

Иерсинии. Возбудители
псевдотуберкулеза и кишечного
иерсиниоза

д.м.н., профессор
Г.И.Чубенко

Согласно систематики Берги
входят в 5 группу

Семейство Энтеробактерий

род: Иерсиний

11 видов

- *Y. enterocolitica*
- *Y. pseudotuberculosis*
- *Y. pestis*
- *Y. frederiksenii*
- *Y. intermedia*
- *Y. kristensenii*
- *Y. rohdei*
- *Y. aldovae*
- *Y. mollaretii*
- *Y. bercovieri*
- *Y. ruckeri*

Патогенными для человека являются три вида.

- Это возбудитель чумы (*Yersinia pestis*),
- возбудитель псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*),
- возбудитель кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*).

- Оппортунистические инфекции у человека и болезнь «красного рта» у рыб - *Y.ruckeri*

Под понятием иерсиниозная инфекция
понимают заболевания, вызванные
Y.pseudotuberculosis и
Y.enterocolitica

Уровень заболеваемости

- 1,8-7,6 случаев на 100 тыс. населения
- 250-300 случаев на 100 тыс. населения во время вспышек.

Заболевания характеризуются:

- Полиморфизмом клинических проявлений;
- Поражением ЖКТ;
- Склонностью к генерализации и септикопиемии

Общая характеристика иерсиний

объединяет подвижные и неподвижные палочки, не образующие спор.

- Подвижны при выращивании при температуре 25-28 оС, неподвижны- при 37оС
- Могут образовывать капсулу, каталазо «+», грам «-»
- Хемоорганотрофы
- Ферментируют большинство углеводов без образования газа
- Не образуют сероводорода, обладают уреазной активностью

- В окружающей среде ведут сапрофитный образ жизни
- В организме теплокровных проявляют патогенные свойства
- Обладают высокой метаболической пластичностью. Способны продуцировать «холодовые» и «тепловые» ферменты

в 1958 г. В.Терских отметил, что объекты окружающей среды могут быть резервуаром возбудителей болезней.

Такие возбудители были названы сапронозными.

К ним относятся иерсинии, листерии, легионеллы, лептоспиры и др.

Морфология иерсиний

Гр (-) палочки с закругленными концами, овоидной формы. Длина 0,8-2 мкм.

Окрашиваются анилиновыми красителями биполярно. В мазках из жидких культур располагаются короткими цепочками.

Спор не образуют, имеют капсулу. Перитрихи, имеют пили, способны к L-трансформации.

