Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

3.1.1. ПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ.
КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза

Методические указания
МУ 3.1.1.2438—09

Издание официальное

Москва • 2010

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

3.1.1. ПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ.
КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза

Методические указания
МУ 3.1.1.2438—09

ББК 51.9
Э71

Э71 **Эпидемиологический** надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—52 с.

ISBN 978—5—7508—0824—3

1. Разработаны Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Ю. В. Демина); ФГУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора (Г. Я. Ценева, Е. А. Воскресенская, Е. А. Богумильчик, А. Л. Панин); ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора (Л. В. Саяпина, А. Н. Малахаева); ФГУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора (М. В. Чеснокова, В. Т. Климов, К. А. Тирских, Л. К. Иванова, М. Б. Черепанова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 22 января 2009 г.

4. Введены в действие с 1 марта 2009 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.9

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. В. Николаева
Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 29.01.10

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,25

Тираж 500 экз. Заказ 4

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

Содержание

1. Область применения 4
2. Термины и сокращения....4
3. Общие сведения 5
3.1. Возбудители 5
3.2. Эпидемиология.... 7
3.2.1. Источники, пути и факторы передачи инфекций 7
3.2.2. Проявления эпидемического процесса....9
4. Эпидемиологический надзор 9
5. Мониторинг заболеваемости....11
5.1. Клиническая диагностика случаев псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза 11
5.2. Лабораторная диагностика 15
5.2.1. Организация лабораторных исследований материалов от больных (подозрительных на заболевание) иерсиниозными инфекциями 15
5.2.2. Методы исследований и оценка результатов....16
5.3. Регистрация случаев иерсиниозных инфекций 17
6. Мониторинг возбудителя 18
7. Эпидемиологическая диагностика....20
8. Эпидемиологический прогноз....25
9. Профилактические мероприятия 25
10. Противоэпидемические мероприятия 27
10.1. Противоэпидемические мероприятия при выявлении предпосылок и предвестников эпидемического неблагополучия по иерсиниозам 28
10.2. Мероприятия в эпидемических очагах иерсиниозных инфекций 29
11. Контроль и оценка эффективности проводимых мероприятий 30
Приложение 1. Перечень вопросов, необходимых для сбора эпидемиологического анамнеза....31
Приложение 2. Организация лабораторной диагностики псевдотуберкулеза и иерсиниоза....33
Приложение 3. Среды, используемые для первичного выделения культур....50
Приложение 4. Среды, используемые для идентификации вирулентных иерсиний....51
Нормативные и методические документы....52

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
22 января 2009 г.
Дата введения: 1 марта 2009 г.

3.1.1. ПРОФИЛАКТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ.
КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза

Методические указания МУ 3.1.1.2438—09

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания определяют основные принципы организации и устанавливают порядок осуществления эпидемиологического надзора и санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий при псевдотуберкулёзной и иерсиниозной инфекциях.

1.2. Настоящие методические указания предназначены для специалистов органов и учреждений системы государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

2. Термины и сокращения

ДОО – детские образовательные организации
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИФА – иммуно-ферментный анализ
ЛПО – лечебно-профилактические организации
ПК – пептонно-калиевая среда
ПЦР – полимеразно-цепная реакция
СБТС – диагностическая среда для выделения иерсиний с бромтимоловым синим

3. Общие сведения

Ежегодно в Российской Федерации регистрируются вспышки псевдотуберкулеза, в основном в детских образовательных организациях, и спорадические случаи кишечного иерсиниоза, что диктует необходимость освещения прикладных вопросов по организации эпидемиологического надзора за указанными нозологиями, профилактики и работы по локализации эпидемических очагов.

Псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз – две самостоятельные острые инфекционные болезни, относящиеся к зоонозам с фекально-оральным механизмом передачи инфекции, характеризующиеся полиморфизмом клинических проявлений с поражением желудочно-кишечного тракта, кожи, опорно-двигательного аппарата и других органов. Встречаются повсеместно.

3.1. Возбудители

Род *Yersiniae* относится к семейству *Enterobacteriaceae* и насчитывает 11 видов бактерий, из которых 3 вида – *Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* являются хорошо изученными возбудителями инфекционных болезней.

К настоящему времени по О-антигену известен 21 серотип *Y. pseudotuberculosis*. Среди *Y. enterocolitica* различают 29 серотипов. Из них только 11 наиболее часто ассоциируются с инфекциями человека. Чаще всего заболевания вызывают всемирно распространенные штаммы, принадлежащие к серотипу О : 3 (биотип 4); О : 5, 27 (биотипы 2 и 3), О : 9 (биотип 2) (табл. 1).

Таблица 1

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

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

Антигенное родство (по О-антигену) *Y. pseudotuberculosis* и большинства серотипов *Y. enterocolitica* выражено довольно слабо. Однако выявлено значительное сходство в антигенной структуре *Y. pseudotu-*

berculosis серотипа О : 1 и *Y. enterocolitica* «американских» серотипов О : 8; О : 18 и О : 21.

Патогенность иерсиний зависит от наличия плазмид, которые отвечают за синтез факторов вирулентности.

Иерсинии грамотрицательные, не образующие спор палочковидные (кокки или овоиды) бактерии, обладающие перитрихиальными жгутиками. Являясь гетеротрофными факультативно-анаэробными микроорганизмами, они весьма неприхотливы к питательным веществам и поэтому растут не только на обычных питательных средах, но и на средах с обедненным составом (пептонная вода) или «голодных» синтетических средах, фосфатно-буферном растворе, 0,9 %-м растворе натрия хлорида и даже кипяченой, водопроводной и стерильной дистиллированной воде.

Температурный фактор является одним из важнейших, определяющий изменчивость микробов и устойчивость их во внешней среде. Температура выращивания иерсиний может влиять на размеры клеток, темпы размножения, скорость метаболических процессов и других проявлений. Оптимальная температура роста для иерсиний обоих видов 28—30 °С. Повышение температуры, происходящее при попадании бактерий в организм млекопитающих (например, до 37 °С), приводит к утрате перитрихиальных жгутиков.

Оптимальная температура для жизнедеятельности иерсиний – 25—29 °С, однако они могут, хотя и гораздо медленнее, размножаться при температуре 4—10 °С. Иерсинии устойчивы к воздействию окружающей среды и способны сохраняться в ней долгое время. Так, в почве они могут существовать до 4 месяцев и более, в воде открытых водоемов – до 1 месяца, в кипяченой воде – до 1 года. В испражнениях при комнатной температуре выживают до 7 сут., в замороженных фекалиях – до 3 месяцев.

Достаточно долго иерсинии выживают на различных продуктах питания и даже могут на них размножаться (например на овощах, особенно приготовленных в виде салатов). В молоке сохраняются до 18 сут., в сливочном масле – до 145 сут., на хлебе, кондитерских изделиях – от 16 до 24 сут. Иерсинии чувствительны к высокой температуре: при 100 °С погибают в течение нескольких секунд, однако при температуре 50—60 °С способны выживать до 20—30 мин, переносят большие (до 10 %) концентрации раствора натрия хлорида, особенно при низких температурах. На эти микробы губительно действует прямая солнечная радиация, чувствительны иерсинии и к высыханию. Во влажной среде и

при невысокой температуре (14—18 °С) выживают длительно. Кислотность среды (pH 3,6—4,0) также губительна для иерсиний. В дезинфицирующих растворах в стандартных разведениях микробы *Yersinia* погибают в течение 5—10 мин. Раствор перманганата калия (марганцовки) в концентрации 0,5—0,3 % вызывает гибель бактерий через 3 мин. *Yersinia* чувствительны к перекиси водорода и дезинфектантам, в состав которых она входит.

3.2. Эпидемиология

3.2.1. Источники, пути и факторы передачи инфекций

Естественным резервуаром псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза являются дикие мелкие млекопитающие (полевки, мыши, землеройки-бурозубки, песчанки, суслики). Наряду с природными очагами при псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе формируются антропургические очаги, представляющие основную эпидемиологическую опасность для человека. В антропургических очагах инфекция распространена как среди диких грызунов (обыкновенные полевки, полевые мыши), заселяющих окраины населенных пунктов, так и синантропных (серые и черные крысы, домовые мыши). Возбудители, локализуясь в желудочно-кишечном тракте, выделяются из организма главным образом с фекалиями, что обусловливает обсеменение почвы, мелких непроточных водоемов, кормов и пищевых продуктов, обеспечивая дальнейшее заражение домашних и сельскохозяйственных животных.

Роль животных как источников инфекции для человека неравноценна. При кишечном иерсиниозе таковыми могут быть больные сельскохозяйственные животные (свиньи, коровы, овцы, козы). Преимущественное значение отводится свиньям, поскольку именно от них выделяется наибольшее количество патогенных штаммов *Y. enterocolitica* O : 3 и O : 9. Первичное заражение животных происходит двумя путями: 1) от свиноматок; 2) от синантропных грызунов, особенно серых крыс, которые большей частью доминируют на свинофермах. При псевдотуберкулезе сельскохозяйственные животные в качестве источника инфекции практического значения не имеют.

Y. pseudotuberculosis способен к длительному существованию в воде или почве. Последние, как промежуточные факторы передачи инфекции, обеспечивают перенос возбудителя в организм человека. Непосредственно почва не участвует в заражении человека ввиду незначительной концентрации в ней *Y. pseudotuberculosis*. Однако предполагается, что с частицами почвы на корне- и клубнеплодах возбудитель переносится в

складские помещения, где концентрируется на малом пространстве хранилищ или баз и находит оптимальные условия для своего накопления.

Овощехранилища становятся искусственно созданным длительно существующим резервуаром возбудителя псевдотуберкулеза. Здесь *Y. pseudotuberculosis* сохраняется в межсезонный период, интенсивно размножается в холодный период года, первично накапливается практически на всех овощах зимнего хранения. Наиболее высокая зараженность установлена для овощей – свежей капусты, репчатого лука, моркови. В период хранения овощей и корнеплодов, вплоть до полной их реализации, происходит длительное накопление на них возбудителя с контаминацией тары, стен и пола овощехранилищ. Растительная продукция может подвергаться инфицированию при закладке на хранение, независимо от сезона, с увеличением контаминации псевдотуберкулезным микробом в феврале (зимние овощи), апреле-мае (ранние, в т. ч. тепличные овощи) и августе-сентябре (летние овощи). Интенсивное накопление возбудителя псевдотуберкулеза как на овощах и корнеплодах, так и в самом помещении, происходит в основном в овощехранилищах примитивного типа с существенными колебаниями температуры и влажности.

