них в острый период отмечаются тахи- или брадикардия, аритмия, несоответствие пульса температуре, приглушение тонов сердца, систолический шум, снижение вольтажа зубцов Р и Т, признаки диффузного поражения сердечной мышцы. Однако, по мере исчезновения интоксикации, выявленные изменения купируются.

Клиническим проявлением поражения суставов являются артралгии. В начальный период артралгии отмечаются почти у четверти больных, однако артриты при псевдотуберкулезе регистрируются в 0,5-3% случаев. Чаще одновременно, реже последовательно поражаются различные суставы, прежде всего крупные суставы конечностей. Артралгии могут проходить самостоятельно через 3-4 дня, но могут держаться длительно в течение 2-3 недель, что при-

водит к значительным нарушениям двигательной функции сустава. При развившемся артрите отмечается отечность и сглаженность конфигурации сустава, одновременно могут быть местные воспалительные изменения кожи над суставом. В остром периоде болезни артриты возникают редко, чаще они имеют место при рецидивах.

Изменения со стороны почек в ранние сроки болезни (1-2 нед.) носят воспалительный характер и проявляются лейкоцитурией, бактериурией, микрогематурией, дисметаболическими нарушениями. В большинстве случаев проявления мочевого синдрома умеренно выражены. У больных с тяжелыми формами болезни возможно развитие признаков острой почечной недостаточности: олигурии, азотемии, нарушения концентрационной функции почек и др. У 6,7 % больных изменения со стороны почек развиваются только в поздние сроки болезни (3-5 нед.).

До сих пор отсутствует единая классификация псевдотуберкулеза, наиболее часто в клинической практике используют классификацию, предложенную в 1988 году Н.Д. Ющуком и Г.Н. Кареткиной (табл. 4).

Таблица 4

Клиническая классификация псевдотуберкулеза

Клиническая форма	Вариант течения	Степень тяжести	Течение
Абдоминальная	Мезентериальный лимфаденит Острый аппендицит Терминальный илеит	Легкая Среднетяжелая Тяжелая	Острое Затяжное Хроническое
Смешанная	Скарлатиноподобный Септический		
Вторично-очаговая	Артрит Узловатая эритема Синдром Рейтера		

Различают типичные и атипичные формы псевдотуберкулеза. К типичным относят случаи болезни, которые проявляются всеми или большинством характерных, наиболее часто выявляемых симптомов псевдотуберкулеза. Атипичные формы болезни протекают со скудными клиническими симптомами (стертые) или бессимптомно (иннапарантные).

Типичные формы болезни классифицируются по тяжести на легкие, средней тяжести и тяжелые.

Легкая форма псевдотуберкулеза характеризуется субфебрильной температурой тела, слабо выраженными симптомами интоксикации, кратковременной диареей, непостоянными болями в животе, небольшим (до 2 см) увеличением печени. Сыпь, как правило, необильная, чаще мелкоточечная. Длительность заболевания при этой форме составляет в среднем 9,9 дней.

При среднетяжелой форме повышение температуры тела до фебрильных сопровождается выраженными симптомами интоксикации, возможна повторная рвота, интенсивные боли в животе, гепатомегалия в 30 % случаев сопровождается признаками гепатита. Сыпь обильная, иногда геморрагического характера. Длительность заболевания составляет около 15 дней.

Тяжелая форма псевдотуберкулеза характеризуется длительной фебрильной лихорадкой, ознобом, сильной головной болью, многократной рвотой, значительным (до 3-5 см и более) увеличением печени, у половины больных выявляются признаки паренхиматозного гепатита, увеличение размеров селезенки. Сыпь полиморфная, обильная с геморрагическими элементами. У большинства больных выявляются изменения со стороны сердечно-сосудистой, мочевыделительной системы, поражаются суставы, возможно развитие серозного менингита. Длительность заболевания не менее 3 недель.

В 15-25 % случаев отмечается волнообразное течение болезни с обострениями и рецидивами. Возможно развитие 1-3 и более рецидивов болезни.

Регистрируются хронические формы псевдотуберкулеза.

Прогноз при псевдотуберкулезе в большинстве случаев благоприятный. Редкие случаи смертельных исходов обусловлены развитием септических форм, инфекционно-токсического шока и выраженной хирургической патологией со стороны желудочно-кишечного тракта (перфорацией и др.).

3.3.2. Клинические особенности иерсиниоза

Инкубационный период иерсиниоза продолжается от 1-2 до 12-20 дней. У большинства больных отмечается острое начало болезни, в трети случаев - постепенное с нарастанием клинической

симптоматики на второй неделе. При остром начале заболевания превалируют лихорадка, симптомы общей интоксикации и поражение желудочно-кишечного тракта. Максимально высокая температура тела держится в первые два дня, но может присоединиться и на 3-6-й день болезни, иногда температурная кривая приобретает «двухволновой» характер. Температурная реакция у больных сопровождается другими проявлениями интоксикации. Наиболее часто больные жалуются на снижение аппетита, слабость, недомогание, головную боль. Озноб наблюдается только в первые дни болезни. Остальные симптомы интоксикации отличаются длительностью и монотонностью. Даже к периоду реконвалесценции у четверти больных могут сохраняться слабость, головная боль, снижение аппетита.

Установлено, что при иерсиниозе превалируют смешанные варианты заболевания с поражением различных органов (81,3% случаев), в то время как моноформы (гастроинтестинальная, абдоминальная и экзантемная) регистрируются лишь у 18,7 % больных детей.

Абдоминальный синдром наблюдается в подавляющем большинстве случаев (60-90 % больных), как с первых дней болезни, так и через 2-3 дня. Боли в животе различной интенсивности, периодические или схваткообразные, чаще локализующиеся вокруг пупка или в правой подвздошной области, реже в области правого подреберья. При пальпации отмечается болезненность в околопупочной или в илеоцекальной областях, умеренное вздутие живота, урчание по ходу кишечника. Нередко боли бывают настолько интенсивными, что возникает подозрение на хирургическую патологию брюшной полости. При хирургическом вмешательстве может быть выявлен мезентериальный лимфаденит, терминальный илеит. Во время операции обнаруживают либо мезаденит, либо терминальный илеит. В ряде случаев обнаруживают действительно измененный аппендикс: от незначительного катарального воспаления до флегмонозного и, редко, гангренозного.

При иерсиниозе в клинической картине преобладающими симптомами являются признаки поражения желудочно-кишечного тракта: отмечается тошнота, повторная рвота, вздутие живота и диарея. Чаще встречаются энтериты, энтероколиты, гастроэнтеро-

колиты. Стул учащен до 10 и более раз в сутки, жидкий или кашицеобразный, со зловонным запахом, иногда с патологическими примесями. У значительного числа пациентов старшего возраста иерсиниоз протекает без диареи. Рвота, как правило, появляется с первых часов болезни и чаще бывает 1-2-кратной, реже – многократной.

Увеличение печени у больных иерсиниозом выявляется уже в первые дни болезни, достигая максимальной выраженности к концу первой – началу второй недели. Признаки паренхиматозного гепатита выявляются у 30-40 % больных: иктеричность кожи и склер, темная окраска мочи, гипербилирубинемия, гипертрансфераземия, диспротеинемия.

Возможно вовлечение в патологический процесс поджелудочной железы. У больных отмечается увеличение амилазы крови и диастазы мочи, однако тяжелого течения панкреатита иерсиниозной этиологии не наблюдается. Симптомы дисфункции поджелудочной железы купируются, как правило, быстро. У 10% больных выявляется увеличение селезенки. Обычно селезенка выступает на 0,5-1,0 см из-под края реберной дуги, безболезненна, плотноэластичной консистенции.

Экзантема выявляется у 20% больных. Сыпь обычно полиморфная и не имеет определенной локализации, может быть мелкоточечной, пятнисто-папулезной, реже розеолезной или геморрагической. Во время заболевания сыпь может видоизменяться. Высыпания чаще локализуются на боковых поверхностях груди и живота, разгибательной поверхности конечностей, на ладонях, стопах. Длительность сыпи от 3-4 до10-14 дней. Отечность и гиперемия ладоней и стоп, характерные для псевдотуберкулеза, при иерсиниозе встречается редко. Как правило, сыпь исчезает бесследно, лишь в отдельных случаях возможно пластинчатое шелушение кожи ладоней и стоп.

