

МАТЕРИАЛЫ К ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА И ИЕРСИНИОЗА

*И. З. Мухутдинов, [Н. Ф. Амфитеатрова], Н. М. Хакимов,
Д. Ш. Еналеева, Э. В. Горловская, В. М. Чернов, М. А. Осипов,
Л. К. Цукерман, М. И. Хакимова*

Кафедра эпидемиологии (зав.— доц. И. З. Мухутдинов), кафедра микробиологии (зав.— доц. П. Н. Амерханова), кафедра инфекционных болезней (зав.— проф. Д. Ш. Еналеева) Казанского медицинского университета, Институт биологии (директор— проф. В. Д. Федотов)

Казанского научного центра РАН, Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора (главврач— Р. М. Шигапов) РТ, Центр санитарно-эпидемиологического надзора (главврач— Г. А. Григорьев) Республики Марий Эл, инфекционная больница № 2 (главврач— А. Ш. Зайнутдинов), г. Казань

Профилактика заболеваний, вызываемых *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, в настоящее время является одной из актуальных проблем здравоохранения во многих странах мира. Несмотря на предпринимаемые усилия по предупреждению возникновения этих болезней, начиная с 60-х годов нашего века заболеваемость людей псевдотуберкулезом и иерсиниозом неуклонно растет и составляет на различных территориях от 6 до 200 случаев на 100 тысяч населения [2, 5, 7, 8].

Одной из причин низкой эффективности проводимых профилактических мероприятий является, по-видимому, недостаточная изученность эпидемиологии данных заболеваний, в частности вопроса о резервуаре и источниках инфекции. В последнее время наряду с зоонозной концепцией природы этих болезней, в которой основное значение в качестве резервуара инфекции отводилось синантропным грызунам, появились сапронозная [6] и протозоная [1] теории псевдотуберкулеза, признающие соответственно почву и простейшие микроорганизмы источниками инфекции для человека. Несмотря на то что при заболеваниях, вызываемых *Y. enterocolitica*, роль сельскохозяйственных и домашних животных в заражении доказана и не вызывает сомнений, при псевдотуберкулезе этот вопрос остается недостаточно изученным.

Целью исследований являлось установление эпидемиологической значимости отдельных источников и факторов передачи псевдотуберкулеза

и иерсиниоза и встречаемости возбудителей этих заболеваний при исследовании различных источников.

У поступивших в детские и взрослые инфекционные стационары больных с клиническими проявлениями ОКИ, неясной клиникой болезни и подозрением на псевдотуберкулез и иерсиниоз, а также у клинически здоровых работников различных цехов мясокомбината исследовали пробы кала (629) и носоглоточной слизи (169). У сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот— 169, свиньи— 96) и грызунов (57) бактериологическому анализу подвергали образцы паренхиматозных органов, лимфоузлы, кровь, кал, а у дойных коров— смывы с вымени (17). Кроме того, исследовали пробы пищевых продуктов и кормов сельскохозяйственных животных (1180), пробы объектов окружающей среды (122): речной воды, почвы и смывов с оборудования пищеблоков общественного питания. Материалом для бактериологического исследования служили также культуры микроорганизмов, присылавшиеся бактериологическими лабораториями для идентификации, и 19 штаммов иерсиний, предоставленных ЦНИИЭ и ВНИВИ. Отбор проб и бактериологические исследования выполняли согласно методическим рекомендациям. Серологическое типирование штаммов иерсиний проводили в реакции агглютинации (РА) с сыворотками к псевдотуберкулезному микробу 1 и 3 сероваров и к возбудителю иерсиниоза сероваров 03; 05,27; 06,30; 08 и 09, полученных из ЦНИИЭ.

Плазмиды из клеток иерсиний были выделены «щелочным» методом [4]. Разделением плазмидной ДНК и определение ее молекулярной массы производили при электрофорезе в 0,8%-ном агарозном геле [3]. В качестве маркера использовали нативный и расщепленный эндонуклеазой Pst I фаг λ и нативную хлоропластную ДНК гороха *Pisum sativum*, представленные Институтом биологии Казанского научного центра РАН. Присутствие плазмиды вирулентности rYV в штаммах иерсиний было дополнительно проверено тестированием культур на способность к аутоагглютинации (АА) и кальций (Ca^{2+})-зависимость.