Фекально-оральный механизм передачи иерсиниозов реализуется пищевым прямым (с сырыми овощами) или опосредованным (через оборудование, инвентарь или посуду) попаданием возбудителя в готовую пищу; вторичным накоплением возбудителя в готовых блюдах при нарушении технологии приготовления последних и увеличении сроков их хранения); контактно-бытовым при непосредственном контакте с домашними (кошки, собаки) или содержащимися в неволе животными (животные зоопарков, декоративные птицы, морские свинки и т. д.) путями передачи инфекции.

Кроме овощей, псевдотуберкулезная инфекция в исключительных случаях может передаваться с фруктами, хлебобулочными, кондитерскими изделиями и водой из открытых водоемов, которые нередко загрязняются выделениями грызунов.

Фактором передачи при кишечном иерсиниозе являются пищевые продукты животного происхождения (мясо и мясные продукты, молоко и молочные продукты), употребляемые в пищу в сыром или термически недостаточно обработанном виде, длительное время хранившиеся при низких температурах.

Больной псевдотуберкулезом человек эпидемиологической опасности не представляет, при кишечном иерсиниозе больной или носитель

при определенных условиях может явиться источником инфекции для окружающих.

3.2.2. Проявления эпидемического процесса

Заболеваемость псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом отмечается повсеместно. Вместе с тем, наибольшее число случаев в последние годы регистрировалось на Европейской территории (чаще в Северо-Западном регионе) и в Сибирском федеральном округе (преимущественно в западной части) Российской Федерации.

Псевдотуберкулез проявляется в виде спорадической и вспышечной заболеваемости. Кишечный иерсиниоз – в виде спорадической заболеваемости, групповые случаи и особенно вспышки наблюдаются редко.

Спорадическая заболеваемость формируется за счет случаев, возникающих в семьях или на предприятиях общественного питания.

Преобладают вспышки овощного происхождения при употреблении салатов и винегретов, в состав которых входят термически не обработанные растительные продукты, особенно капуста, морковь, репчатый лук. При вспышках, связанных с другими продуктами (сухари, печенье и т. д.), обычно возникает небольшое число больных и первыми проявлениями могут быть мезентериальный лимфаденит и энтерит.

Псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом поражаются все возрастные группы. Более тяжелые и манифестные формы отмечаются у детей младшего возраста, взрослые часто переносят легкие или бессимптомные формы болезни. Основная доля заболевших приходится на детей в возрасте 3—6, 7—14 и 15—20 лет. Заболеваемость псевдотуберкулезом детей до 1 года связана с включением в прикорм овощей и фруктов (соки, пюре). При кишечном иерсиниозе в эпидемический процесс могут вовлекаться дети с 1—2-месячного возраста, заражение которых происходит от больных иерсиниозом или носителей, ухаживающих за детьми.

Для псевдотуберкулеза характерно удлинение сезонного подъема заболеваемости до летних месяцев, сроки которого зависят от времени завоза, хранения и реализации овощей населению. При кишечном иерсиниозе отмечается незначительный весенне-летний и выраженный осенне-зимний подъемы заболеваемости.

4. Эпидемиологический надзор

4.1. Эпидемиологический надзор за псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом — это система мониторинга динамики эпидемическо-

го процесса, факторов и условий, влияющих на его распространение, анализ и обобщение полученной информации для разработки научно обоснованной системы профилактических мер.

4.2. Эпидемиологический надзор обеспечивает сбор, передачу и анализ информации.

4.3. Эпидемиологический надзор за иерсиниозами включает мониторинг заболеваемости, слежение за циркуляцией возбудителя, прогнозирование, контроль и оценку эффективности проводимых мероприятий.

4.4. Одним из важных моментов в эпидемиологическом надзоре за иерсиниозами является организация взаимодействия с органами и учреждениями ветеринарного контроля с целью получения информации о распространенности инфекций среди животных.

4.5. Целью эпидемиологического надзора за иерсиниозными инфекциями является оценка эпидемиологической ситуации, тенденций развития эпидемического процесса для принятия управленческих решений и разработки адекватных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на предупреждение возникновения случаев иерсиниозов, формирования эпидемических очагов с множественными заболеваниями, развития осложнений клинического течения заболеваний и летальных исходов.

4.6. Обработка полученной информации при эпидемиологическом надзоре осуществляется с помощью методов диагностики ретроспективного и оперативного анализов.

4.7. Задачами эпидемиологического надзора за иерсиниозами являются:

- постоянная и объективная оценка масштабов, характера распространенности и социально-экономической значимости инфекции;
- выявление тенденций эпидемического процесса;
- выявление регионов, областей, населенных пунктов и учреждений с высоким уровнем заболеваемости и риском инфицирования;
- выявление контингентов, наиболее подверженных риску развития заболевания;
- выявление причин и условий, определяющих уровень и структуру заболеваемости иерсиниозами на территории;
- контроль и обоснованная оценка масштабов, качества и эффективности осуществляемых профилактических и противоэпидемических мероприятий для их оптимальной корректировки, планирование последовательности и сроков их реализации;
- разработка периодических прогнозов эпидемиологической ситуации.

4.8. Эпидемиологический надзор за кишечно-иерсиниозной и псевдотуберкулёзной инфекциями проводится органами и учреждениями системы государственного санитарно-эпидемиологического надзора в соответствии с настоящими указаниями.

5. Мониторинг заболеваемости

5.1. Клиническая диагностика случаев псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза

Диагностика псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза носит комплексный характер и предусматривает оценку клинической картины заболевания совместно с данными эпидемиологического анамнеза и результатами лабораторных исследований.

5.1.1. Проявления инфекционного процесса при иерсиниозах характеризуются полиморфностью клинической картины, поэтому их 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 иерсиниозы приходится дифференцировать с менингококковой инфекцией, гриппом, сыпным тифом, ревматизмом, геморрагическим васкулитом. Большие сложности возникают при исключении у пациентов хирургической патологии, нередко приходится проводить дифференциальный диагноз с лимфосаркомой, опухолями толстой кишки, туберкулезом кишечника.

5.1.2. Дифференциальная диагностика ***скарлатины*** и экзантемных форм иерсиниозной инфекции сложна. Для скарлатины характерна мелкоточечная сыпь, появляющаяся на 1—2-е сутки 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, изменение характера стула, увеличение печени и селезенки.

5.1.3. Для ***кори*** характерна четкая цикличность течения: начало заболевания с катарального синдрома, который продолжается 3—4 дня и

нарастает в динамике; 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.

5.1.4. ***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 %.

5.1.5. ***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, патогномоничная 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 псевдотуберкулезе может отмечаться незначительное увеличение числа атипичных мононуклеаров.

5.1.6. Частое поражение печени при псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе обуславливает 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 иерсиниозов характерна умеренная гипертрансфераземия, частое поражение желудочно-кишечного тракта в виде длительной диареи, сохраняющейся в желтушном периоде; абдоминальные боли; наличие разнообразных сыпей; склерит; конъюнктивит; артрит.

5.1.7. При дифференциальной диагностике псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза с ***кишечными инфекциями*** другой этиологии следует помнить, что у больных иерсиниозами 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 др. Решающее диагностическое значение имеют бактериологическое, вирусологическое и серологическое обследования пациента.

5.1.8. Провести дифференциальную диагностику ***лептоспироза*** от пседотуберкулеза в начальной стадии 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 микроагглютинации и лизиса лептоспир, проводить микроскопию в темном поле.

5.1.9. 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.

5.1.10. 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 син-

дром, 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.

5.1.11. Иерсиниозная инфекция имеет черты сходства с ***тифопаратифозными 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. Также как и при иерсиниозной инфекции отмечается гепатоспленомегалия, но в гемограмме выявляется лейкопения, относительный лимфоцитоз, анэозинофилия. Диагноз тифо-паратифозных заболеваний подтверждается выделением культуры из крови, мочи, фекалий и положительными серологическими исследованиями.

5.1.12. Нередко псевдотуберкулез и кишечный 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.

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

5.1.14. Провести дифференциальный диагноз между генерализованными формами иерсиниозной инфекции и ***сепсисом***, обусловленным другими возбудителями, очень сложно. Для сепсиса нехарактерно наличие вспышечной заболеваемости, течение сепсиса ациклично. Диагноз сепсиса подтверждается выделением из крови возбудителей заболевания.

5.1.15. В отдельных случаях приходится проводить дифференциальный диагноз между псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом (чаще при вторично-очаговых формах) и атакой ***ревматизма***. Для рев-

матизма чаще характерно поражение суставов в виде артритов, может развиваться 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.

5.1.16. Дифференциальная диагностика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза проводится в первую очередь на основе эпидемиологического анамнеза (псевдотуберкулез – употребление в пищу термически необработанных овощей, для кишечного 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 кишечного иерсиниоза характерна осенняя сезонность). У больных кишечным иерсиниозом в клинической картине преобладает поражение ЖКТ с диарейным синдромом.

5.2. Лабораторная диагностика

5.2.1. Организация лабораторных исследований материалов от больных (подозрительных на заболевание) иерсиниозными инфекциями

Взятие материалов от больных иерсиниозами проводят в лечебно-профилактических организациях.

Лабораторные исследования материалов от больных (подозрительных на заболевание) осуществляют лаборатории, организации, структурные подразделения, имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение и лицензию на выполнение работ с микроорганизмами III—IV групп патогенности.

Лабораторные исследования от больных (подозрительных на заболевание) иерсиниозными инфекциями проводят в:

- лабораториях ЛПО, ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации;
- региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней III—IV групп патогенности – с территорий прикреплённых субъектов Российской Федерации (по необходимости);
- региональных опорных базах Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами (ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, ФГУЗ «Российский научно-

исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, ФГУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, ГУ НИИЭМ СО РАМН) – при необходимости консультативной помощи или невозможности проведения лабораторных исследований, необходимых для установления причинно-следственной связи при работе в эпидемическом очаге;

• Референс-центре по мониторингу за иерсиниозами (ФГУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора) – 2—5 изолятов иерсиний, выделенных в пробах материала от людей, объектов внешней среды при возникновении эпидемической вспышки для углубленного изучения возбудителя (фено- и генотипирование), нетипируемые штаммы возбудителей, выделенные в материале от людей и с объектов внешней среды в лабораториях ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» и региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней III—IV групп патогенности.