Для иерсиниоза по сравнению с псевдотуберкулезом более характерны катаральные явления со стороны дыхательных путей, которые проявляются гиперемией зева, фарингитом, кашлем и насморком. Респираторный синдром проявляется обычно в ранние сроки болезни и иногда предшествует кишечному синдрому. Язык в первые дни болезни обложен, к 5-6-му дню очищается и иногда имеет «малиновый» кончик.

Лимфаденопатия нередко сопутствует иерсиниозу, обычно имеет место увеличение нескольких групп лимфатических узлов.

Поражение суставов при иерсиниозе чаще всего проявляется артралгиями, которые возникают в первые 3 дня заболевания и носят кратковременный характер. В отдельных случаях артралгии появляются при рецидивах болезни. Поражаются лучезапястные, локтевые, коленные, голеностопные, реже межфаланговые суставы. Артриты чаще встречаются у больных с тяжелой, рецидивирующей инфекцией, однако иерсиниозные моноартриты могут являться практически единственным симптомом заболевания.

Поражение мочевыделительной системы при иерсиниозе проявляется протеинурией, пиурией, бактериурией, микрогематурией. Эти изменения обычно транзиторны и купируются по мере исчезновения общетоксических проявлений болезни.

По тяжести клинических проявлений иерсиниоз классифицируют как тяжелый, средней тяжести и легкий (табл. 5).

Таблица 5.

Клиническая классификация иерсиниоза

Клиническая форма	Вариант течения	Степень тяжести	Течение
Гастроинтестинальная	Гастроэнтерит Энтероколит Гастроэнтероколит	Легкая Среднетяжелая Тяжелая	Острое Затяжное Хроническое
Абдоминальная	Мезентериальный лимфаденит Острый аппендицит Терминальный илеит		
Генерализованная	Смешанный Септический		
Вторично-очаговая	Артрит Узловатая эритема Синдром Рейтера		

При легкой форме болезни симптомы интоксикации слабо выражены и сохраняются не более 1-3 дней, температура тела не превышает 38 °С. Тошнота, 1-2-кратная рвота отмечается только в первые два дня болезни, абдоминальные боли непостоянные. Печень увеличивается незначительно, жидкий стул до 2-4 раз в сутки, без патологических примесей. Чаще всего заболевание расценивается как банальная кишечная инфекция. Если отмечается экзантема, то необильная, мелкоточечная, либо пятнистая. Вторичные органные поражения (гепатит, артрит, миокардит и др.) при данной форме болезни не наблюдаются.

Среднетяжелая форма иерсиниоза характеризуется лихорадкой, выраженными симптомами интоксикации, интенсивными болями в животе, повторной, иногда многократной рвотой, жидким стулом до 4-6 раз в сутки. Отмечаются артралгии, признаки миокардиодистрофии, сыпь нередко носит полиморфный характер, могут отмечаться признаки паренхиматозного гепатита.

При тяжелой форме иерсиниоза отмечаются выраженные и длительно сохраняющиеся симптомы интоксикации: анорексия, озноб, сильная головная боль, возможны явления менингизма. Диарея до 6 и более раз в сутки, стул во всех случаях патологического характера. Увеличение печени сочетается нередко со спленомегалией. Сыпь чаще всего полиморфная, обильная, с геморрагическим компонентом. Характерно развитие миокардита, гепатита, артрита, поражение мочевыводящей системы, серозного менингита.

Течение иерсиниоза может быть острым, гладким, с обострениями и рецидивами, осложнениями и хроническим.

При остром течении наблюдают цикличность клинических проявлений болезни. После периода разгара у больных с гладким течением иерсиниоза наступает период обратного развития клинических симптомов (3-4 недели). Однако может длительно сохраняться гепатомегалия, боли в животе, признаки астено-вегетативного синдрома, артралгии. При иерсиниозе частота рецидивов и затяжного течения заболевания в 2 раза превышает таковые при псевдотуберкулезе. Доказано, что с сероварианто*м Y. enterocolitica* O:9 связано преимущественно острое течение иерсиниоза, в то время как затяжные и рецидивирующие формы инфекции ассоциируются с сероварианта*м*и O:3 и O:6.

Изменения со стороны сердечно-сосудистой системы встречаются практически у всех больных иерсиниозной инфекцией. Наиболее часто они проявляются синдромом миокардиодистрофии. Устанавливается тахи- или брадикардия, аритмия, несоответствие пульса температуре, повышение артериального давления, приглушение тонов сердца, систолический шум, диффузные или очаговые изменения на ЭКГ. По мере исчезновения интоксикации, выявленные изменения купируются. У 5-10 % больных развивается инфекционно-аллергический миокардит.

Обострения иерсиниоза наблюдаются на спаде клинических проявлений (3-4 неделя), но до клинического выздоровления больного, и характеризуются нарастанием симптомов интоксикации, усилением или появлением сыпи, диареи, артралгий, нарастанием размеров печени. Рецидивы возникают на 4-6-й неделе и позднее, иногда после выписки больного из стационара.

Возможно хроническое течение иерсиниоза. Чаще встречается рецидивирующий вариант хронической формы болезни с циклическими повторениями ремиссий и обострений (1-3 раза в год), проявляющихся снижением аппетита, болями в животе, неустойчивым стулом.

Особенностью иерсиниозной инфекции в современных условиях являются поражения нервной системы. По данным литературы, они регистрируются в 1,0-1,7 % случаев, причем чаще отмечается поражение центральной нервной системы. По нашим данным, поражение ЦНС у больных иерсиниозом регистрируется в 2 раза чаще, чем при псевдотуберкулезе, воспаление обычно носит серозный характер. Менингиты при иерсиниозной инфекции отличаются более тяжелым и затяжным течением по сравнению с серозными менингитами другой этиологии.

Поражение периферической нервной системы обычно проявляется в виде болевого радикулярного синдрома грудопоясничной локализации. Больные жалуются на боли в спине и нижних конечностях. Регистрируются оживленные сухожильные рефлексы и симптомы натяжения, которые сохранялись в течение от 1 до 3 недель. Клинических симптомов «выпадения» при полирадикулярном синдроме выявлено не было.

Прогноз при иерсиниозе в большинстве случаев благоприятный. В редких случаях возможно развитие осложнений, требующих хирургического вмешательства: перфорация тонкого кишечника,

перитонит, инвагинация кишечника, тромбоз брыжеечных сосудов с гангреной толстого кишечника, холангиты.

Кроме того, доказано, что иерсиниозы, особенно при рецидивирующем течении могут явиться пусковым механизмом в развитии таких иммунопатологических хронических заболеваний, как саркоидоз, болезнь Крона, коллагенозов с поражением сердца и сосудов, а также диффузно-токсического зоба, тиреоидита Хашимото, гемолитической анемии, тромбоцитопатии, гломерулонефрита.

3.3.3. Дифференциальная диагностика псевдотуберкулеза и иерсиниоза

Псевдотуберкулез и иерсиниоз в силу полиморфной клинической картины необходимо дифференцировать с широким кругом инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний: скарлатиной, корью, краснухой, энтеровирусной инфекцией, лептоспирозом, вирусными гепатитами, трихинеллезом, брюшным тифом, острыми кишечными инфекциями различной этиологии (сальмонеллезом, кампилобактериозом, шигеллезом и т.д.), инфекционным мононуклеозом, бруцеллезом, туляремией, сепсисом, ревматизмом, геморрагическими лихорадками, острым аппендицитом, острыми респираторно-вирусными инфекциями, сепсисом и т.д. Иногда иерсиниозную инфекцию приходится дифференцировать с менингококковой инфекцией, гриппом, сыпным тифом, ревматизмом, геморрагическим васкулитом. Большие сложности возникают при исключении у пациентов с иерсиниозной инфекцией хирургической патологии, нередко приходится проводить дифференциальный диагноз с лимфосаркомой, опухолями толстой кишки, туберкулезом кишечника.

Дифференциальная диагностика ***скарлатины*** и экзантемных форм иерсиниозной инфекции сложна. Для скарлатины характерна мелкоточечная сыпь, появляющаяся в 1-2-й день болезни, со сгущением на боковых поверхностях туловища и в естественных складках, обычно прослеживается бледный носогубный треугольник. Типичным для скарлатины является развитие ангины с реакцией регионарных лимфатических узлов. Для скарлатины не характерна грубая полиморфная сыпь, симптомы «перчаток» и «носков», боли в животе, изменения характера стула, увеличение печени и селезенки.