В результате проведенных микробиологических исследований было установлено, что бактерии рода *Yersinia* обнаружены во всех изучавшихся объектах (см. табл.). Всего было выделено и исследовано 168 штаммов иерсиний, в том числе 72 культуры *Y. pseudotuberculosis*, 70 — *Y. enterocolitica* и 26 «новых» видов рода *Yersinia*: *Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*. Поскольку этиологическая роль при ОКИ доказана не для всех видов иерсиний и био- и сероваров возбудителя иерсиниоза, при определении значимости отдельных источников и факторов передачи мы не учитывали случаи выделения салциноположительных штаммов возбудителя иерсиниоза I биовара, а при отсутствии данных о принадлежности к какому-либо биовару — серовару 06,30, а также *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*. Кроме того, мы принимали во внимание наличие или отсутствие в штаммах иерсиний внехромосомных факторов патогенности — плазмид rYV и rVM 82.

Как видно из данных, представленных в таблице, при исследовании теплокровных организмов возбудители псевдотуберкулеза наиболее часто обнаруживались в паренхиматозных органах павших и забитых сельскохозяйственных животных (8,0%), затем — в кале больных ОКИ людей (2,8%) и клинически здоровых сельскохозяйственных животных (2,1%). Из материала от клинически здоровых людей и грызунов данные микроорганизмы изолированы не были. Высе-

ваемость возбудителя псевдотуберкулеза из кала больных ОКИ людей была достоверно выше, чем у клинически здоровых людей, сельскохозяйственных животных, грызунов, из овощей и смывов со столового инвентаря предприятий общественного питания, и уступала лишь высеваемости штаммов псевдотуберкулезного микроба из паренхиматозных органов павших или забитых сельскохозяйственных животных эпизоотически неблагополучных ферм. Частота обнаружения псевдотуберкулезного микроба в объектах окружающей среды составляла 5,8%, однако штаммы, выделенные из речной воды и почвы, обладали меньшей патогенностью, чем культуры псевдотуберкулезного микроба, изолированные от больных людей и сельскохозяйственных животных, поскольку ни один из них не имел плазмиды rYV.

Среди факторов передачи псевдотуберкулезной инфекции человеку наибольшая обсемененность возбудителем псевдотуберкулеза была установлена в продуктах питания животного происхождения (6,1%), в частности в сыром (10,0%) и пастеризованном (5,0%) молоке. При исследовании овощей частота контаминации проб моркови составила 2,4%, репчатого лука — 0,5%, в среднем для овощей и фруктов — 0,3%. Штаммы псевдотуберкулезного микроба, выделенные из молока, чаще, чем культуры, изолированные из овощей, содержали одновременно две плазмиды патогенности rYV и rVM 82 ($P < 0,05$), что свидетельствовало об их более высокой патогенности.

Исследование кормов, отобранных на животноводческих фермах, показало, что частота обнаружения возбудителя псевдотуберкулеза составляла в них 6,1%, в том числе в пробах кормовой свеклы — 8,0%, силоса — 1,4% и соломы — 1,1%. Более высокая высеваемость псевдотуберкулезного микроба из кормов по сравнению с овощами и фруктами, служащими пищей для человека, вызвана, по-видимому, прямой контаминацией указанных объектов выделениями животных.

Анализ частоты встречаемости клинически значимых био- и сероваров возбудителя иерсиниоза у теплокровных организмов показал, что высеваемость данных микроорганизмов