5.2.2. Методы исследований и оценка результатов

5.2.2.1. Для подтверждения диагноза и установления этиологии применяют бактериологический, серологический и молекулярно-генетические методы.

Проводится ПЦР-исследование, выделение культуры *Y. pseudotuberculosis* или *Y. enterocolitica*, оценка нарастания титра антител в парных сыворотках.

5.2.2.2. Положительный результат ПЦР позволяет эпидемиологу сделать вывод о наличии *Y. pseudotuberculosis* или *Y. enterocolitica* в исследуемом материале от больных, подтвердить «вероятный» случай в первые дни болезни, облегчить дифференциальную диагностику иерсиниозов и наметить направление работы по эпидемиологической диагностике.

5.2.2.3. Окончательный диагноз может быть поставлен при бактериологическом выделении возбудителя или нарастании титра антител в парных сыворотках.

Одним из важнейших условий качественного проведения бактериологического исследования является правильный сбор материала и его подготовка к исследованию (прилож. 2, табл. 4).

Схема проведения бактериологического исследования включает «обогащение» исследуемого материала при низкой температуре, исполь-

зование дифференциально-диагностических сред для выделения и идентификации культур, определение их биотипа, серотипа, вирулентности.

5.2.2.4. Антитела к возбудителям псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза появляются в крови уже на первой неделе болезни, а существенное повышение их уровней происходит к началу 3-й недели. Этими сроками регламентировано обязательное исследование парных сывороток крови. Через 2 месяца часто наблюдается снижение концентрации антител, а через 6 месяцев 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 абдоминальной форме, динамика антител выражена слабо, титры антител начинают регистрироваться в диагностических значениях не ранее второй недели заболевания.

В связи с наличием у иерсиний перекрестно реагирующих антител учитываемый минимальный диагностический титр в РА и РНГА считается равным 1 : 160 и 1 : 200 соответственно. Достоверным считается 2—4-кратное и выше нарастание титра антител при исследовании парных сывороток.

5.3. Регистрация случаев иерсиниозных инфекций

5.3.1. Выявление больных псевдотуберкулезной и иерсиниозной инфекциями осуществляют специалисты лечебно-профилактических организаций, независимо от организационно-правовой формы, при всех видах оказания медицинской помощи.

5.3.2. «Вероятным» следует считать случай острого заболевания, при котором имеются одновременно или последовательно возникающие сочетанные поражения среди лиц, находящихся в одинаковых условиях по риску заражения или связанные с подтвержденным случаем.

«Подтвержденным» следует считать случай острого заболевания, классифицированный как «вероятный», после лабораторного подтверждения диагноза (положительные результаты ПЦР, выделение культуры *Y. pseudotuberculosis* или *Y. enterocolitica*, нарастание титра антител в парных сыворотках).

5.3.3. Больные с вероятным диагнозом инфекции псевдотуберкулёза должны быть госпитализированы в стационар.

5.3.4. О каждом случае заболевания псевдотуберкулёзом и кишечным иерсиниозом лечащие врачи в течение 12 ч посылают экстренное

извещение по установленной форме (ф. 058/у) в территориальное учреждение Роспотребнадзора по месту выявления заболевания.

5.3.5. При каждом лабораторно подтвержденном случае псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза проводится эпидемиологическое расследование с организацией санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

5.3.6. Управление Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации в течение 24 ч направляет внеочередное донесение в адрес Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

При выявлении групповых очагов заболевания с числом пострадавших:

- 25 и более человек – среди населения городов и поселков;
- 15 и более человек – в образовательных организациях (дошкольных, общеобразовательных организациях начального, среднего и высшего профессионального образования, специальных, для обучающихся воспитанников с отклонениями в развитии, организациях для детей-сирот и детей, оставшихся без попечения родителей, организациях дополнительного образования детей);
- 10 и более человек – в лечебно-профилактических организациях (в т. ч. санаторно-курортных), специализированных организациях социального обслуживания граждан пожилого возраста и инвалидов, организациях отдыха и оздоровления.

В течение 10 дней после локализации очага управление Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации направляет окончательное донесение о причинах вспышки и проведенных мероприятиях.

6. Мониторинг возбудителя

6.1. Наблюдение за циркуляцией возбудителей иерсиниозов проводится в плановом порядке и по эпидемическим показаниям.

6.2. В плановом порядке бактериологические исследования проводятся в разрезе программы производственного контроля, ответственными за которую являются руководители соответствующих организаций, независимо от организационно-правовой формы.

Бактериологические исследования проводятся в овощехранилищах и теплицах:

- за инфицированностью иерсиниями грызунов – ежеквартально;
- за обсеменённостью иерсиниями овощей, фруктов, инвентаря, тары, оборудования в овощехранилищах – с учетом эпидемиологической

ситуации, но не реже 1 раза в квартал, и в теплицах – в период сбора урожая.

6.3. Бактериологический контроль на загрязненность иерсиниями готовой продукции (яйца, тушки птиц, пастеризованное молоко, мясные продукты) проводится специалистами ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации непосредственно перед проведением плановых мероприятий по контролю за соблюдением санитарного законодательства в соответствующих организациях пищевого производства.

6.4. По эпидемиологическим показаниям (в случае возникновения эпидемического очага, заболеваемости среди населения, значительно превышающей среднемноголетний уровень) специалистами ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводятся лабораторные исследования (ПЦР, ИФА, бактериология) на содержание иерсиний в овощах, фруктах, на инвентаре, таре, оборудовании в овощехранилищах и пищеблоках.

6.4.1. Кроме того, на пищеблоках организаций исследованию подлежат:

1) овощи, не подвергающиеся термической обработке;

2) фрукты;

3) остатки подозреваемых пищевых продуктов (салат, винегрет, сок домашнего приготовления, фляжное молоко, творог домашнего приготовления, сырое свиное мясо и т. д.);

4) смывы из холодильного оборудования;

5) смывы с разделочных досок, кухонного стола, ножей;

6) смывы с места хранения овощей в квартире (пол, тара);

7) смывы в подполье, подвале, кладовой и т. д. (овощи, пол, тара);

8) экскременты домашних животных, смывы с их подстилки;

9) смывы с пола и ведра для мусора.

6.4.2. В случае возникновения массовых заболеваний кишечным иерсиниозом (подозрением на кишечный иерсиниоз) среди населения городов и поселков целесообразно исследовать на содержание иерсиний питьевую воду (из централизованной сети и децентрализованных источников водопользования) и воду открытых водоемов.

6.4.3. При возникновении эпидемиологического неблагополучия и определения перечня и объемов необходимых исследований следует помнить, что объектами, имеющими особое эпидемиологическое значение при иерсиниозных инфекциях, являются:

• организации пищевого производства (в т. ч. мясокомбинаты, молокозаводы, хладокомбинаты, предприятия по переработке сельхозпродукции);

• организации, осуществляющие хранение, оптовую и розничную торговлю продовольственными товарами;

• организации общественного питания;

• оздоровительные организации для детей (городские и загородные), дома отдыха, пансионаты, гостиницы, мотели, кемпинги;

• образовательные организации для детей и подростков (дошкольные, общеобразовательные, специальные, для детей-сирот и детей, оставшихся без попечения родителей);

• организации, занимающиеся содержанием и разведением животных (зоомагазины, зоопарки, питомники);

• объекты коммунального бытового водоснабжения (очистные сооружения);

• организации, занимающиеся внешним благоустройством: организацией санитарной очистки и уборки городов и поселков городского типа, озеленением городов и поселков городского типа (зеленые зоны отдыха);

• таможенные терминалы, вокзалы железнодорожные, морские, речные, аэропорты;

• суда морские, речные, воздушные, предназначенные для перевозки пассажиров и грузов.

7. Эпидемиологическая диагностика

Основным рабочим инструментом обработки и анализа информации является эпидемиологический анализ – ретроспективный и оперативный.

7.1. Ретроспективный эпидемиологический анализ проводится специалистами управлений Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации. Он включает анализ многолетней заболеваемости кишечным иерсиниозом и псевдотуберкулёзом, годовую динамику, анализ по факторам риска с определением причинно-следственных связей складывающейся ситуации и прогнозирование.

Ретроспективный анализ заболеваемости иерсиниозных инфекций предусматривает характеристику:

• многолетней динамики заболеваемости с определением цикличности, тенденции (рост, снижение, стабилизация) и темпов роста или снижения;

• многолетних данных о циркуляции возбудителей (по результатам лабораторных исследований материалов от людей и из внешней среды);

• годового, помесячных уровней заболеваемости кишечным иерсиниозом и псевдотуберкулезом;

• определение сезонного и вспышечного компонента в годовой динамике иерсиниозов;

• заболеваемости по отдельным регионам, территориям, населенным пунктам;

• этиологической структуры (виды возбудителей, серотипы);

• распределения заболеваемости по возрасту, полу, профессии, месту жительства;

• распределения заболеваемости по характеру клинических проявлений и тяжести клинического течения;

• исходов заболеваний, трудопотерь, инвалидности, смертности;

• вспышечной заболеваемости (по нозологическим формам, тяжести клинических проявлений, причинам, интенсивности);

• факторов риска – наличия на территории неблагополучных животноводческих хозяйств, объема поступающей продукции, связи с заболеваемостью среди населения.

Для проведения ретроспективного анализа организуется взаимодействие с ветеринарными службами с целью получения информации о циркуляции возбудителей иерсиниозов среди животных на курируемой территории и определения неблагополучных хозяйств.

7.2. Оперативный (текущий) анализ заболеваемости, основанный на данных ежедневной регистрации по первичным диагнозам, позволяет оценить благополучие или начинающееся осложнение в эпидемиологическом плане, соответствие проводимых мероприятий эпидемиологической ситуации или необходимость их изменений.

7.3. Одним из важных элементов оперативного анализа являются предэпидемическая диагностика (предпосылки и предвестники осложнения эпидемиологической ситуации) и эпидемиологическое обследование очага.

7.4. Предэпидемическая диагностика – распознавание эпидемиологической ситуации, пограничной между нормальной для данного места и времени и неблагополучной. Она складывается из предпосылок и предвестников осложнения эпидемиологической ситуации.