Для ***кори*** характерна четкая цикличность течения: начало заболевания с катарального синдрома, который продолжается 3-4 дня и нарастает в динамике, характерен конъюнктивит, одутловатость лица, пятнисто-папулезная сыпь имеет четкую этапность высыпания и появляется на высоте лихорадки и интоксикации. В клиническом анализе крови отмечается лейкопения и лимфоцитоз.

Краснуха отличается от иерсиниозной инфекции отсутствием высокой лихорадки и выраженных симптомов интоксикации. Краснушная сыпь обычно мелкопятнистая мономорфная, локализующаяся преимущественно на разгибательных поверхностях конечностей, ягодицах. Патогмоничным симптомом краснухи является увеличение затылочных и заднешейных лимфатических узлов. В гемограмме при краснухе отмечается лейкопения и лимфоцитоз и наиболее характерным является увеличение числа плазматических клеток до 10-30 %.

Инфекционный мононуклеоз и псевдотуберкулез достаточно сложно отдифференцировать особенно на ранних стадиях заболевания. Инфекционный мононуклеоз характеризуется более постепенным разворачиванием клинических симптомов, в клинической картине превалирует поражение рото- и носоглотки: выраженное затруднение носового дыхания, храп во сне (за счет отека слизистой носоглотки и увеличения носоглоточной миндалины), явления тонзиллита, патогмонична лимфоаденопатия, с преимущественным увеличением передне- и заднешейных лимфатических узлов. Гепатоспленомегалия является одним из основных симптомов, но по сравнению с иерсиниозной инфекцией более выражено увеличение селезенки. В клиническом анализе крови обычно отмечается лимфоцитоз, количество атипичных мононуклеаров 12-25 %, при иерсиниозной инфекции может отмечаться увеличение числа атипичных мононуклеаров, но незначительно.

Частое поражение печени при псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе обусловливает необходимость дифференцировать ***гепатиты*** вирусной и иерсиниозной этиологии. Отличительными признаками, позволяющими заподозрить иерсиниозный гепатит, являются: более продолжительная и длительная лихорадка, продолжающаяся в периоде развившейся желтухи, экзантема и артралгии появляются практически одномоментно

с желтухой, а не предшествуют ей. Отсутствует параллелизм между выраженностью синдрома интоксикации и степенью поражения печени. Для иерсиниозной инфекции характерна умеренная гипертрансфераземия, частое поражение желудочно-кишечного тракта в виде длительной диареи, сохраняющейся в желтушном периоде, абдоминальные боли, наличие разнообразных сыпей, склерит, конъюнктивит, артрит.

При дифференциальной диагностике иерсиниоза и псевдотуберкулеза с ***кишечными инфекциями*** другой этиологии следует помнить, что у больных иерсиниозом чаще отмечается несоответствие выраженности симптомов интоксикации и диареи, редкое вовлечение в патологический процесс толстого кишечника, отсутствие симптомов эксикоза. В то же время имеют место нехарактерные для кишечных инфекций симптомы: сыпь, гепатомегалия, катаральный синдром, артралгии и другие решающее диагностическое значение имеют бактериологическое, вирусологическое и серологическое обследование пациента.

Провести дифференциальную диагностику ***лептоспироза*** от пседотуберкулеза в начальную стадию инфекции чрезвычайно трудно, такие ведущие клинические симптомы, как выраженная интоксикация, гепатоспленомегалия, фебрильная лихорадка, боли в суставах, развитие гепатита, у них идентичны. Опорными признаками для диагностики лептоспироза может служить выраженный миалгический синдром с преимущественной локализацией в икроножных мышцах, развитие геморрагического синдрома и признаков поражения почек вплоть до развития острой почечной недостаточности. Решающую роль приобретает сбор эпидемиологического анамнеза: купание в открытых водоемах, рыбалка, наличие тесных контактов с собаками, особенно при заболевании последних. При подозрении на лептоспироз необходимо исследовать кровь больного в реакции агглютинации и лизиса лептоспир, проводить микроскопию в темном поле.

Нередко приходится дифференцировать иерсиниозную инфекцию от ***висцерального токсокароза***, для которого характерна полиморфная экзантема, увеличение печени и селезенки, нередко развивается гепатит со значительным цитолизом и желтухой, возможно поражение дыхательной системы по типу бронхообструктивного синдрома, лимфоаденопатия, но интенсивные боли в

животе и диарейный синдром практически никогда не встречаются. Основой диагноза токсокароза является выявление в гемограмме эозинофилии от 12 до 30 %, обнаружение токсокарозных антител в ИФА.

Достаточно часто иерсиниозную инфекцию необходимо дифференцировать и с ***трихинеллезом***. Основу диагноза составляет тщательный сбор эпидемиологического анамнеза – употребление в пищу недостаточно термически обработанной свинины, солонины, колбас домашнего производства. Для больного с трихинеллезом характерна фебрильная лихорадка, отечность лица, выраженный миалгический синдром, кожные сыпи. Кроме того, достаточно часто развивается полиаденопатия, поражение легких, в клиническом анализе крови отмечается гиперэозинофилия. Ведущее диагностическое значение имеет проведение серологических исследований с антигеном трихинелл.

Иерсиниозная инфекция имеет черты сходства с ***тифо-паратифозными заболеваниями***. Следует отметить, что для брюшного тифа характерно более позднее появление сыпи, причем это единичные нежные розеолы, появляющиеся на передней брюшной стенке на 7-10-й день болезни. Для тифозных больных характерна выраженная адинамия, общий фон кожи отличается значительной бледностью. Так же, как и при иерсиниозной инфекции, отмечается гепатоспленомегалия, но в гемограмме выявляется лейкопения, относительный лимфоцитоз, анэозинофилия. Диагноз тифопаратифозных заболеваний подтверждается выделением культуры из крови, мочи, фекалий и положительными серологическими исследованиями.

Нередко псевдотуберкулез и иерсиниоз приходится дифференцировать с ***энтеровирусной инфекцией***. Сыпь при энтеровирусной экзантеме обычно носит пятнистый характер, часто присутствуют катаральные явления, характерны выраженные миалгии, нередко развивается серозный менингит, который сопровождается выраженными головными болями и рвотами. В клиническом анализе крови может быть лейкопения, лимфоцитоз.

Для ***геморрагических лихорадок*** (геморрагической лихорадки с почечным синдромом, омской геморрагической лихорадки, конго-крымской геморрагической лихорадки), в отличие от иерсиниозной инфекции, характерны выраженные нарушения фун-

кции почек и геморрагический синдром различной степени выраженности вплоть до легочных, желудочно-кишечных и маточных кровотечений. Решающее значение для дифференциального диагноза имеет тщательно собранный эпидемиологический анамнез (сезонность, нахождение в эндемичном районе и т.д.).

Провести дифференциальный диагноз между генерализованными формами иерсиниозной инфекции и ***сепсисом***, обусловленным другими возбудителями, очень сложно. Для сепсиса нехарактерно наличие вспышечной заболеваемости, течение сепсиса ациклично, кроме того, по данным Г.П. Сомова и соавт. (2001), при сепсисе отмечаются большие суточные колебания температуры тела, чередование озноба и обильного пота. Диагноз сепсиса подтверждается высевом из крови возбудителей заболевания при посевах на кровяной и специальные питательные среды.

В отдельных случаях приходится проводить дифференциальный диагноз между псевдотуберкулезом и иерсиниозом (чаще при вторично-очаговых формах) и атакой ***ревматизма***. Для ревматизма чаще характерно поражение суставов в виде артритов, может развиться узловатая эритема, свойственно поражение сердца от миокардита до панкардита, но обычно отсутствуют гепатоспленомегалия, экзантема, диарейный синдром, характерные для иерсиниозной инфекции. В сыворотке крови больных ревматизмом определяется высокий уровень антистрептолизина О.