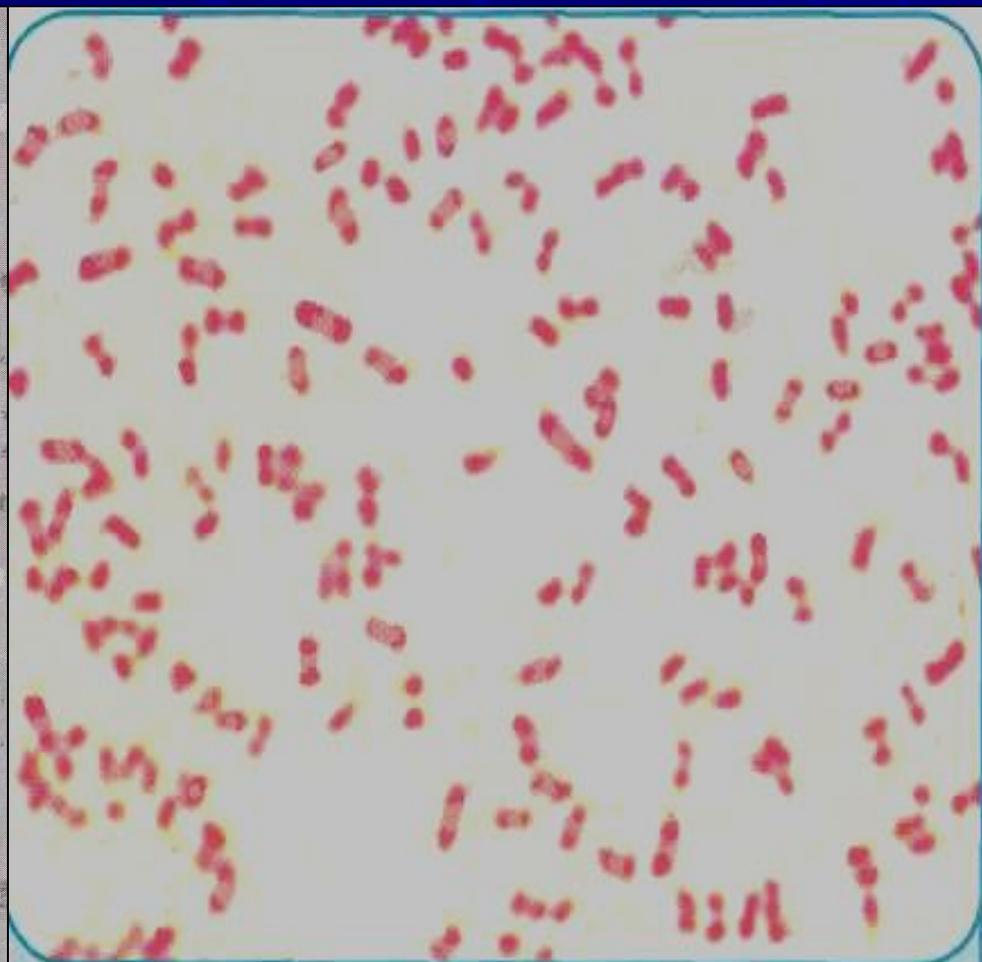
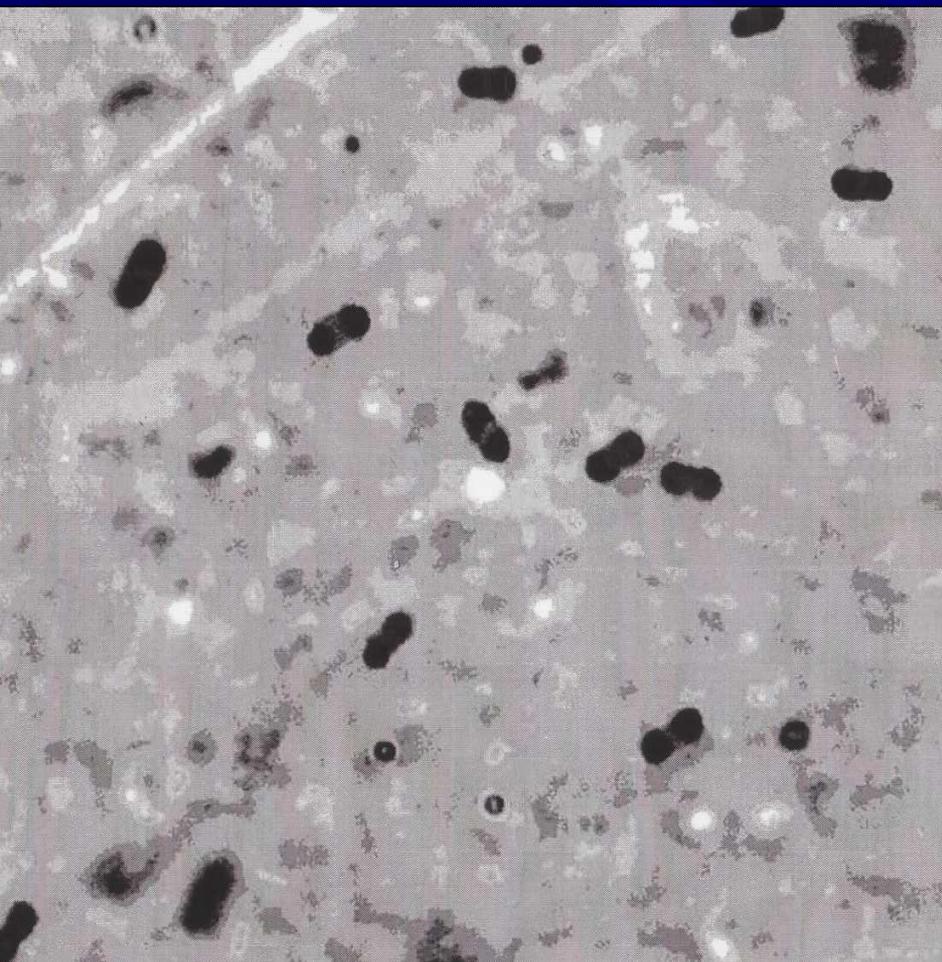