Предпосылки осложнения эпидемиологической ситуации при иерсиниозах – *факторы природно-социальной среды, проявление которых* может привести к активизации эпидемического процесса:

• выделение возбудителя из объектов внешней среды при плановом мониторинге;

• обнаружение грызунов на объектах, имеющих особое эпидемиологическое значение;

• несоблюдение требований санитарного законодательства по содержанию овощехранилищ и складских помещений.

Предвестники – признаки начавшейся активизации эпидемического процесса иерсиниозов:

• регистрация случаев заболеваний кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза, число которых превышает среднемноголетний уровень;

• регистрация случаев иерсиниозов с тяжелым клиническим течением и летальными исходами.

7.5. При регистрации подтвержденного случая кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза проводится эпидемиологическое обследование очага с заполнением «Карты эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания (ф. № 357-у).

7.5.1. Обследование очага кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза с единичным случаем включает:

• выяснение даты заболевания и предположительного времени инфицирования;

• установление связи с употреблением определенного продукта, земляными работами (дача, огород), пребыванием в сельской местности, наличием связи с животноводческими хозяйствами, предприятиями по переработке и приготовлению пищевых продуктов;

• определение круга лиц, подвергшихся риску заражения;

• формирование рабочей гипотезы и разработка профилактических мероприятий.

Особое внимание должно быть направлено на выяснение мест приобретения и хранения овощей, молочных и мясных продуктов, условий приготовления блюд и их употребления, уровень санитарной грамотности больного и членов его семьи. Необходимо обратить внимание на грызунопроницаемость жилища и мест длительного хранения пищевых продуктов, отметить наличие грызунов или следов их жизнедеятельности.

7.5.2. Обследование очага иерсиниозов с групповыми заболеваниями включает:

1. Оценку эпидемиологической ситуации, предшествующей появлению групповых заболеваний, в течение максимального инкубационного периода.

Изучается санитарно-эпидемиологическая документация территориальных центров гигиены и эпидемиологии:

- акты санитарного обследования;
- сведения о выявленных нарушениях санитарно-эпидемиологического режима;
- результаты лабораторного контроля объектов окружающей среды;
- акты проведения дератизационных работ и результаты наблюдения за численностью грызунов.

Дается санитарно-гигиеническая характеристика учреждения:

- списочный состав коллектива;
- возрастная и профессиональная характеристика;
- санитарно-коммунальное благоустройство;
- характеристика водоснабжения и организация питания;
- набор помещений и их планировка;
- соблюдение технологических режимов приготовления и правил реализации блюд из сырых овощей, корнеплодов и мясных полуфабрикатов;
- сроки закупки, количество, поставщики овощной, молочной и животноводческой продукции;
- подготовка овощехранилищ к закладке урожая на хранение;
- система и состояние снабжения продуктами питания, не требующими термической обработки.

Кроме этого, изучается медицинская документация организованного коллектива для выявления «скрытых» случаев иерсиниозов, которые могли пройти под другими диагнозами (скарлатина, краснуха, корь, вирусный гепатит, острый аппендицит, острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), острые кишечные инфекции (ОКИ) неустановленной этиологии).

2. Сбор эпидемиологических данных, характеризующих вспышку.

Проводится опрос пострадавших (прилож. 1).

Составляется построчный список по «вероятным» и «подтвержденным» случаям псевдотуберкулеза. Он включает Ф. И. О., возраст, домашний адрес, пол, дату заболевания, дату обращения, дату госпитализации, дату последнего посещения организованного коллектива или места работы, тяжесть течения заболевания, результаты лабораторного исследования, информацию о характере питания.

3. Эпидемиологический анализ основных проявлений эпидемического процесса.

Причины и условия возникновения одноименных заболеваний устанавливаются с помощью метода эпидемиологической диагностики, основанного на описательно-оценочных и аналитических приемах. Описательно-оценочные приемы включают сбор и оценку эпидемиологических проявлений:

• по времени (динамика заболеваемости по датам заболевания в виде линейного графика). Чтобы установить период возможного заражения необходимо: от даты пика динамики заболеваемости отложить влево средний инкубационный период (10 дней); от даты первого случая отложить влево минимальный инкубационный период (3 дня); от даты последнего случая отложить влево максимальный инкубационный период (18 дней). Даты между конечными точками указывают на период возможного заражения;

• по месту (распределение заболеваний в абсолютных числах и интенсивных показателях по районам, классам, группам детского учреждения, этажам дома, цехам или отделам предприятия и т. д.). Оценка вспышки по месту может выявить связь заболеваний с конкретным объектом питания, продуктовым магазином или с единым источником водоснабжения;

• по группам населения (распределение заболеваний в интенсивных показателях в виде столбиковых диаграмм по возрасту, контингентам, профессиональным группам).

Аналитическим приемом диагностики, на основании которого высказывается гипотеза о факторах передачи, является метод «случай-контроль». Значение имеет подбор контрольной группы, которую должны составлять здоровые лица, находящиеся в одинаковых с заболевшими условиях по риску заражения. После опроса больных и лиц контрольной группы проводят статистическую обработку для выявления «факторов риска», с которыми чаще встречались больные по сравнению с лицами контрольной группы.

Во всех случаях, когда вспышка получает аналитическое подтверждение, необходимо целенаправленно обследовать пищеблок, места хранения подозрительного продукта, а также место, откуда он был доставлен, проверить сроки поставки и условия хранения. При этом принципиальное значение отводится эпизоотологическому обследованию и сбору материала для лабораторного исследования, которое должно проводится не только там, где зарегистрированы групповые заболевания, но и в местах, откуда продукты поступали в этот коллектив.

Проводится оценка санитарно-гигиенического состояния и соблюдения противоэпидемического режима на объектах особого эпидемиологического значения с обязательным забором материала для лабораторного исследования. Особое внимание при вспышках в организованных коллективах (ДОО, ЛПО и пр.) уделяется пищеблоку со столовой, продовольственным складам и кладовым сыпучих и хлебобулочных продуктов, холодильным камерам, овощехранилищам.

8. Эпидемиологический прогноз

8.1. Результаты оперативного и ретроспективного анализов позволяют провести прогноз эпидемиологической ситуации на основе влияния ведущих факторов эпидемического процесса в конкретной ситуации.

8.2. Прогноз может быть неблагополучным в случае массового появления грызунов на эпидемиологически значимых объектах, усиления численности диких грызунов и их миграции в населенные пункты.

9. Профилактические мероприятия

9.1. Профилактические мероприятия в отношении кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза обеспечиваются реализацией требований санитарного законодательства Российской Федерации.

Они включают:

- проведение дератизации и основных мероприятий по защите объектов от грызунов (СП 3.5.3.1129—02 «Санитарно-эпидемиологические требования к проведению дератизации»);
- обеспечение населения качественным продовольствием, содержание теплиц, овощехранилищ, складов, пищеблоков в соответствии с нормативно-методическими документами, соблюдение технологии приготовления пищи, сроков хранения готовых блюд на пищеблоках организаций и в организациях общественного питания, требований к транспортированию продукции, в первую очередь овощей, фруктов, молока, мяса, птицы, яиц, правил сбора и технологических требований в организациях пищевого производства;
- благоустройство городов, населенных пунктов, территорий организаций;
- обеспечение качественного водоснабжения и исправности коммунальных сетей;
- обеспечение социально-бытовых условий проживания населения;

• обеспечение содержания, эксплуатации, соблюдения противоэпидемического режима лечебно-профилактических, детских дошкольных, образовательных и других организаций;

• гигиеническое образование населения;

• гигиеническое обучение работников отдельных профессий, производств и организаций, связанных непосредственно с процессом производства, приготовления, хранения, транспортирования и реализации пищевых продуктов, водоподготовки, обучением и воспитанием детей и подростков с занесением в индивидуальные медицинские книжки.

9.2. Плановые мероприятия, направленные на предотвращение контаминации иерсиниями овощей и фруктов в овощехранилищах (должны быть предусмотрены программой производственного контроля):

• при подготовке к приему на хранение нового урожая: освобождение хранилищ от остатков зимних овощей и мусора, просушка, обработка стеллажей, инвентаря и тары, обработка стен, потолка и оборудования дезинфицирующими средствами, эффективными в отношении иерсиний, за 3—4 недели до загрузки с последующим проветриванием и побелкой. При поступлении овощей нового урожая – периодическое (1 раз в месяц) освобождение помещения и его дезинфекция с дальнейшим использованием;

• при хранении овощей: недопущение совместного хранения овощей (фруктов) старого и нового урожая, обеспечение надлежащего температурно-влажностного режима, качества переборки овощей, зачистки капусты, очистки и промывки овощей перед засолкой и квашением, использование для этих целей отдельных помещений, специального инвентаря и тары;

• обеспечение проведения дератизационных мероприятий и грызунонепроницаемости объекта (защита от грызунов и препятствия для миграции и выживания);

• организация планового лабораторного контроля.

9.3. Мероприятия по предупреждению контаминации иерсиниями тепличных хозяйств (в разрезе программы производственного контроля) включают соблюдение технологии обработки теплиц, в т. ч. почвы после сбора урожая, своевременную замену пришедшей в негодность тары, организацию проведения дератизации.

9.4. К числу основных мероприятий по защите объектов от грызунов относятся:

• применение для изготовления порогов и нижней части дверей на высоту не менее 50 см материалов, устойчивых к повреждению грызунами;

• использование устройств и конструкций, обеспечивающих самостоятельное закрывание дверей;

• устройство металлической сетки (решетки) в местах выхода вентиляционных отверстий, стока воды;

• герметизация с использованием металлической сетки мест прохода коммуникаций в перекрытиях, стенах, ограждениях;

• исключение возможности проникновения грызунов в свободное пространство при установке декоративных панелей, отделке стен гипсокартонными плитами и другими материалами, монтаже подвесных потолков;

• установка отпугивающих устройств, приборов (ультразвуковых, электрических и пр.).

9.5. Меры, препятствующие миграции грызунов и создающие неблагоприятные условия для их обитания:

• своевременный ремонт отмосток, дверных, оконных проемов, мест прохождения коммуникаций в перекрытиях, стенах, ограждениях;

• использование тары, изготовленной из материалов, устойчивых к повреждению грызунами;

• установка стеллажей, подтоварников, поддонов на высоту не менее 15 см от уровня пола;

• использование для хранения пищевых и бытовых отходов плотно закрывающихся емкостей, регулярная их очистка;

• проведение других мероприятий, предусмотренных санитарными правилами, соответствующими профилю объекта.