Наибольшую сложность представляет дифференциальная диагностика псевдотуберкулеза и иерсиниоза. Н.С. Сазановым (1984) были предложены дифференциально-диагностические критерии, строящиеся, в первую очередь, на эпидемиологическом анамнезе (псевдотуберкулез - употребление в пищу термически необработанных овощей, для иерсиниоза чаще прослеживается связь с употреблением свинины, реже - молока и овощей), сезонности заболевания (псевдотуберкулез – рост заболеваемости начинается с конца зимы с максимумом весной и в начале лета, для иерсиниоза характерна осенняя сезонность). У больных иерсиниозом в клинической картине преобладает поражение ЖКТ с диарейным синдромом.

3.3.4. Лечение

Принципы терапии больных псевдотуберкулезом и иерсиниозом существенно не различаются, лечение проводится комплексно с учетом тяжести заболевания, периода болезни и ведущих синдромов. Госпитализации в специализированные отделения или боксы инфекционных стационаров подлежат больные среднетяжелыми и тяжелыми формами заболевания.

Диета должна быть полноценной, соответствующей возрасту, щадящей и легкоусвояемой. Специальная, соответствующая диета требуется только больным с выраженным поражением желудочно-кишечного тракта, печени, почек. В этом случае исключаются или резко ограничиваются следующие продукты: сладкое; продукты из белой муки (булка, выпечка, изделия из муки высшего сорта, манная крупа, белый рис); все продукты, содержащие много крахмала (картофель, ограничить бананы); экстрактивные вещества; консервы; продукты с химическими добавками (в том числе газированные напитки, соки в упаковках и др.); шоколад; кофе; какао; кислые фрукты; соки. При обильной сыпи из пищи необходимо исключить цитрусовые, шоколад, гистаминсодержащие продукты (субпродукты, цитрусовые, клубнику, мясо молодых животных), некоторые сорта сыра, цельное молоко.

Рекомендуется: растительное масло холодного отжима из сырых семечек или льняное масло в темных бутылках; зерновые сорта хлеба; хлебцы; каши из бурого риса, овсяная, гречневая, кукурузная (желательно на воде).

Основой медикаментозного лечения является антибактериальная терапия, так как, по мнению большинства исследователей, назначение этиотропной терапии обеспечивает уничтожение возбудителя в организме, приводит к купированию острых проявлений инфекции, предупреждает генерализацию инфекции, развитие затяжного и хронического течения заболевания.

В последнее десятилетие одно из ведущих мест среди антимикробных средств для лечения взрослых больных бактериальными инфекциями применяют фторсодержащие хинолоны, к которым выявляется высокая чувствительность штаммов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. При этом активность ципрофлоксацина выше, чем у пефлоксацина и норфлоксацина. Более того,

Y.pseudotuberculosis, несущие R–плазмиды, являются чувствительными к фторхинолонам. Ципрофлоксацин назначают взрослым по 500 мг два раза в сутки внутрь, в тяжелых случаях возможно внутривенное капельное введение по 200-400 мг/сутки, общий курс терапии составляет 7-12 дней. Пефлоксацин назначают в дозе 400 мг два раза в сутки в течение 10-12 дней, при тяжелых формах заболевания терапию можно начинать с внутривенного капельного введения препарата (400 мг два раза в сутки).

При выборе антимикробного препарата необходимо руководствоваться антибиотикочувствительностью патогенных иерсиний. Препаратом выбора в терапии иерсиниозов по-прежнему является левомицетин, который можно применять внутрь (0,5 г 4 раза в сутки) или внутримышечно в виде левомицетина сукцината натрия (25-50 мг/кг в сутки, но не более 2,0 г/сут). Курс лечения продолжается 14 дней (7–10 дней – внутримышечно, далее per os). При лечении иерсиниозного менингита доза левомицетина сукцината составляет 70-100 мг/кг в сутки (но не более 4,0 г/ сутки) в течение 12-14 дней.

В последние годы в терапии иерсиниозов широко используются цефалоспорины III поколения (цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефперазон), суточная доза у взрослых составляет от 2 до 4 (в тяжелых случаях до 6-8 г/сутки). Высокую эффективность при иерсиниозной инфекции сохраняют аминогликозиды II поколения, в частности, гентамицин внутримышечно по 80 мг два раза в сутки в течение 7 дней. При тяжелых формах и особенно при рецидивирующем течении эффективно использование амикацина (10-15 мг/кг в сутки). Однако у больных, получавших лечение цефалоспоринами или аминогликозидами, частота рецидивов практически не отличается от таковой у больных, получавших левомицетин.

Хороший терапевтический эффект получен при использовании защищенных пенициллинов (амоксиклава, аугментина по 675 мг 3 раза в сутки в течение 7 дней) при смешанных формах иерсиниозной инфекции, что подтверждается и антибиотикочувствительностью выделенных штаммов (см. табл. 6).

При гастроинтестинальной форме иерсиниоза оправданным является использование эрсефурила, интетрикса, бисептола.

Одним из эффективных препаратов для лечения больных иерсиниозами остается доксициклин (производное окситетрацикли-

на), который назначается в дозе 0,1 г два раза в сутки в первый день, а затем по 0,1 г 1 раз в сутки на протяжении 10-12 дней.

Особенностью терапии септических форм иерсиниозной инфекции является использование 2-3 антимикробных препаратов разных групп.

Патогенетическая терапия направлена на устранение вызванных заболеванием изменений в органах и системах. Учитывая частоту поражения сердца при псевдотуберкулезе, в острый период показано назначение кардиотрофиков (кокарбоксилазы, рибоксина), мембраностабилизирующих средств (аевит, эссенциале). При наличии кожного зуда, аллергической сыпи, выраженных миалгий и артралгий используют десенсибилизирующие средства (тавегил, супрастин, кларитин, зиртек и т.д.). При развитии иерсиниозного гепатита показано использование гепатопротекторов (Liv-52, гепабене, карсил, хофитол, гептрал). При длительном фебрилитете, артралгическом синдроме, узловатой эритеме используют противовоспалительные средства (диклофенак, ибупрофен, индометацин, вольтарен).

При выраженных симптомах интоксикации показано назначение инфузионной терапии в режиме дезинтоксикации с умеренной дегидратацией с использованием 5 % и 10 % раствора глюкозы, солевых растворов, реополиглюкина, альбумина, мочегонных средств (фуросемид 20-40 мг).

Глюкокортикоиды назначают коротким курсом из расчета 1-2 мг/кг в сутки в исключительных случаях: при тяжелом состоянии больного, связанного с выраженной интоксикацией, стойкой экзантеме с васкулитным компонентом, узловатой эртитеме, тяжелых поражениях опорно-двигательного аппарата, сердца.

С целью предупреждения негладкого течения заболевания оправдано использование иммунотропных препаратов в терапии больных иерсиниозной инфекцией. Проведенные исследования показали положительный эффект применения препарата Wobenzym, который повышает активность моноцитов–макрофагов и элиминицию иммунных комплексов; разрушает иммунные комплексы в стенках мелких сосудов и за счет улучшения микроциркуляции способствует элиминации продуктов деградации воспалительного процесса; снижает активность системы комплемента (Sanchez-Cuenca J.M., 1994). Препарат рекомендуется принимать за 30-40 мин до еды, не разжевывая, запивать

большим количеством воды (около 250 мл). При использовании препарата в периоде ранней реконвалесценции по 4-6 драже 3 раза в день в течение 21-30 дней, отмечалось отсутствие рецидивов заболевания, быстрое улучшение самочувствия, отсутствие астенического синдрома.

При псевдотуберкулезе происходит снижение фагоцитарной активности моноцитов, а также регуляторные нарушения иммунного ответа, поэтому рекомендуется назначение иммуномодулирующих препаратов (например, полиоксидоний, ликопид, диуцифон, иммунофан). Эти препараты обладают иммуномодулирующим и детоксикационным действиями, увеличивающими иммунологическую резистентность организма, активируют фагоцитоз и антителообразование. Ю.В. Лобзин (2000) рекомендует использование рекомбинантного ИЛ-2 (ронколейкина) в терапии генерализованных форм иерсиниозов, его использование позволило снизить число осложнений и рецидивов в 2 раза. Хороший эффект получен нами при использовании ликопида в терапии затяжных форм иерсиниозной инфекции, а использование таблетированного препарата циклоферон в острую фазу инфекции значительно снижало частоту негладкого течения псевдотуберкулеза и иерсиниоза.

В периоде реконвалесценции показана фитотерапия - сборы, состоящие из следующих растений (трава, листья или цветы): подорожник, береза, кукурузные рыльца, исландский мох, клевер красный, бузина черная, черная смородина, фиалка трехцветная, череда, крапива, мелисса, мята.