Высеваемость иерсиний из различных источников

Объекты и материалы исследования	Количество проб	Количество выделенных штаммов (абс.)/высеваемость (%)										Y. kristensenii, Y. frederiksenii, Y. intermedia	
		Y. pseudotuberculosis					Y. enterocolitica						
		всего	всего патогенных	содержание		всего	2-4 биовара		1 биовара				
				всего	рYV		рYV рVM 82	всего	имели рYV	всего	имели рYV		
Больные ОКИ:													
кал культуры микробов, выделенные из кала	607*	34/5,6	28/4,6	17/2,8	4/0,7	4/0,7	14/2,3	11/1,8	7/1,2	3/0,5	0/0	3/0,5	
Здоровые люди													
носоглоточная слизь	165*	8/4,8	3/1,8	0/0	0/0	0/0	5/3,0	3/1,8	1/0,6	2/1,2	н. и.	3/1,8	
кал	22	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Павшие, забытые сельскохозяйственные животные; культуры микробов, выделенные из внутренних органов	176*	24/13,6	22/12,5	14/8,0***	3/1,7	4/2,3	9/5,1***	7/4,0	4/2,3***	2/1,1	0/0	2/0,5	
Клинически здоровые сельскохозяйственные животные:													
внутренние органы	97	7/7,2	5/5,2	2/2,1	н. и.	н. и.	3/3,1	3/3,1	1/2,1	0/0	0/0	2/2,1	
соски вымени дойных коров	45**	2/4,4	1/2,2	0/0	0/0	0/0	1/2,2	1/2,2	1/2,2	0/0	0/0	1/2,2	
кал	17**	1/5,9	1/5,9	1/5,9	н. и.	н. и.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Грызуны	35	4/11,5	3/8,6	1/2,9	н. и.	н. и.	2/5,7	2/5,7	н. и.	0/0	0/0	1/2,9	
Продукты питания животного происхождения	57**	3/5,3	1/1,8	0/0	0/0	0/0	3/5,3	1/1,8	1/1,8	2/3,5	1/1,8	0/0	
молоко пастеризованное	33	7/21,2	5/15,2	2/6,1	1/3,0	4/3,0	4/12,1	3/9,1	0/0	1/3,0	н. и.	1/3,0	
молоко сырое	20	3/15,0	2/10,0	1/5,0	0/0	1/5,0	1/5,0	1/5,0	0/0	0/0	0/0	1/5,0	
фарш колбасный сырой	10	3/30,0	2/20,0	1/10,0	0/0	1/10,0	2/20,0	1/10,0	0/0	1/10,0	н. и.	0/0	
Продукты питания растительного происхождения	3	1/33,3	1/33,3	0/0	0/0	0/0	1/33,3	1/33,3	0/0	0/0	0/0	0/0	
лук репчатый	210	4/1,9	1/0,5	1/0,5	0/0	0/0	3/1,4	0/0	0/0	3/1,4	0/0	0/0	
свекла столовая	45	1/2,2	1/2,2	0/0	0/0	0/0	1/2,2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
морковь	84	4/4,8	2/2,4	2/2,4	1/1,2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2,4	
капуста	234	1/0,4	1/0,4	0/0	0/0	0/0	1/0,4	1/0,4	0/0	0/0	0/0	0/0	
другие овощи и фрукты	442	1/0,2	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0,2	0/0	0/0	1/0,2	1/0,2	0/0	
в овощехранилище	934	11/1,1	5/0,5	3/0,3	1/0,1	0/0	6/0,6	2/0,2	0/0	4/0,4	1/0,1	0/0	
в «частном секторе»	81	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Корма сельскохозяйственных животных	132	17/12,9	11/8,3	8/6,1	2/1,5	4/3,0	8/6,1	3/2,3	1/0,8	5/3,8	1/0,7	1/0,7	
свекла	25	2/8,0	2/8,0	2/8,0	0/0	1/4,0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
кормовая	44	13/29,6	8/18,2	5/11,4	1/2,3	3/6,8	7/15,9	3/6,8	1/2,3	4/9,1	1/2,3	1/2,3	
другие корма	64	2/3,2	1/1,6	1/1,6	1/1,6	0/0	1/1,6	0/0	0/0	1/1,6	0/0	0/0	
Окружающая среда	69	12/17,3	6/8,7	4/5,8	0/0	0/0	5/7,2	2/2,9	0/0	3/4,3	0/0	3/4,3	
вода речная	14	2/14,2	1/7,1	1/7,1	0/0	0/0	1/7,1	0/0	0/0	1/7,1	0/0	0/0	
вода питьевая	21	1/4,8	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/4,8	
почва	34	7/20,4	5/14,7	3/8,8	0/0	0/0	4/11,8	2/5,9	0/0	2/5,9	0/0	0/0	
Предприятия общественного питания, столовый инвентарь	53	4/7,6	3/5,7	0/0	0/0	0/0	4/7,6	3/5,7	2/3,8	1/1,9	0/0	0/0	
Итого:	2690	168/6,2	118/4,4	72/2,7	16/0,6	17/0,7	70/2,6	47/1,7	19/0,7	23/0,9	4/0,2	26/1,0	

Примечание. * число обследованных людей, ** число обследованных животных, *** включая штаммы, полученные из ВНИВИ, н. и. — признак не изучен.