9.6. Осуществляется выявление больных иерсиниозами (подозрительных на заболевание) в период формирования детских коллективов, при приеме в ДОО, во время утренних приемов детей в ДОО, в процессе оказания любых видов медицинской помощи, в ходе диспансеризации, во время эпидемиологического расследования.

10. Противоэпидемические мероприятия

Противоэпидемические мероприятия представляют собой комплекс мер, проводимых при потенциальной угрозе возникновения и распространения этих заболеваний (при наличии предпосылок и предвестников эпидемического неблагополучия) и при возникновении заболеваний иерсиниозными инфекциями (в эпидемических очагах).

10.1. Противоэпидемические мероприятия при выявлении предпосылок и предвестников эпидемического неблагополучия по иерсиниозам

10.1.1. При выделении возбудителя из объектов внешней среды при плановом мониторинге проводится:

- сортировка овощей и фруктов (переборка, зачистка капусты);
- зачистка стеллажей и тары;
- дезинфекция (стеллажи, тара, помещение);
- составление перечня объектов, куда поступает продукция со склада (овощехранилища, теплицы), информирование руководителей организаций (в первую очередь ДОО, ЛПО и других организованных коллективов), подготовка рекомендаций по усилению контроля за соблюдением приготовления пищи на указанных оъектах (при необходимости запрещение приготовления холодных закусок, не подвергающихся повторной термической обработке, закусок из свежих овощей);
- оценка заселенности объекта грызунами: субъективная (наличие свежих погрызов, помета, жилых нор, живых зверьков) и объективная (следовые площадки, ловушки Геро, клеевые ловушки).

10.1.2. При обнаружении грызунов на объектах, имеющих особое эпидемиологическое значение, проводится внеплановая дератизация с последующим контролем, сортировка овощей, зачистка стеллажей и тары, дезинфекция.

10.1.3. В случае неудовлетворительного состояния овощехранилища, складских помещений, организаций пищевого производства, связанных с переработкой мяса, птицы, молока и яиц (по содержанию помещений, условиям хранения продукции, дератизации, обеспечению проведения мероприятий по защите от грызунов) принимаются меры по приведению объекта в соответствие с установленными санитарно-эпидемиологическими правилами.

10.1.4. При регистрации предвестников начавшейся активизации эпидемического процесса иерсиниозов (регистрации случаев заболеваний кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза, число которых превышает среднемноголетний уровень; регистрации случаев иерсиниозов с тяжелым клиническим течением и летальными исходами) проводится комплекс мероприятий как в эпидемических очагах иерсиниозных инфекций.

10.2. Мероприятия в эпидемических очагах иерсиниозных инфекций

10.2.1. Эпидемиологическое расследование вспышек инфекционных заболеваний проводят органы и учреждения, уполномоченные осуществлять государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

10.2.2. По результатам эпидемиологического обследования очага готовится план противоэпидемических мероприятий, который согласовывается с органами исполнительной власти (при необходимости), организациями здравоохранения, другими заинтересованными организациями и ведомствами.

10.2.3. В целях локализации очага иерсиниозной инфекции:

• проводится активное выявление больных методом опроса, осмотра при утреннем приеме (для организованных детей), подворных (поквартирных) обходов;

• за лицами, подвергшимися риску заражения, устанавливается медицинское наблюдение сроком на 18 дней;

• лица, подозрительные на заболевание, осматриваются врачом-инфекционистом, который принимает решение о госпитализации (при необходимости). Работники пищеблоков, подозрительные на заболевание, отстраняются от выполнения обязанностей, связанных с приготовлением пищи, до выставления клинического диагноза и на период лечения (в случае установления диагноза иерсиниоза);

• организуется отбор материала от больных (подозрительных на заболевание), сотрудников пищеблоков, складов, овощехранилищ и проб из объектов окружающей среды (смывы на содержание иерсиний с овощей, фруктов, оборудования и кухонного инвентаря, стеллажей, тары овощехранилища, проб воды и т. д.) для бактериологических, серологических и молекулярно-генетических исследований (ПЦР). Объем и число проб определяется специалистом-эпидемиологом, отвечающим за организацию эпидемиологического обследования очага;

• запрещается приготовление холодных закусок, не подвергающихся повторной термической обработке, в первую очередь из свежих овощей;

• проводятся внеплановые мероприятия по контролю на продовольственных складах, в овощехранилищах самих организаций и организаций, поставляющих продукты питания, проводится оценка заселенности грызунами, плановой дератизации, мер по защите от грызунов, в т. ч. по недопущению миграции и создания условий для выживания грызунов, санитарно-эпидемиологического состояния объектов;

• проводится отлов и исследование грызунов на иерсинии;

• на складах (овощехранилищах, пищеблоках) организуется сортировка овощей, фруктов, зачистка тары и оборудования с последующей дезинфекцией;

• в случае обнаружения следов пребывания грызунов проводится внеплановая дератизация с последующим контролем. В случае повсеместного распространения грызунов в населенном пункте решается вопрос о проведении сплошной дератизации по эпидемическим показаниям;

• вводится усиление надзора за системой водоснабжения, организацией питания, содержанием территории, соблюдением режима детских организованных коллективов и лечебно-профилактических организаций;

• проводится активная разъяснительная работа среди населения;

• организуется контроль за выпиской и установлением диспансерного наблюдения за реконвалесцентами. Выписка больных осуществляется после полного клинического выздоровления и нормализации всех показателей функционального состояния переболевших, без проведения контрольных лабораторных исследований на псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз, но не ранее 18-го дня болезни. За реконвалесцентами проводится диспансерное наблюдение в условиях поликлиники. Наблюдение за переболевшими детьми осуществляется участковыми педиатрами, за взрослыми – врачами-инфекционистами поликлиники, а при их отсутствии – участковыми терапевтами. Диспансерное наблюдение осуществляется в течение месяца после выписки из стационара при неосложненных формах, при затяжном течении – не менее 3 месяцев.

Допуск на работу и к посещению детских организаций проводится на основании справки о выздоровлении. Дети, посещающие дошкольные организации, детские дома, школы, школы-интернаты, переболевшие псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом, подлежат клиническому наблюдению с контролем температуры тела в течение 3 недель.

11. Контроль и оценка эффективности проводимых мероприятий

Основные направления деятельности, по которым проводится оценка эффективности мероприятий при иерсиниозных инфекциях:

• контроль эффективности проведения дератизации – отсутствие грызунов в течение 3 месяцев со дня проведения дератизации;

• мониторинг заболеваемости за кишечным иерсиниозом и псевдотуберкулёзом на территории;

• оцепка возможности реализации путей передачи инфекции с учетом санитарно-эпидемиологического состояния, социально-бытового устройства, включая организацию питания, водопользование и благоустройство территории.

Приложение 1

Перечень вопросов, необходимых для сбора эпидемиологического анамнеза

1. Дата заболевания.

2. Какие из следующих симптомов были в первые три дня болезни: повышение температуры до 38—39 °С, катаральные явления, склерит, коньюктивит, сыпь, «симптом перчаток», «носков», «капюшона», лимфаденопатия, тошнота, рвота, расстройство стула, боль в животе, малиновый язык, увеличение печени, селезенки, боли в суставах.

3. Наблюдались ли аналогичные симптомы: у лиц по месту работы, жительства, детского учреждения заболевшего.

4. Необычные обстоятельства, при которых могло произойти заражение в течение 18 дней до начала заболевания:

• кратковременный выезд за город: туристический поход, рыбалка, охота, дача, проведение сельскохозяйственных работ (переборка овощей, земляные работы, уборка урожая), место выезда или проведения сельскохозяйственных работ, участие в забое животных.

• Имели ли место во время выезда или проведения работ употребление воды из неизвестных источников, наличие грызунов в местах хранения пищевых продуктов.

• Наличие домашних животных (кошки, собаки, кролики, коровы, свиньи и др.) и птиц (голуби, утки, гуси, канарейки, попугаи и др.), ухаживал ли за ними заболевший.

• Наличие грызунов в детском учреждении, есть ли зооуголок, какие животные в нем, ухаживал ли за ними заболевший.

• Жилищные условия заболевшего (благоустроенная квартира, частный дом), наличие грызунов.

5. Организация питания больного за 18 дней до начала заболевания:

• Условия питания детей: питался только дома, только в детском учреждении, дома и в детском учреждении.

• Условия питания взрослых: питался только дома, только в сети общественного питания, завтрак и ужин дома, обед в столовой.

• Привычка употреблять сырое мясо, мороженные мясные продукты.

6. Какие из продуктов употреблялись без термической обработки в течение 18 дней от начала заболевания:

• Овощи: морковь, зеленый лук, репчатый лук, редис, свежие огурцы, помидоры, зеленый салат, свежая капуста, квашеная капуста. Овощи употребляли: в цельном виде, в виде салата, соков домашнего приготовления.

• Фрукты и ягоды: яблоки, груши, бананы, апельсины, мандарины, клубника, крыжовник и др., соки домашнего приготовления, сухофрукты.

• Продукты, употребляемые в сыром виде (молочные: молоко фляжное, творог домашнего приготовления, сливочное масло, сметана рыночная; мясные: сырое, мороженое свиное мясо, свиной язык, субпродукты; прочие: пряники, печенье, семечки и т. д.).

• Приобретение овощей и корнеплодов на рынках, в магазинах или употребление своих, заготовленных на зиму.

7. Условия хранения растительной продукции: подвал, подполье (в черте города, вне города), наличие грызунов.

8. Нарушение технологии приготовления блюд из сырых овощей (небрежная зачистка овощей, замачивание очищенных овощей на ночь, отсутствие повторной промывки горячей водой, хранение салатов в холодильнике и т. д.).

Приложение 2

Организация лабораторной диагностики псевдотуберкулеза и иерсиниоза

1. Биологические свойства иерсиний

1.1. Морфологические свойства

Y. enterocolitica, *Y. pseudotuberculosis* и другие виды иерсиний – грамотрицательные, не образующие спор палочковидные (кокки или овоиды) бактерии, обладающие перитрихиальными жгутиками.

При выращивании *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в течение 48 ч при температуре 37 °С в культурах всех биотипов обнаруживают бактерии без жгутиков, что коррелирует с потерей подвижности.

Восстановление подвижности наблюдается при выращивании микроорганизмов в течение 24—48 ч при температуре ниже 30 °С (22—28 °С).