Больной может быть выписан не ранее 21-го дня болезни при исчезновении всех острых проявлений, нормализации лабораторных показателей.

Диспансерное наблюдение за реконвалесцентами иерсиниозной инфекции должно осуществляться на протяжении 6 месяцев при гладком течении инфекции с осмотром и обследованием в первые три месяца – ежемесячно, и затем – один раз в три месяца. При хроническом течении иерсиниозной инфекции больные наблюдаются в течение трех лет с момента последнего рецидива с осмотром и обследованием пациента каждые полгода.

3.4. Лабораторная диагностика иерсиниозов

3.4.1. Показания к исследованию

Исследование материала на наличие иерсиний (антигенов) и их идентификация проводятся с диагностической, профилактической и эпидемиологической целями.

С диагностической целью обследуют детей и взрослых, больных иерсиниозами, а также другой патологией при дифференциации *псевдотуберкулеза* и скарлатины, вирусного гепатита, ОРВИ, энтеровирусных инфекций, инфекционного мононуклеоза, кори, ревматической инфекции, брюшного тифа и паратифов А и В и др.; при дифференциации *иерсиниоза* и дизентерии, эшерихиозов, энтероколитов другой этиологии, а также указанных выше инфекций, с которыми дифференцируют псевдотубрекулез.

С эпидемиологическими целями, в том числе **по эпидемиологическим показаниям** обследуют:

а) детей и взрослых при групповых заболеваниях в результате употребления в пищу салатов из сырых овощей, других продуктов животного и растительного происхождения (мясо и мясопродукты, молоко и молочные продукты и др.);

б) перечисленные продукты питания;

в) смывы с оборудования овощехранилищ, предприятий перерабатывающей промышленности и общественного питания;

г) операционный или секционный материал;

д) материал от животных и птиц;

е) материал из внешней среды.

С профилактической целью исследуют материал (пункты б, в, д, е).

3.4.2. Методы выделения и идентификации иерсиний (антигенов)

А. Бактериологический метод

Схема проведения бактериологического исследования включает «обогащение» исследуемого материала при низкой температуре, использование дифференциально-диагностических сред для выделения и идентификации культур, определение биотипа, серотипа, патогенности.

Одним из важных условий эффективного проведения бактериологического исследования является правильный сбор и подготовка материала (табл. 6).

Таблица 6

Материал для исследования и его подготовка

Вид исследуемого материала	Кол-во, сроки	Правила взятия, подготовка к исследованию бактериологическим методом и методом ИФА	Правила взятия, подготовка к исследованию в ПЦР
Материал от больных			
Испражнения	0,5-1,0 г на протяжении всего периода заболевания	Стерильной деревянной палочкой, тампоном из судна или ректальным зондом	В одноразовый контейнер с 5-10 мл забуференного физ. р-ра (ЗФР) pH 7,2-7,4, ложечкой, прилагаемой к контейнеру
Моча	20-30 мл средней порции утренней мочи в первые 7 дней болезни	Засевается осадок после центрифугирования или отстаивания; для ИФА: осадок исследовать нативно и поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовый контейнер
Мокрота	0,5-1,0 мл в первые 3 дня болезни	Натощак, собирают в пробирку, внести в 5,0 мл среды «обогащения»	
Смыв из зева	В первые 3 дня болезни	Натощак с задней стенки глотки и корня языка тампоном, смоченным в физ. р-ре, тампон поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку
Кровь	5-10 мл в первые 3 дня болезни	Стерильно из локтевой вены; сгусток измельчить, поместить 1 мл в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку
Операционный или секционный материал			
Аппендикулярные отростки	1,0-2,0 г	Стерильно измельчить, 1 мл суспензии поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Мезентериальные лимфоузлы, др. органы и ткани	1,0-2,0 г	Стерильно измельчить, 1 мл суспензии поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Желчь	1,0-2,0 мл	Собрать в пробирку 0,5-1,0 мл, поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	

Вид исследуемого материала	Кол-во, сроки	Правила взятия, подготовка к исследованию бактериологическим методом и методом ИФА	Правила взятия, подготовка к исследованию в ПЦР
Содержимое кишечника	0,5-1,0 г	Собрать в пробирку 0,5-1,0 мл, поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Сгусток крови	0,5-1,0 мл	Стерильно измельчить, 1 мл, поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Материал от животных и птиц			
Помет	0,5-1,0 г	Стерильной деревянной палочкой	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Тонкий кишечник	1,0-2,0 г	Забирают стерильно участок в месте перехода тонкой кишки в толстую с содержимым	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Брыжейка, мезентериальные лимфоузлы	1,0-2,0 г	Стерильно измельчить, 1 мл суспензии ,поместить в 5,0 мл среды «обогащения»	В одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Материал из внешней среды			
Пищевые продукты[1]	25 г	Измельчить; для посева использовать надосадочную жидкость	В одноразовый контейнер ложечкой, прилагаемой к контейнеру
Овощи	10 штук каждого вида	Смыв одним влажным стерильным тампоном с поверхностей на границе здоровой и загнивающей части	Тампон помещают в одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Смывы с оборудования, инвентаря, тары	10 одноименных поверхностей	Одним влажным стерильным тампоном с поверхностей площадью 100^2 см каждая	Тампон помещают в одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Гнезда грызунов		Образец растереть в ступке с песком и фосфатно-буферным р-ром. 1,5 мл взвеси внести в 5 мл среды «обогащения»	1,5 мл взвеси в одноразовую пробирку с 5-7 мл ЗФР
Вода из емкостей для хранения, вода открытых водоемов	Профильтровать 1-2 л воды	Фильтры помещают в среду «обогащения» или непосредственно засевают 10 мл воды в 100 мл среды «обогащения»	Воду фильтруют в стерильные флаконы
Почва			50-100 г в одноразовый контейнер ложечкой, прилагаемой к контейнеру

Среды, используемые для первичного выделения культур

Жидкие среды накопления:

Пептонно-калиевая среда (ПК[2])

Состав среды: пептон ферментативный – 10,0 г
двузамещенный фосфорнокислый калий (K_2HPO_4) – 1,0 г

Способ приготовления: компоненты вносят в 1,0 л дистиллированной воды, кипятят 2-3 мин., помешивая, доводят pH среды до 7,6 – 7,8. Среду стерилизуют автоклавированием – 20 мин. при 0,5 атм. Хранят при 4 – 7 °С в течение 7 – 10 дней.

Среда для подавления роста посторонней микрофлоры

Состав среды: 40 % раствор KOH
0,5 % раствор NaCl

Способ приготовления: готовят оба раствора отдельно, стерилизуют автоклавированием под давлением 0,5 атм. 30 мин, хранят при 4 – 7 °С.

Плотные питательные среды:

Дифференциально-диагностическая среда для выделения иерсиний (СБТС[3])

Состав среды: питательный агар для культивирования микроорганизмов – 35,0 г
желчь очищенная – 6,0 г
глюкоза – 10,0 г
мочевина – 5,0 г
бромтимоловый синий воднорастворимый – 0,128 г
двузамещенный фосфорнокислый калий (K_2HPO_4) – 1,0 г

Способ приготовления: компоненты вносят в 1,0 л дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят 5 мин на медленном огне. Затем фильтруют через ватно-марлевый фильтр, вновь кипятят 1-2 мин, охлаждают до 45-50 °С и разливают в чашки Петри. Хранят среду в течение 7 – 10 сут при 4 – 10 °С.

---

[1] Кол-во указано в соответствии с требованиями СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

[2] Состав среды защищен патентом.

[3] Состав среды защищен патентом; аналог выпускает ГосНИИ прикладной микробиологии (п. Оболенск, Московская обл.)

Среда Эндо. Готовят и используют по общепринятой методике.

Среды, используемые для определения маркеров вирулентности иерсиний

Среда для определения кальцийзависимости (кальцийдефицитный агар)

Состав среды: в качестве питательной основы используют среду АГВ[4].

Способ приготовления: на каждые 100 мл расплавленной среды (около 50 °С) вносят: 8,0 мл 0,25 М стерильного щавелевокислого натрия, тщательно перемешивают, 4,0 мл 0,5 М стерильного раствора хлорида магния (указанная последовательность внесения солей обязательна). После перемешивания готовую среду разливают по 15 – 20 мл в чашки Петри. Хранят при 4 – 7 °С в течение 7 – 14 дней.