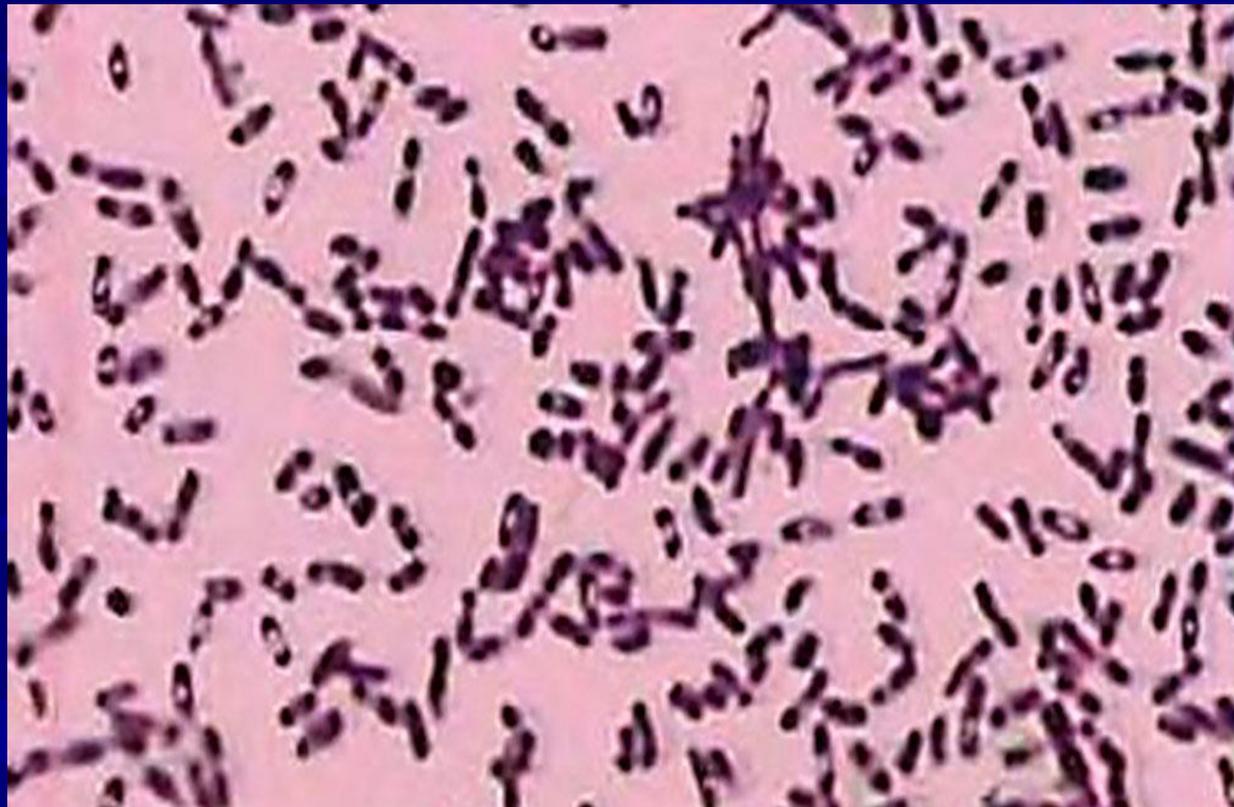