Морфология иерсиний зависит от условий культивирования и состояния культуры. В мазках из бульонных культур *Y. pseudotuberculosis* могут располагаться цепочками по 2—5 клеток, *Y. enterocolitica* цепочек не образуют.

Размеры отдельных бактерий при выращивании культур на искусственных питательных средах составляют в длину 0,8—1,2 мкм, в ширину 0,5—0,8 мкм.

Иерсинии хорошо окрашиваются всеми анилиновыми красителями. В молодых культурах, выращенных при 22—26 °С, преобладают кокковидные бактерии, в старых – отмечена тенденция к полиморфизму, особенно при 37 °С на различных плотных питательных средах (агар Эндо и др.).

1.2. Культуральные свойства

Иерсинии являются гетеротрофными факультативно-анаэробными микроорганизмами. Они весьма неприхотливы к питательным веществам и поэтому растут не только на обычных питательных средах, но и на средах с обедненным составом (пептонная вода) или «голодных» средах (синтетических, фосфатно-буферном, физиологическом растворе и даже кипяченой, водопроводной и стерильной дистиллированной воде).

Температурный фактор является одним из важнейших, он определяет изменчивость микробов и устойчивость их во внешней среде. Температура выращивания иерсиний может влиять на размеры клеток, темпы размножения, скорость метаболических процессов и других проявлений. Оптимальная температура роста для иерсиний обоих видов 28—30 °С.

Особенностью энтеропатогенных иерсиний являются более высокие темпы размножения при низких температурах, что позволило на

практике использовать «холодовое обогащение» для выделения иерсиний из материала, контаминированного сопутствующей микрофлорой, особенно колиформными бактериями.

В жидкой среде (питательный бульон, пептонная вода, синтетические среды) иерсинии образуют равномерное помутнение среды, иногда нежную пленку (*Y. pseudotuberculosis*), нежное пристеночное кольцо (*Y. enterocolitica*). При дальнейшем культивировании, особенно при температуре 37 °С, среда просветляется и образует слизистый и крошковидный осадок.

На пластинах питательного агара иерсинии могут образовывать колонии двух типов – S и R, или переходные – SR.

При пониженной температуре культуры растут в гладкой S-форме, но накопление иерсиний происходит медленно, а при повышенной (выше 28 °С) *Y. pseudotuberculosis* активно диссоциируют в шероховатую R-форму. При этом в посевах можно наблюдать полиморфизм колоний по размеру, форме и цвету.

1.3. Биохимические свойства

Основные биохимические свойства *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, которые используются в практической работе при первичном изучении выделенных культур, представлены в табл. 1.

Y. pseudotuberculosis не ферментируют лактозу, сахарозу, раффинозу, целлобиозу, дульцид, инозид, сорбит, инулин и Д-арабинозу, но ферментируют до кислоты глюкозу, галактозу, α-арабинозу, левулезу, маннозу, ксилозу, рамнозу, мальтозу, трегалозу, маннит и салицин; редуцируют нитраты, метиленовый синий; вступают в реакцию с метиловым красным, образуют каталазу, обладают уреазной активностью; не образуют ацетилметилкарбинол в реакции Фогес-Проскауэра при температуре 22—24 °С.

Y. enterocolitica не ферментируют лактозу, рамнозу, раффинозу, не обладают фенилаланиндезаминазой, лизиндекарбоксилазой и аргининдегидролазой. Реакция Фогес-Проскауэра положительная при температуре 22—24 °С и отрицательная при температуре 37 °С.

Другие 6 видов Yersinia, а именно: *Y. aldovae, Y. kristensenii, Y. frederiksenii, Y. rohdei, Y. mollaretti, Y. berkovieri* изолируют из испражнений людей, смывов с окружающей среды, органов и тканей грызунов. Они, как *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*, хорошо растут на питательных средах для выделения иерсиний. Их также необходимо дифференцировать, используя основные биохимические тесты и субстраты (табл. 1).

Таблица 1

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

Тест или субстрат	*Y. pseudotuberculosis*	*Y. enterocolitica*						*Y. frederiksenii*	*Y. intermedia*	*Y. kristensenii*	*Y. ruckeri*	*Y. aldovae*	*Y. rohdei*	*Y. mollaretti*	*Y. bercovieri*	*Hafnia*	*Proteus*
		Биотипы															
		I															
		IA	IB	II	III	IV	V										
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	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
Орнитиндекарбоксилаза	–	+	+	+	+	+	–/+	+	+	+	+	+	+/–	+	+	–	–*
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*.

1.4. Антигенное строение и серологическая характеристика

К настоящему времени по О-антигену известен 21 серотип *Y. pseudotuberculosis*. Среди *Y. enterocolitica* различают 29 серотипов. Из

них только 11 наиболее часто ассоциируются с инфекциями человека. Чаще всего заболевания вызывают всемирно распространенные штаммы, принадлежащие к серотипу О : 3 (биотип 4); О : 5, 27 (биотипы 2 и 3), О : 9 (биотип 2) и «американские» штаммы О : 8 (биотип 1В) (табл. 2).

Таблица 2

Серотипы Y. pseudotuberculosis и *Y. enterocolitica*

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

Антигенное родство (по О-антигену) *Y. pseudotuberculosis* и большинства серотипов *Y. enterocolitica* выражено довольно слабо. Однако выявлено значительное сходство в антигенной структуре *Y. pseudotuberculosis* серотипа I и *Y. enterocolitica* «американских» серотипов О : 8; О : 18 и О : 21. Наиболее выражены антигенные связи между представителями различных серотипов внутри вида *Y. enterocolitica*, а также между *Y. enterocolitica* серотипа О : 9 и бруцеллами, благодаря сильному сходству в строении О-специфических полисахаридных цепей ЛПС. Описано антигенное сходство *Y. enterocolitica* и других представителей семейства *Enterobacteriaceae* (*Salmonella, Citrobacter, Escherichia, Shigella, Klebsiella, Enterobacter, Serratia* и др.). Перекрестные реакции между этими видами могут затруднять получение строго специфичных диагностических препаратов.

В составе наружной мембраны патогенных иерсиний определены белки (так называемые белки наружной мембраны, БНМ), кодируемые как хромосомными генами, так и генами, расположенными на плазмиде вирулентности pYV 42—48 MDa. БНМ являются факторами защиты возбудителя от действия иммунной системы макроорганизма (п. 4.1.5).

1.5. Патогенные свойства иерсиний и их генетический контроль

Между *Y. pseudotuberculosis* и некоторыми представителями *Y. enterocolitica* имеется большое сходство, проявляющееся в их инвазивности, способности к внутриклеточному размножению, что согласуется с генерализацией инфекционного процесса.

Для большинства изолированных от больных штаммов *Y. enterocolitica* характерна адгезия, колонизация на поверхности кишечного эпителия и энтеротоксигенность с продукцией больших количеств термостабильного энтеротоксина.

Патогенные *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* обладают широким набором факторов патогенности, детерминируемых хромосомными и плазмидными генами.

Способность *Y. pseudotuberculosis* к адгезии и инвазии в клетки эпителия кишечника зависит от экспрессии хромосомного *inv*-гена, кодирующего белок наружной мембраны инвазин с молекулярной массой 108 kDa. Системная диссеминация микроба в организме хозяина связана с функционированием системы поглощения ионов железа, названной иерсиниабактин. Хромосомный сегмент, содержащий гены иерсиниабактина, называется «островом высокой патогенности» (the high pathogenicity island, HPI). Установлено, что HPI содержат штаммы, циркулирующие в Европе, Австралии, Северной Америке. Они, как правило, обусловливают гастроинтестинальные проявления псевдотуберкулезной инфекции. Показано, что *Y. pseudotuberculosis* синтезирует суперантиген (*Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, YPM), ответственный за поликлональную активацию Т-лимфоцитов и гиперпродукцию провоспалительных цитокинов. 98 % штаммов, выделенных от больных на Дальнем Востоке России, в Японии, Корее, содержат суперантиген, вызывающий системное поражение органов и тканей (Fukushima H., 2001).

Патогенные *Y. enterocolitica* также имеют БНМ, обеспечивающие им адгезивные и инвазивные свойства. Один из них – инвазин с молекулярной массой 92 kDa, кодируемый хромосомным *inv*-геном. Другой хромосомный *ail*-ген кодирует белок адгезии/инвазии Ail 17 kDa. Гены HPI не выявляются у непатогенных *Y. enterocolitica* биотипа 1А и у низкопатогенных штаммов биотипов 2—5, но они определяются у всех высокопатогенных штаммов биотипа 1В. Энтеротоксигенность *Y. enterocolitica* биотипов 1В и 2—4 связана с экспрессией хромосомного *ystA*-гена. У непатогенных представителей биотипа 1А обнаружен *ystB*-ген.

Плазмидой вирулентности иерсиний pYV 42—48 MDa обладают штаммы *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, принадлежащие к серотипам O : 3 (биотип 4); O : 5, 27 (биотип 2 и 3); O : 8 (биотип 1В); O : 9 (биотип 2), чаще всего вызывающие заболевания (табл. 3).

Таблица 3

Био- и серотипы *Y. enterocolitica* и их связь с патогенностью

Патогенные свойства	Биотип	Серотип
есть	1B 2 3 4 5	O : 8; O : 4; O : 13a; O : 18; O : 20; O : 21; O : 9; O : 5, 27; O : 1, 2, 3; O : 5, 27; O : 3; O : 2, 3
нет	1A	O : 5; O : 6, 30; O : 6, 31; O : 7, 8; O : 10; O : 13, 7; O : 14; O : 16; O : 18; O : 19, 8; O : 22; O : 36; O : 41, 42; O : 41, 43; O : 46; O : 63; O : 64; O : 65; O : 66; O : 72

Плазмида вирулентности кодирует белок наружной мембраны Yad A, являющийся ведущим адгезином иерсиний, а также белки наружной мембраны Yop_s и аппарат их секреции III типа Ysc (Yop secretion), которые представляют собой комплекс факторов, участвующих в нейтрализации иммунного ответа макроорганизма. Аппарат секреции III типа Ysc позволяет иерсиниям вводить синтезируемые белки в цитоплазму клетки-мишени при тесном контакте с клеткой без проникновения в нее; включает не менее 28 белков.