у человека и сельскохозяйственных животных статистически не различалась. Частота обнаружения бактерий имела тенденцию к повышению при исследовании паренхиматозных органов больных, вынужденно убитых и павших сельскохозяйственных животных эпизоотически неблагополучных ферм (4,0%) по сравнению с таковой у здоровых животных (3,1%), здоровых и больных ОКИ людей и грызунов (по 0,8%). Одинаковая частота обнаружения 2—4 биоваров *Y. enterocolitica* при исследовании кала больных ОКИ людей и носоглоточной слизи клинически здоровых работников мясокомбината, имевших профессиональный контакт с животноводческим сырьем (1,8%), свидетельствует о частой связи последних с этими бактериями, с одной стороны, и о возможности развития бактерионосительства патогенных *Y. enterocolitica* — с другой.

Высеваемость иерсиниозных микробов из объектов окружающей среды (речной воды и почвы) составила 2,9%, однако эти штаммы обладали меньшей патогенностью, чем культуры, изолированные из теплокровных организмов, поскольку не имели плазмиды pYV.

Среди факторов передачи иерсиниозной инфекции человеку наибольшая обсемененность возбудителями была установлена в продуктах питания животного происхождения (9,1%), в частности в пастеризованном (5,0%) и сыром (10,0%) молоке, колбасном фарше (53,3%), в смывах со столового инвентаря предприятий общественного питания (5,7%), в овощах (0,2%), в том числе свекле (2,2%) и капусте (0,4%). Со столового инвентаря чаще, чем из овощей и окружающей среды, высеивались штаммы возбудителя иерсиниоза, содержавшие плазмиду pYV ($P < 0,05$); из продуктов животного происхождения были выделены культуры без этой плазмиды.

Исследование кормов показало, что частота обнаружения в них возбудителей иерсиниоза была равна 2,3%, в том числе в силосе — 6,8%. Более высокая высеваемость иерсиниозных микробов из кормов по сравнению с таковой в продуктах питания животного происхождения, обусловлена, по видимому, загрязнением кормов вы-

делениями животных, содержащими возбудителей иерсиниоза.

Сравнительный анализ высеваемости штаммов иерсиний из различных источников показал, что наряду с возбудителями псевдотуберкулеза и иерсиниоза, этиологическая роль которых при ОКИ бесспорна, среди разных экологических источников циркулируют микроорганизмы, считающиеся непатогенными: *Y. enterocolitica* I биовара, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*.

При исследовании кала людей, больных ОКИ, *Y. enterocolitica* I биовара высеивались у 0,5% обследованных, «новые» виды иерсиний — у 0,5%, при анализе носоглоточной слизи клинически здоровых работников мясокомбината — соответственно у 1,2% и 1,8%.

Частота данных микроорганизмов в материале от павших и забитых сельскохозяйственных животных была равна соответственно 0,1 и 0,5%, клинически здоровых сельскохозяйственных животных — 0 и 2,1%, грызунов — 3,5 и 0%. Показатели статистически не различались между собой и высеваемостью этих иерсиний от человека ($P > 0,05$), кроме *Y. enterocolitica* I биовара, изолированных от грызунов, которые в них обнаруживались чаще, чем у клинически здоровых сельскохозяйственных животных ($P < 0,05$).

При исследовании объектов окружающей среды (речная и питьевая вода и почва) *Y. enterocolitica* I биовара и «новые» виды рода *Yersinia* имели место в 4,3% проб, что превышало высеваемость этих микроорганизмов из кала людей, больных ОКИ ($P < 0,05$). Частота обнаружения *Y. enterocolitica* I биовара в окружающей среде была выше, чем у здоровых сельскохозяйственных животных ($P < 0,01$), а «новых» видов рода *Yersinia* — выше, чем у грызунов и в смывах со столового инвентаря предприятий общественного питания ($P < 0,05$).