Порядок проведения бактериологического исследования

Несмотря на низкую эффективность прямого посева нативного материала на плотные питательные среды, его, как правило, проводят при подозрении на инфицированность продуктов и/или при групповых заболеваниях, связанных с употреблением продуктов. Для этой цели лучше применять СБТС.

Посев материала в жидкую среду проводят после предварительной подготовки исследуемого материала (см. табл. 6).

В пробирки с 5 мл жидкой среды вносят материал, встряхивают, помещают в холодильник и выдерживают в нем до первого положительного посева, но не более 7 дней.

Высев на плотные питательные среды проводят со сред ПК на 2–3 и 5–7 сутки. Высевы производят петлей из верхней трети слоя среды (но не с поверхности) Перед посевом содержимое пробирок не взбалтывают. При использовании среды Эндо и/или исследовании загрязненных проб, особенно при массовом их поступлении, с целью ингибиции посторонней флоры, проводят щелочную обработку до посева материала в среду накопления. Методика щелочной обработки основана на относительной резитстентности иерсиний к щелочи и чувствительности к ней других бактерий.

Методика щелочной обработки

Берут подготовленные растворы КОН и NaCl (см. *Среда для подавления роста посторонней микрофлоры)*. Во флаконы объемом

[4] Выпускает Дагестанское НПО «Питательные среды»

500 мл наливают по 23,75 мл 0,5 % раствора NaCl. Непосредственно перед внесением во флакон исследуемого материала (в количестве 25 г) добавляют 0,33 мл 40 % раствора КОН. Смесь выдерживают 3 – 4 мин (но не более 5 мин) при комнатной температуре. Затем во флакон добавляют 200 мл ПК среды. Посевы выдерживают при 4 °С. Затем производят высевы на чашки с плотной питательной средой и инкубируют посевы при 37 °С 2 суток.

Просмотр колоний

Посевы исследуют визуально. На среде СБТС колонии *Y. enterocolitica* и *Y.pseudotuberculosis* зеленовато-синие, диаметром 2 – 4 мм, выпуклые, сухие с матовым налетом. Колонии других энтеробактерий, не разлагающих мочевину (шигелл, сальмонелл, эшерихий и др.), изменяют окраску среды, приобретая желтый цвет и характерную морфологию (выпуклые, сочные), благодаря чему они легко визуально дифференцируются от иерсиний.

На среде Эндо просмотр колоний также проводят визуально или с помощью лупы через 24 – 48 ч. После щелочной обработки роста посторонней флоры обычно не бывает или видны мелкие, с красным центром, колонии кокковой флоры. Через 24 ч иерсинии вырастают в виде мелких (0,3 – 0,5 мм), выпуклых, гладких лактозонегативных колоний. Лактозопозитивные колонии, имеющие морфологическое сходство с колониями *Y. enterocolitica,* также используют для дальнейшей идентификации. Однако работа со средой Эндо требует большого опыта и нередко сопровождается исследованиями выросших колоний, не принадлежащих к роду Yersinia. Ее применение ограничено.

Идентификация иерсиний

Видовую принадлежность выделенных культур устанавливают на основании комплекса типичных морфологических, культуральных, биохимических, антигенных и других свойств.

Для предварительного отбора используют стабильный биохимический признак – наличие уреазы. Положительный уреазный тест позволяет отличить иерсиний от других видов патогенных кишечных бактерий – шигелл, сальмонелл, эшерихий и др. Отсев подозрительных колоний проводят на скошенный столбик среды Олькеницкого штрихом и уколом в столбик. Как и иерсинии, бактерии рода Proteus гидролизуют мочевину, но они, в отличие от Yersinia, всегда расщепляют триптофан.

Ферментативная активность исследуется обычным способом на средах Гисса при 28°С; подвижность в 0,3% полужидком агаре и реакция Фогес-Проскауэра на средах Кларка – при 25 и 37°С.

Y. pseudotuberculosis отличаются от *Y.enterocolitica* по отношению к сахарозе и рамнозе.

Тесты расширенного биохимического ряда – ферментация ксилозы, сорбита, салицина и образование индола - позволяют определить биотип *Y. enterocolitica.*

В таблице 1 приведены основные биохимические тесты, позволяющие дифференцировать иерсиний от других микроорганизмов, имеющих с ними сходство, а также определить их видовую принадлежность и биотип *Y. enterocolitica.*

Схема выделения и идентификации иерсиний представлена на рис. 1.



Рис. 1. Схема выделения и идентификации иерсиний

Для биохимической идентификации иерсиний можно использовать также компактную и удобную в применении систему ММТ Е1 в 96-луночных планшетах с соответствующими субстратно-индикаторными средами в лунках (производство НПО «Аллерген», г. Ставрополь). Однако данная система не позволяет дифференцировать иерсинии по биотипной принадлежности.

Б. Серологическая идентификация иерсиний

Серотипированию подлежат культуры, отнесенные по биохимическим свойствам к виду *Y. enterocolitica и/или Y.pseudotuberculosis*. Ее проводят с помощью реакции агглютинации на стекле по общепринятой методике с диагностическими сыворотками к *Y. enterocolitica* (производство НИИЭМ им. Пастера) серогрупп О:3; О:4,32; О:4,33; О:5; О:5,27; О:6,30; О:6,31; О:7,8; О:9; О:13,7 и другие; к *Y. pseudotuberculosis* серотипов I и III.

В. Идентификация вирулентных иерсиний

Среди методов обнаружения вирулентных иерсиний для рутинной практики наиболее адекватными являются следующие.

1. ***Фенотипические методы***, основанные на выявлении маркеров вирулентности, связанных с функционированием плазмиды pYV, прежде всего, кальцийзависимости иерсиний.

Кальцийзависимость роста проявляется в ограничении роста (бактериостаз) иерсиний, наступающем при дефиците ионов Са++ и определяется на модифицированной среде АГВ (кадьцийдефицитный агар). Для постановки теста штаммы *Y. enterocolitica* инкубируют на бульоне Хоттингера при (26±2) °С в течение 24 ч и затем пересевают на две чашки с кальцийдефицитным агаром, одну из которых инкубируют при (37±1) °С, другую – при (26±2) °С в течение 48 ч.

При положительном результате колонии *Y. enterocolitica* pYV$^+$, выросшие при температуре (37±1) °С, значительно мельче (до 1 мм), чем при (26±2) °С или отсутствуют совсем (рис. 2). При отрицательном результате рост колоний *Y. enterocolitica* pYV$^-$ как при (37±1) °С, так и при (26±2) °С такой же, как на обычных средах.

2. ***Специфические агглютинационные тесты*, основанные на использовании антител к антигенам вирулентности иерсиний, детерминируемым хромосомными и/или плазмидными генами.**



Инкубация при 37 °С *Инкубация при 26 °С*

Рис. 2. Тест кальцийзависимого роста. Инкубация сред с посевами плазмидосодержащего штамма Y.enterocolitica в течение 48 ч.

В настоящее время разработана и имеет промышленный выпуск диагностическая сыворотка к вирулентным иерсиниям (СВИ) для постановки РА на стекле. Метод основан на выявлении различных белков наружной мембраны иерсиний (антигенов вирулентности), детерминированных плазмидой pYV.

РА со СВИ очень проста в применении и является экспресс-методом, позволяющим дифференцировать вирулентные штаммы представителей рода *Yersinia* от авирулентных. Для постановки РА используют свежевыделенные культуры. Исследуемую культуру выращивают в чашке Петри или в пробирке со скошенным агаром Хоттингера при (37±1) °С в течение 18-24 ч и столько же при (26±1) °С. Далее постановка и учет реакции осуществляется по общепринятой методике (изложена в инструкции по применению).

3. ***Молекулярно-генетические методы***, основным из которых является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая позволяет выявить генетические детерминанты, локализованные на плазмиде вирулентности pYV или хромосоме, кодирующие ряд факторов патогенности.

Основная трудность ПЦР заключается в том, что при исследовании биологического материала и объектов окружающей среды реакция может ингибироваться биологическими продуктами деградации тканей, ферментами, полисахаридами и другими компонентами исследуемого материала. Поэтому перед постановкой реакции необходимо подготовить пробы к исследованию, (т.е. выделить тотальную ДНК.)