Плазмида с молекулярной массой 82 MDa обнаружена только у *Y. pseudotuberculosis* I серотипа. Показано, что штаммы, имеющие плазмиду pVM 82 MDa, вызывают более тяжелое течение псевдотуберкулеза.

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 *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* распространенных сероваров О-моновалентные кроличьи сухие для РА на стекле;
- сыворотка диагностическая к вирулентным *Y. enterocolitica* адсорбированная сухая кроличья для РА на стекле (СВИ);
- «Тест-система иммуноферментная для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза I серотипа»;
- наборы для ПЦР *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*;
- диагностикум латексный для выявления *Yersinia pseudotuberculosis*;

• диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный сухой;

• диагностикум эритроцитарный кишечноиерсиниозный О : 3 антигенный сухой;

• диагностикум эритроцитарный кишечноиерсиниозный О : 9 антигенный сухой.

Питательные среды:

• питательная среда для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза, рег. № 96/306/5;

• среда для определения чувствительности к антибиотикам (АГВ) (ФС 42-3521—98);

• агар Хоттингера (МУК 4.1/4.2.588—96, с. 46);

• бульон Хоттингера (МУК 4.1/4.2.588—96, с. 45);

• пептон ферментативный, ГОСТ 138 05—76Е;

• питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (ГНЦПМ, Оболенск), рег. № 98/306/5.

Химические реактивы:

• двузамещеный фосфорно-кислый калий (K_2HPO_4), ГОСТ 2493—75;

• фосфатно-солевой буфер, кат. № В – 60201;

• натрий хлористый, ГОСТ 4233—77;

• калия гидроокись (КОН), СТ СЕВ 1439—78;

• желчь очищенная, сухая, ТУ 480-00001927-24—93;

• глюкоза, ГОСТ 975—88;

• мочевина, 6691—77;

• натрий щавелево-кислый;

• магний хлористый;

• бромтимоловый синий воднорастворимый.

3. Бактериологический метод

Порядок проведения бактериологического исследования

Одним из важнейших условий качественного проведения бактериологического исследования является правильный сбор материала и его подготовка к исследованию. Правила взятия и подготовки исследуемого материала представлены в табл. 4.

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

Несмотря на низкую эффективность, прямой посев нативного материала на плотные питательные среды проводят, как правило, при подоз-

рении на инфицированность иерсиниями продуктов питания и/или при групповых заболеваниях, вызванных употреблением (инфицированных) продуктов. Для этой цели эффективнее применение дифференциально-диагностической среды для выделения иерсиний с бромтимоловым синим (СБТС).

При проведении «холодового обогащения» исследуемый материал в пептонно-калиевой среде (ПК) помещают в холодильник и выдерживают в нем до первого положительного посева, но не более 10 дней.

Высев на плотные питательные среды проводят со среды ПК на 2—3, 5—7 и 10-е сутки. Высевы проводят 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 поступлении, для ингибирования роста посторонней флоры, проводят щелочную обработку. Методика щелочной обработки основана на относительной резистентности иерсиний к щелочи по сравнению с другими микроорганизмами.

Методика щелочной обработки

Щелочная обработка проб проводится перед каждым высевом со среды ПК на плотную питательную среду. В лунки полистироловых планшетов для иммунологических реакций вносят по 0,2 мл свежеприготовленного 0,72 %-го раствора КОН в 0,5 %-м растворе NaCl и 0,2 мл исследуемого материала, перемешивают, выдерживают 1—1,5 мин и высевают на СБТС или среду Эндо. Посевы инкубируют при (26 ± 2) °С.

Просмотр выросших колоний проводят, как правило, через 48 ч, учитывая их морфологию (табл. 5).

Биохимическая идентификация

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 %-м полужидком агаре и реакция Фогес-Проскауэра (среда Кларка) – при 25 и 37 °С.

Таблица 4

Материал для исследования и его подготовка

Вид исследуемого материала	Количество, сроки	Правила взятия, подготовка к исследованию бактериологическим методом и методом ИФА	Правила взятия, подготовка к исследованию в ПЦР
1	2	3	4
Материал от больных			
Испражнения*	0,5—1,0 г на протяжении всего периода заболевания	Стерильной деревянной палочкой из судна; ректальным зондом. Поместить в 5,0 мл среды накопления (ПК)	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, затем поместить в 5,0 мл среды накопления	В одноразовый контейнер
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 накопления	Тампон помещают в одноразовую пробирку с 5—7 мл ЗФР
Кровь	5—10 мл в первые 3 дня болезни	Стерильно из локтевой вены; сгусток измельчить, поместить 1 мл в 5,0 мл среды накопления	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 накопления	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 накопления	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 накопления	
* Высеваемость иерсиний наиболее высока в первые 3—5 дней болезни и до назначения антибиотиков.			

Продолжение табл. 4

1	2	3	4
Содержимое кишечника	0,5—1,0 г	Собрать в пробирку 0,5—1,0 мл, поместить в 5,0 мл среды накопления	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 накопления	В одноразовую пробирку с 5—7 мл ЗФР
Материал от животных и птиц			
Помет	0,5—1,0 г	Стерильной деревянной палочкой. Поместить в 5,0 мл среды накопления	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. Поместить в 5,0 мл среды накопления	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 накопления	В одноразовую пробирку с 5—7 мл ЗФР
Материал из внешней среды			
Пищевые продукты*	25 г	Измельчить, поместить в среду накопления в соотношении 1 : 10, 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 поместить в 5,0 мл среды накопления	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 $см^2$ каждая. Тампон поместить в 5,0 мл среды накопления	Тампон помещают в одноразовую пробирку с 5—7 мл ЗФР
Гнезда грызунов	Примерно 10 г субстрата гнезд	Образец растереть в ступке с песком и фосфатно-буферным р-ром. 1,5 мл взвеси внести в 5 мл среды накопления	1,5 мл взвеси в одноразовую пробирку с 5—7 мл ЗФР

* Количество указано в соответствии с требованиями СанПиН 2.3.2.1078—01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

Продолжение табл. 4

1	2	3	4
Вода из емкостей для хранения, вода открытых водоемов	Профильтровать через 0,22 мкм бумажный фильтр 1—2 л воды	Фильтры поместить в среду накопления	Фильтры поместить в одноразовые контейнеры с 5 мл ЗФР
Почва	50—100 г	Помещают в среду накопления в соотношении 1 : 10, для посева использовать надосадочную жидкость	В одноразовый контейнер ложечкой, прилагаемой к контейнеру с 5 мл ЗФР

Таблица 5

Характеристика колоний иерсиний на плотных питательных средах

Вид	Среда Эндо		Среда Хоттингера		СБТС		Примечание
	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч	
Yersinia pseudotuberculosis	Колонии мелкие (росинчатые) круглые, выпуклые, блестящие, бесцветные	Колонии диаметром 0,1—0,2 мм, крупные, выпуклые, блестящие с ровными краями, бесцветные	Колонии диаметром 0,1—0,2 мм, голубоватобелые, полупрозрачные с ровными краями, слизистые со слабоприподнятым центром (под микроскопом имеют вид пирамид или со сходящимися к центру гранями)	Колонии диаметром 0,2—0,5 мм, прозрачные с ровным краем. В полиморфной популяции – часть колоний бугристая с неровными фестончатыми краями	Колонии мелкие, круглые, могут иметь слегка желтоватую окраску	Колонии диаметром 1—2 мм, голубовато-зеленоватые, с фестончатыми краями, выпуклые с приподнятым центром и суховатой матовой поверхностью на синем фоне среды	На СБТС через 48 ч колонии *E. coli* – ярко-желтые, диаметром 2—3 мм, сочные, выпуклые; *Sh. flexneri* – желтые, диаметром 1—2 мм сочные, плоские
Yersinia enterocolitica	Такие же	Такие же, но с розоватым оттенком	Колонии диаметром 0,1—0,2 мм до 0,5 мм, круглые, выпуклые с ровным краем, полупрозрачные с голубоватым оттенком мягкой консистенции	Колонии диаметром 0,3—0,5 мм более выпуклые, с ровным краем, прозрачные		Колонии диаметром 2—4 мм, голубовато-зеленоватые, выпуклые, сухие, с матовым налетом	

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 табл. 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*.

Серологическая идентификация

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* серогрупп, O : 3; O : 4; O : 4, 32; O : 4, 33; O : 5; O : 5, 27; O : 6, 30; O : 6, 31; O : 7, 8; O : 9; O : 13; O : 13, 7 и другие; к *Y. pseudotuberculosis* I и III серотипов.

Идентификация вирулентных иерсиний

Среди методов обнаружения вирулентных иерсиний для рутинной практики, наиболее адекватными являются:

1. Фенотипические методы, основанные на выявлении признаков вирулентности, связанных с функционированием плазмиды pYV 42—48 MDa, прежде всего аутоагглютинации и кальцийзависимости роста иерсиний.

Определение способности к аутоагглютинации

Феномен аутоагглютинации проявляется при культивировании в жидкой среде и состоит в спонтанном склеивании клеток иерсиний.

Для посева используют чистые культуры иерсиний. Засевают 10^6—10^8 кл/мл в 2 пробирки со средой Кларка, одну из которых инкубируют при температуре (37 ± 1) °С, другую – при (26 ± 2) °С в течение 24—48 ч.

При положительном результате pYV+ иерсинии образуют рыхлый хлопьевидный осадок в первой пробирке (при (37 ± 1) °С); во второй пробирке – равномерное помутнение, осадок чаще не большой, компактный. При отрицательном результате рост pYV– иерсиний создает в обеих пробирках равномерное помутнение среды, хлопья отсутствуют.

Определение кальцийзависимости роста иерсиний

Данное свойство проявляется в ограничении роста бактерий (бактериостаз), наступающем при дефиците ионов Ca^{2+}. Определение проводят на модифицированной среде АГВ (кальцийдефицитный агар) при температуре (37 ± 1) °С. Исследуемые культуры инкубируют на бульоне Хоттингера при (26 ± 2) °С в течение 24 ч, затем засевают на две чашки

с кальцийдефицитным агаром, одну из которых инкубируют при температуре (37 ± 1) °С, другую – при (26 ± 2) °С в течение 48 ч.

При положительном результате pYV+ колонии, выросшие при температуре (37 ± 1) °С, значительно мельче (до 1 мм), чем при (26 ± 2) °С, или отсутствуют (чаще у возбудителя псевдотуберкулеза). При отрицательном результате размеры pYV– колоний как при (37 ± 1) °С, так и при (26 ± 2) °С такие же, как на обычных средах.