При изучении продуктов питания животного происхождения высеваемость возбудителя иерсиниоза I биовара и «новых» видов иерсиний была равна 3%, в том числе из проб пастеризованного и сырого молока — соответственно 5% и 10%. В овощах и фруктах *Y. enterocolitica* I биовара и «новые» виды иерсиний выявлялись со-

ответственно в 0,4% и 0,2% проб, что было достоверно реже, чем в объектах внешней среды — в воде и почве ($P < 0,05$).

При исследовании кормов высеваемость патогенных *Y. enterocolitica* была несколько выше, чем из продуктов питания животного происхождения (3,8%). Частота обнаружения «новых» видов иерсиний (0,7%) статистически не отличалась от их высеваемости из овощей и фруктов. Анализ смывов со столового инвентаря показал, что *Y. enterocolitica* I биовара присутствуют в 1,9% проб и ни в одном случае не было «новых» видов иерсиний.

Таким образом, в результате изучения высеваемости *Y. enterocolitica* I биовара и «новых» видов рода *Yersinia* было установлено, что циркуляция этих иерсиний наиболее интенсивно происходит в окружающей среде. Из речной воды и почвы эти микроорганизмы могут попасть в пищевые продукты животного и растительного происхождения и в организм человека и животных. Одинаковый уровень высеваемости *Y. enterocolitica* I биовара, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* от клинически здоровых и людей, больных ОКИ, а также от здоровых и больных сельскохозяйственных животных свидетельствует о том, что данные микроорганизмы, по-видимому, не являлись этиологическим фактором при заболеваниях человека и животных. Однако для окончательного ответа на этот вопрос требуются дополнительные исследования.

Выводы

1. Основной средой обитания *Y. pseudotuberculosis* и патогенных *Y. enterocolitica* являются теплокровные организмы, дополнительной — окружающая среда. Основная среда обитания непатогенных микроорганизмов рода *Yersinia* — также окружающая среда, откуда они могут попадать в организм человека и животных (дополнительная среда обитания).

2. Основным источником псевдотуберкулезной и иерсиниозной инфекции являются сельскохозяйственные животные, дополнительными — грызуны, больной человек и здоровые носители *Y. enterocolitica*. Контаминация возбудителями псевдотуберкулеза и иерсиниоза внутренних органов сельскохозяйственных животных может происходить при их жизни.

3. Доминирующим путем распространения возбудителей псевдотуберкулеза и иерсиниоза является пищевая. Факторами передачи служат молоко, мясо и овощи. Столовый инвентарь предприятий общественного питания может быть фактором распространения иерсиниозной инфекции при нарушении технологического режима приготовления пищи.

4. Пребывание патогенных штаммов иерсиний во внешней среде способствует снижению их вирулентных свойств вследствие потери плазмиды вирулентности rYV . Это ограничивает роль воды и почвы как факторов передачи псевдотуберкулезной и иерсиниозной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Домагарский И. В./Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.—1988.—№ 12.—С. 117—122.
2. Лысанов Ю. И., Марамович А. С., Степelin Ю. А. и др./Тезисы докладов VI Всероссийского съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов.—М., 1991.—Том 1.—С. 98—99.
3. Маниатис Т. и др. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.—М., 1984.
4. Методы общей бактериологии/Под ред. Ф. Герхардта и др.—М., 1984.—Том 2.
5. Сомов Г. П. и др. Псевдотуберкулез.—М., 1990.
6. Сомов Г. П. Сборник научных трудов.—Л., 1978.
7. Ющенко Г. В., Елкина Ю. Б., Калужевский С. и др. Тезисы докладов VI Всероссийского съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов.—М., 1991.—Том 1.—С. 154—155.
8. Ющенко Г. В., Калошина Л. А., Саргоян С. С., Храмова Л. П. Тезисы докладов VI Всероссийского съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов.—М., 1991.—Том 1.—С. 155—156.

Поступила 09.06.93.