Кровь. 50 мкл нативной крови смешивают со 100 мкл лизирующего буфера (10 мМ Трис-HCl, pH 8,0, 0,5 % Твин-20, 100 мкг/мл протеиназы К) и инкубируют 1 ч при 56 °С, затем протеиназу К инактивируют 10 мин при 95°С, смесь центрифугируют 3 мин при 5000 об/мин. Для анализа в ПЦР достаточно 2-3 мкл надосадочной жидкости.

Моча. 10-20 мл мочи центрифугируют 10 мин при 2000 об/мин. К осадку добавляют 300 мкл стерильной дистиллированной воды и прогревают при 100 °С 10 мин. Центрифугируют при 5000 об/мин. Для исследования в ПЦР берут 1-3 мкл надосадочной жидкости (38).

Вода. 1,0-2,0 л воды фильтруют через 0,22 мкм бумажный фильтр. Затем фильтр измельчают и погружают в 300 мкл метанола на 15 мин. После высушивания под вакуумом к измельченному образцу добавляют 300 мкл стерильной дистиллированной воды, прогревают при 100 °С 5 мин, центрифугируют при 5000 об/мин 5 мин. Для исследования в ПЦР берут 1-3 мкл надосадочной жидкости.

Испражнения, помет грызунов, тонкий кишечник грызунов, смывы с объектов окружающей среды, почва подготавливают в соответствии с методом, разработанным В.Т. Климовым и соавт., (2002) (Иркутский ПЧИ Сибири и Дальнего Востока), основанным на использовании щелочной обработки материала, при котором большая часть индигенной микрофлоры погибает и удаляется как супернатант при центрифугировании, а относительно устойчивые к щелочи иерсинии выживают. Это обеспечивает снижение концентрации ингибиторов в пробе:

1) исследуемый материал суспендируют в ФБР в соотношении 1:10 и центрифугируют при 500-1000 об/мин 1,5-2 мин для осаждения грубых частиц или отстаивают 2-3 ч при комнатной температуре;

2) 0,2-0,5 мл верхней фазы переносят в лунку полистиролового планшета для серологических реакций и смешивают с таким же объемом 0,72 % КОН;

3) после 25-30 с экспозиции проводят посев материала на СБТС и сразу же в лунки планшета добавляют 0,2-0,5 мл бульона Хоттингера для прекращения действия щелочи как селективного агента;

4) материал из лунки переносят в пробирку типа «Эппендорф» и центрифугируют на микроцентрифуге при 10000-12000 об/мин 3-5 мин;

5) надосадочную жидкость удаляют, осадок дважды центрифугированием промывают дистиллированной водой;

6) к осадку добавляют 20 мкл деионизованной воды, прогревают 10 мин при 100 °С, центрифугируют при 12000 об/мин 2 мин. Для ПЦР используют 1-3 мкл надосадочной жидкости.

Пищевые продукты гомогенизируют в ЗФР в соотношении 1:10, тщательно перемешивают в течение 15 мин, центрифугируют при 12000 об/мин 10 мин, осадок суспендируют в 300-500 мкл дистиллированной воды и проводят дальнейшую обработку в соответствии с п. 2.

Далее при постановке ПЦР для амплификации используют растворы и реактивы, которые входят в «Универсальный набор для амплификации» производства НПФ «Клинбиотех» (г. Москва). Праймеры для амплификации выпускает ЗАО «Синтол» (г. Москва):

- родоспецифические праймеры Yers1 и Yers2, гибридизующиеся с фрагментом ДНК, локализованном на плазмиде pYV. Положительный результат может быть получен также с *Y. pestis* и *Y. enterocolitica* патогенных биоваров;

- видоспецифические праймеры Inv1 и Inv2, гибридизующиеся с фрагментом гена инвазивности *inv Y. pseudotuberculosis*, локализованном на хромосоме;

- видоспецифические праймеры Ail1 и Ail2, гибридизующиеся с фрагментом гена инвазивности *ail Y. enterocolitica*, локализованном на хромосоме;

- видоспецифические праймеры Y.e1 и Y.e2, гибридизующиеся с фрагментом гена энтеротоксина *yst a* патогенных *Y. enterocolitica*, локализованном на хромосоме;

- праймеры S 1 и S 2 для определения гена *ypm*, кодирующего суперантиген *Y. pseudotuberculosis*.

ЗАО «Ниармедик Плюс» (г. Москва) выпускает диагностический набор «Иерсиевдоамплитест» для выявления ДНК *Y. pseudotuberculosis* в ПЦР, в состав которого входят праймеры Yers1 и Yers2 и набор «Иерсэнтероамплитест» для выявления ДНК *Y. enterocolitica* с праймерами, специфичными для фрагмента гена *omp H* (кодирует белок Omp H, ответственный за дефосфорилирование белков макрофагов *Y. enterocolitica)*.

Для учета результатов ПЦР проводят электрофорез в 1,5 % агарозном геле. После окрашивания этидий бромидом гель просматривают в трансиллюминаторе с длиной волны ультрафиолетового излучения 310 нм. Светящиеся полосы в геле, являющиеся результатом амплификации ДНК в исследуемых пробах,

сравнивают с положительным контролем и маркером молекулярной массы.

Использование ПЦР дает возможность получить сигнальный результат в течение одних суток исследования, а наиболее короткий срок выделения культуры и идентификации иерсиний составляет 5-8 суток.

Г. Экспрессные методы

Методы, направленные на выявление специфических антигенов, являются наиболее перспективными для ранней диагностики инфекций, обусловленных иерсиниями. Основное их преимущество – быстрота получения результатов при высокой чувствительности.

В настоящее время для выявления антигенов иерсиний в различных субстратах используются:

- «Диагностикумы коагглютинирующие псевдотуберкулезные и иерсиниозные» для реакции коагглютинации (РКоА), предназначенные для выявления микробных антигенов, а при подращивании – живых возбудителей в материале от больных (испражнения, моча, слюна) на первой неделе болезни, а также антигенов, связанных в составе иммунных комплексов.

– «Латексный псевдотуберкулезный диагностикум» для реакции агглютинации латекса (РАЛ). Реакцию используют для выявления антигенов возбудителя псевдотуберкулеза в копрофильтратах больных и в смывах с объектов внешней среды.

- «Тест-система иммуноферментная для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза I серовара».

Материал для исследования, сроки и правила его взятия представлены в табл. 6 (аналогично подготовке материала для бактериологического метода).

Исследование проб проводят в первые сутки их получения и затем на 3-5-е сутки после подращивания при 4 °С в ПК среде (п. 3.4.2.). Непосредственно перед исследованием материал инактивируют 30 мин при (56±1) °С, центрифугируют при 3000 об/мин 15 мин и берут для исследования надосадочную жидкость. Постановку и учет реакций осуществляют в соответствии с инструкциями по применению.

3.4.3. Методы обнаружения антител

Антитела к возбудителям псевдотуберкулеза и иерсиниоза появляются в крови уже на 1-й неделе болезни, а существенное повышение их уровней происходит к началу 3-й недели. Этими сроками регламентировано обязательное исследование парных сывороток крови. Через 2 мес. наблюдается снижение концентрации антител, а через 6 мес. они могут обнаруживаться в минимальных значениях (1:50; 1:100).

Наиболее выраженная динамика антителообразования наблюдается у больных с заболеванием средней тяжести. При легком течении, особенно при гастроэнтерологической форме, динамика антител выражена слабо, и титры нередко приближаются к уровню диагностических (1:160; 1:200) и начинают регистрироваться со 2-й недели заболевания.

В связи с наличием у иерсиний перекрестно-реагирующих антител предложен учет минимального диагностического титра в РА и РНГА, равный 1:160 и 1:200, соответственно. Достоверным считается 2-4-кратное и выше нарастание титра антител при исследовании парных сывороток.

Реакция агглютинации (РА)

Для постановки РА используют стандартные иерсиниозные антигены распространенных сероваров, представляющие собой 10 млрд взвесь иерсиний эталонных штаммов в S-форме, убитых формалином и суспендированных в 0,9 % растворе хлорида натрия. Перед постановкой антигены разводят 1:10 (рабочая концентрация 1 млрд). Реакцию ставят методом равных объемов. Подготовка сывороток и постановка РА изложены в инструкции, прилагаемой к препаратам.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

Для постановки РНГА используют стандартные эритроцитарные диагностикумы к *Y.pseudotuberculosis* I серотипа и *Y.enterocolitica* O:3 и O:9, представляющие собой полисахаридные антигены иерсиний, фиксированные на поверхности формалинизированных бараньих эритроцитов.