При идентификации вирулентных иерсиний в качестве контрольных рекомендуется использовать референтные плазмидосодержащие штаммы *Y. enterocolitica* серотипов О : 3; О : 9 (№ 188 в коллекции ГИСК им. Л. А. Тарасевича и № КМ-33 (201) в коллекции РосНИПЧИ «Микроб»).

2. Специфический агглютинационный тест, основанный на использовании антител к антигенам вирулентности иерсиний (БНМ), детерминируемым плазмидными генами.

Реакция агглютинации (РА) на стекле с сывороткой к вирулентным иерсиниям (СВИ) является экспресс-методом, позволяющим дифференцировать вирулентные pYV+ штаммы представителей рода *Yersinia* от авирулентных. Для постановки РА используют свежевыделенные культуры. Исследуемую культуру выращивают на чашке Петри или в пробирке со скошенным агаром Хоттингера при (37 ± 1) °С в течение 18—24 ч и столько же при (26 ± 2) °С. Далее постановка и учет реакции осуществляется по общепринятой методике (изложена в инструкции по применению).

4. Иммунологические методы выявления специфических антигенов

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;

• диагностикум латексный для выявления *Yersinia pseudotuberculosis* «Псевлат» для реакции агглютинации латекса (РАЛ). Реакцию ис-

пользуют для выявления антигенов возбудителя псевдотуберкулеза в копрофильтратах больных и смывах с объектов внешней среды;

• «Тест-система иммуноферментная для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза I серотипа»;

• материал для исследования, сроки и правила его взятия представлены в табл. 4 (аналогично подготовке материала для бактериологического метода).

Исследования проб проводят в первые сутки их получения и затем на 3—5 сут. после подращивания при 4 °С в ПК среде. Непосредственно перед исследованием материал инактивируют 30 мин при (56 ± 1) °С, центрифугируют при 3 000 об./мин 15 мин и берут для исследования надосадочную жидкость. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению.

5. Молекулярно-генетические методы

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) 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).

Подготовка проб.

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 5 000 об./мин. Для анализа в ПЦР достаточно 2—3 мкл надосадочной жидкости.

Моча. 10—20 мл мочи центрифугируют 10 мин при 2 000 об./мин. К осадку добавляют 300 мкл стерильной дистиллированной воды и прогревают при 100 °С 10 мин. Центрифугируют при 5 000 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 5 000 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. Подготовка материала основана на использовании щелочной обработки, при которой большая часть индигенной микрофлоры погибает и удаляется как супернатант при центрифугировании, а относительно устойчивые к щелочи иерсинии выживают, что обеспечивает снижение концентрации ингибиторов в пробе:

1) исследуемый материал суспендируют в ФБР в соотношении 1 : 10 и центрифугируют при 500—1 000 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 10 000—12 000 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 12 000 об./мин 2 мин. Для ПЦР используют 1—3 мкл надосадочной жидкости.

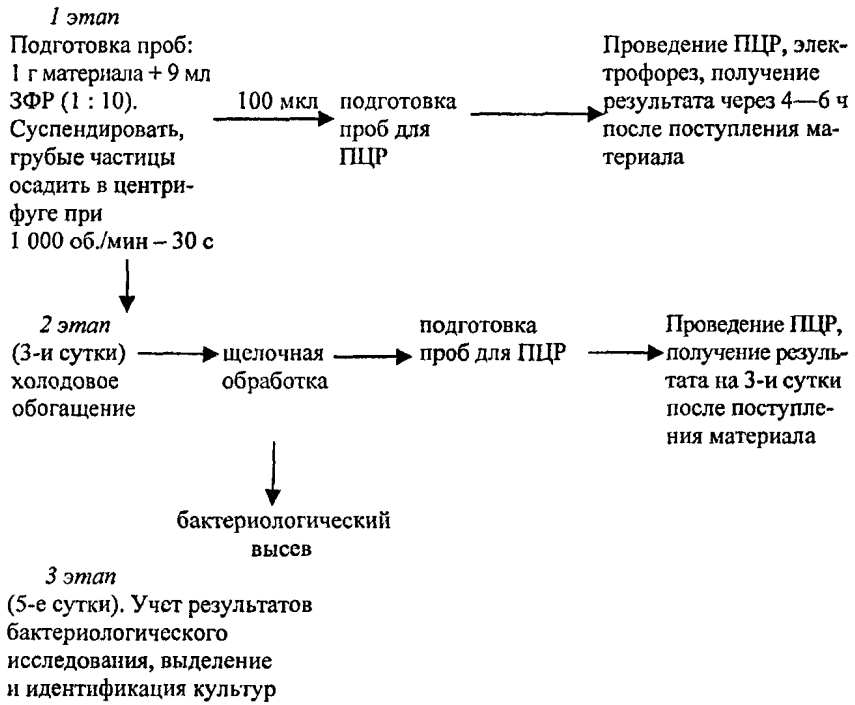
Пищевые продукты гомогенизируют в ЗФР в соотношении 1 : 10, тщательно перемешивают в течение 15 мин, центрифугируют при 12 000 об./мин 10 мин, осадок суспендируют в 300—500 мкл дистиллированной воды и проводят дальнейшую обработку в соответствии с п. 2.

Постановку ПЦР осуществляют согласно наставлениям к наборам для ПЦР «Амплисенс® *Yersinia pseudotuberculosis*» и «Амплисенс® *Yersinia 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. Образовавшиеся в результате реакции амплифицированные фрагменты ДНК (полосы в геле, светящиеся в УФ-лучах) идентифицируют по размеру, сравнивая с маркером молекулярного веса или положительным контролем.

Использование ПЦР дает возможность получить сигнальный результат в течение 1-х суток исследования, а наиболее короткий срок выделения культуры и идентификации иерсиний составляет 5—8 сут.

ПЦР-анализ можно использовать при 3-этапном варианте бактериологического исследования.



Двукратно ПЦР – отрицательные анализы позволяют прекращать дальнейшее бактериологическое исследование.

6. Серологические методы

Общие правила постановки серологических реакций

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

Наиболее выраженная динамика антителообразования наблюдается у больных с заболеванием средней тяжести. При легком течении, осо-

бенно при абдоминальной форме, динамика антител выражена слабо, титры антител начинают регистрироваться в диагностических значениях не ранее второй недели заболевания.

В связи с наличием у иерсиний перекрестно реагирующих антител учитываемый минимальный диагностический титр в РА и РНГА считается равным 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 серотипов, представляющие собой 10-миллиардную взвесь иерсиний эталонных штаммов в S-форме, убитых формалином и суспендированных в 0,9 %-м растворе хлорида натрия. Перед постановкой антигены разводят 1 : 10 (рабочая концентрация 1 млрд). Реакцию ставят методом равных объемов. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

Для постановки РНГА используют стандартные эритроцитарные диагностикумы к *Y. pseudotuberculosis* I серотипа и *Y. enterocolitica* серотипов О : 3 и О : 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 концентрации 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.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

Для постановки ИФА используют тест-системы «Иерсиниоз-ИФА-IgA», «Иерсиниоз-ИФА-IgM», «Иерсиниоз-ИФА-IgG», предназначенные для выявления антител классов А, М и G к возбудителям кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза. Высокая чувствительность и специфичность метода достигается благодаря использованию в качестве антигенов, сорбированных на поверхности стрипов, нескольких рекомбинантных белков наружной мембраны иерсиний. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению.

Приложение 3

Среды, используемые для первичного выделения культур

Жидкие среды накопления:

Пептонно-калиевая среда (ПК)*

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

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

Среда для подавления роста посторонней микрофлоры

Готовят растворы: 40 % КОН (40 г КОН на 100 мл дистиллированной воды)

0,5 % NaCl (0,5 г NaCl на 100 мл дистиллированной воды)

Растворы стерилизуют автоклавированием при 0,5 атм. 30 мин, хранят при 4—7 °С.

Рабочую концентрацию среды готовят, смешивая 10,0 мл 0,5 %-го раствора NaCl и 0,18 мл 40 %-го раствора КОН. Среда не подлежит хранению.

Плотные питательные среды:

*Дифференциально-диагностическая среда для выделения иерсиний (СБТС**), pH 7,8*

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 фосфорно-кислый 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 дней при 4—7 °С.

---

* Состав среды защищен патентом.

** Состав среды защищен патентом. Аналог выпускает ГосНИИ прикладной микробиологии (пос. Оболенск, Московская обл.).

Приложение 4

Среды, используемые для идентификации вирулентных иерсиний

Среда Кларка для определения аутоагглютинации

Состав среды: двузамещенный фосфорно-кислый калий (KH_2PO_4) – 5 г
пептон – 7 г
глюкоза – 5 г
вода – до 1 л

Способ приготовления: пептон и фосфат растворяют в воде и кипятят 2—5 мин. Затем фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют автоклавированием при 1 атм. в течение 20 мин, асептично добавляют стерильный раствор глюкозы и разливают по 3—5 мл в пробирки.

Среда для определения кальцийзависимости (кальцийдефицитный агар)

Готовят растворы: 0,25 М щавелево-кислого натрия (33,5 г на 1 л дистиллированной воды)

0,5 М хлорида магния (101,5 г на 1 л дистиллированной воды).

Растворы стерилизуют автоклавированием при 0,5 атм. 30 мин, хранят при 4—7 °С.

В качестве питательной основы используют среду АГВ. В 100 мл расплавленной среды (около 50 °С) асептично вносят 8 мл 0,25 М раствора щавелево-кислого натрия, тщательно перемешивают; добавляют 4 мл 0,5 М раствора хлорида магния (указанная последовательность внесения солей обязательна). После перемешивания готовую среду разливают по 15—20 мл в чашки Петри. Хранят среду в течение 7—10 дней при 4—7 °С.

Нормативные и методические документы

1. Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ.

2. Постановление Правительства Российской федерации от 24 июня 2000 г. № 554 «Об утверждении положения о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании».

3. СП. 3.1.094—96, ВП 13.3.1318—96 «Иерсиниозы».

4. СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. СП 3.5.3.1129—02 «Санитарно-эпидемиологические требования к проведению дератизации».

6. МУ 1.3.1888—04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III и IV групп патогенности».

7. МУ 3.5.5.1034—01 «Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I—IV групп патогенности при работе методом ПЦР».

gost.e-ecolog.ru