В связи с тем, что срок годности эритроцитарных диагностикумов составляет 3 года, необходима периодическая (не реже 1 раза в квартал) проверка их активности. Ее проводят с контрольной псевдотуберкулезной сывороткой с известным титром иерсиниозных антител. Если диагностикум выявляет в сыворотке антитела в кон-

центрации на 3 разведения ниже, чем они в ней содержатся, то такой препарат не пригоден для дальнейшего использования.

Методика постановки и учета РНГА приведена в инструкции по применению.

4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

4.1. Эффективность применения методов выделения иерсиний

В ходе мониторинга за иерсиниями в Вологодской области в 2000-2003 гг. при обследовании объектов внешней среды (исследовано 192 пробы) с применением ПК было выделено на 18 % культур иерсиний больше, чем на среде БКД, ранее предлагаемой в качестве накопительной; 25 % из них выделены на ранних сроках (2-3 сут). Среда ПК превосходит среду БКД по частоте выделения и скорости накопления иерсиний, позволяет сократить длительность исследования на 3 дня; она в 8 раз дешевле среды БКД, что делает исследование более экономичным (Смирнова Е.Ю., 2003).

Плотная дифференциально-диагностическая среда для выделения иерсиний (СБТС) характеризуется выраженной диагностической эффективностью в сравнении с другими отечественными и зарубежными средами (табл. 7) (Мессорош В.Г., 1995). Она дифференцирует иерсинии от других энтеробактерий по окраске колоний.

Таблица 7

Результаты выделения иерсиний на различных плотных питательных средах

Исследовано кишечников грызунов	Выделено культур иерсиний на средах, абс/%					
460	всего	Серова	Эндо	дезоксихолатная	Мак-Конки	СБТС
	32	15/42	4/11	11/31	12/33	26/81

4.2. Эффективность применения методов идентификации вирулентных иерсиний

Оценка диагностической эффективности ПЦР проведена на клиническом материале 153 больных с окончательным диагнозом «псевдотуберкулез» (Бренева Н.В., 2000). Диагноз подтвержден лабораторно в 88,9 % случаев, при этом с помощью ПЦР- 84,6 %; бактериологически - 27,2 %; в РПГА - у 46,4 % заболевших. Результат в ПЦР получали на 1-3 сутки от начала заболевания, культуры Y.pseudotuberculosis выделяли на 10-е сутки холодового «обогащения».

Выявление ДНК псевдотуберкулезного микроба в клиническом материале позволяет своевременно установить этиологический агент, а следовательно, обеспечить эффективное лечение.

Применение ПЦР при текущем микробиологическом мониторинге за иерсиниями в Вологодской области позволило в 4 раза чаще и уже в первые сутки исследования обнаружить возбудителя псевдотуберкулеза в смывах и продуктах из овощехранилищ (исследовано 129 проб) по сравнению с бактериологическим методом (ответ получен на 10-14 сутки после взятия материала).

Таким образом, диагностическую эффективность ПЦР обеспечивает экспрессность выявления *Y. pseudotuberculosis*, что позволяет быстро подтвердить псевдотуберкулезную этиологию заболевания, оперативно установить источник и факторы передачи инфекции.

Несмотря на то, что ПЦР является быстрым и надежным методом выявления вирулентных иерсиний, ее применение в практических лабораториях все еще остается достаточно ограниченным. Учреждения практического здравоохранения, не располагающие условиями для проведения ПЦР-анализа, для оценки этиологической значимости могут воспользоваться более простыми в постановке, но также достаточно информативными методами идентификации вирулентных иерсиний, такими как определение кальцийзависимости роста и РА с сывороткой к вирулентным иерсиниям (СВИ).

Следует отметить, что признак кальцийзависимости роста является наиболее стабильным среди фенотипических признаков, используемых для определения вирулентных иерсиний, и с его помощью можно определять плазмидосодержащие клоны в попу-

ляциях иерсиний, содержащих до 70 % бесплазмидных клонов. Его можно использовать для оценки этиологической значимости штаммов в рутинной практике. По данным И.В.Смирнова (1991), этот тест позволяет дифференцировать не менее 95 % плазмидосодержащих клонов в свежевыделенных культурах.

РА со СВИ наиболее проста в постановке, позволяет быстро и в большом количестве исследовать выделяемые культуры. Метод обладает высокой чувствительностью: сравнительное определение вирулентности иерсиний на биологических моделях и в РА со СВИ показало высокую корреляцию полученных результатов – 93, 90 и 85 % при исследовании патогенных *Y. pseudotuberculosis*, патогенных *Y. enterocolitica* и непатогенных иерсиний, соответственно (Ценева Г.Я. и соавт., 2002). Необходимость этого препарата связана с широким разнообразием циркулирующих вирулентных и авирулентных штаммов *Y. enterocolitica*; его применение позволяет избежать гипо- и гипердиагностику иерсиниозов.

4.3. Эффективность применения ИФА для выявления антигенов иерсиний

При исследовании материала от больных показано, что эффективность метода составила 73,5 % при спорадической заболеваемости и 81 % при обследовании заболевших во время вспышек. Специфический антиген обнаружен в 75 % проб копрофильтратов и в 20 % проб мочи (исследовано 1248 проб). Положительные пробы регистрируются уже на 2-е – 3-и сутки от начала заболевания, на 5-6-е сутки число положительных результатов достигает максимума – 85 % - против 38 % при бактериологическом исследовании. Всего на первой неделе заболевания диагноз псевдотуберкулеза удается подтвердить в ИФА у 68 % больных. На второй неделе частота обнаружения антигенов уменьшается, однако она достоверно выше, чем при бактериологическом исследовании в эти же сроки (37 и 10 %, соответственно) (Куляшова Л.Б., 1989; Бургасова О.А., 1995).

Эффективность ИФА испытана также при микробиологическом мониторинге за иерсиниями в Вологодской области (Е.Ю.Смирнова, 2003). При лабораторном контроле смывов с продукции растительного происхождения, оборудования и тары (исследовано 285 проб) получено в 15 раз больше положитель-

ных ответов, чем бактериологическим методом, и в первые сутки исследования (выделение культур происходило на 10-15 сутки).

ИФА (наряду с ПЦР) следует расценивать как сигнальный метод для целенаправленного поиска возбудителя бактериологическим методом в конкретных пробах с положительными результатами.

В целом приведенные методы выделения и идентификации *Y.enterocolitica* и *Y.pseudotuberculosis* позволяют унифицировать лабораторную диагностику, а также повысить эффективность и оптимизировать лечебные мероприятия.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 3
1. Показания и противопоказания
к применению метода 4
2. Материально-техническое обеспечение метода 5
3. Описание метода 6
3.1. Этиология псевдотуберкулеза и иерсиниоза 6
3.1.1. Биологические характеристики иерсиний 7
3.2. Эпидемиология псевдотуберкулеза
и иерсиниоза 11
3.3. Клиника псевдотуберкулеза и иерсиниоза 14
3.3.1. Клинические особенности
псевдотуберкулеза 14
3.3.2. Клинические особенности иерсиниоза 18
3.3.3. Дифференциальная диагностика
псевдотуберкулеза и иерсиниоза 24
3.3.4. Лечение 29
3.4. Лабораторная диагностика иерсиниозов 33
3.4.1. Показания к исследованию 33
3.4.2. Методы выделения и идентификации иерсиний
(антигенов) 33
3.4.3. Методы обнаружения антител 45
4. Эффективность использования метода 46
4.1. Эффективность применения методов
выделения иерсиний 46
4.2. Эффективность применения методов идентификации
вирулентных иерсиний 47
4.3. Эффективность применения ИФА для выявления
антигенов иерсиний 48

ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗ И ИЕРСИНИОЗ

(эпидемиология, клиника, диагностика, терапия)

Методические рекомендации

Подписано в печать 26.01.2005 г. Формат 60x84/16
Заказ № 50
Типография ВМедА
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

gost.e-ecolog.ru