Рис. 3.54 Мазок из чистой культуры *Y. enterocolitica*. Окраска по Граму

Возбудители псевдотуберкулеза

Открыты в 1883 году L.Malasez и
W.Vignal.



До 50-х годов XX века были описаны заболевания животных (мышей, крыс, зайцев, оленей, собак, кошек, приматов и др.)

вызываемые данными микробами.

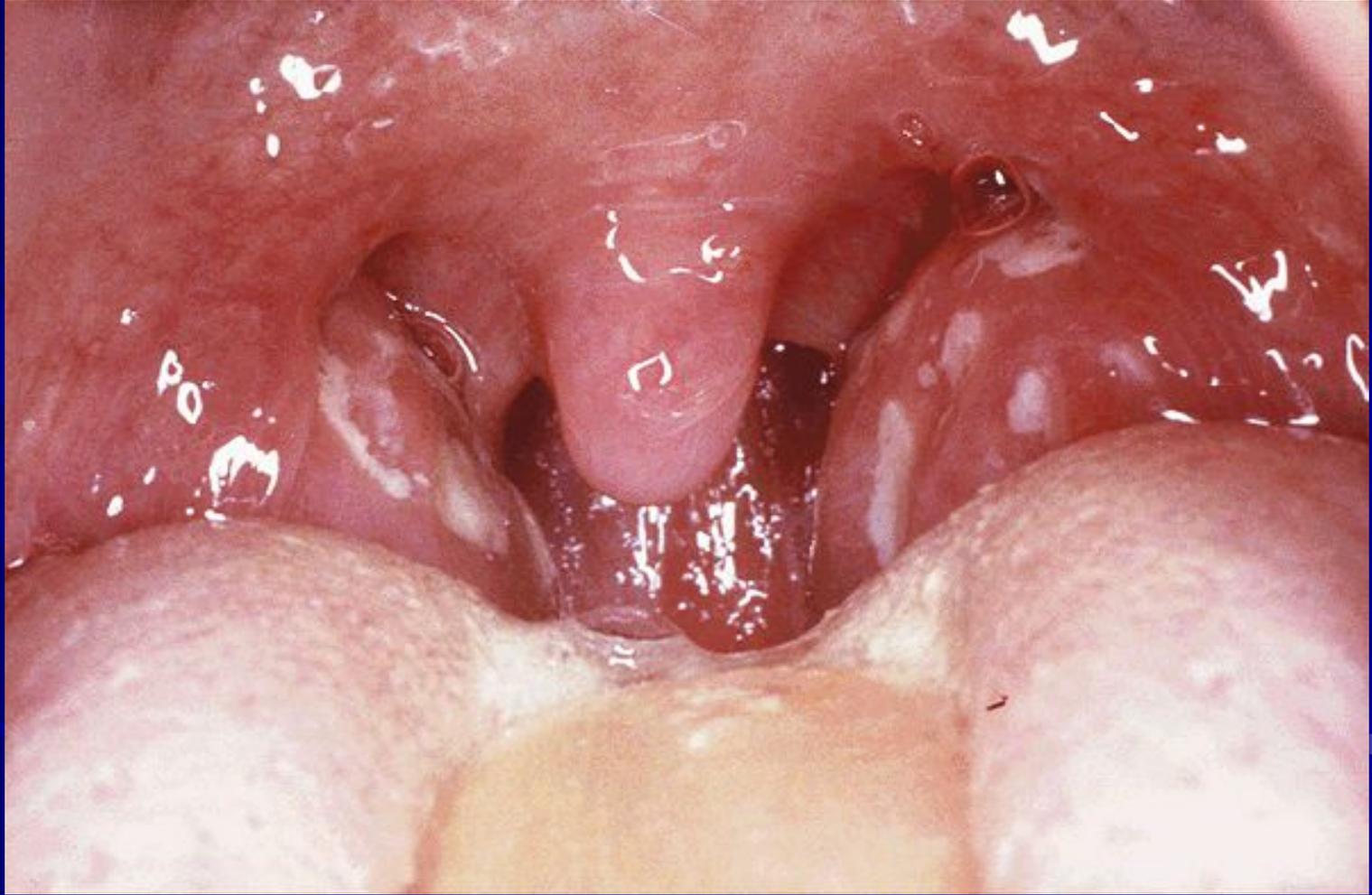
Заболевания людей были единичными



В 1959 году во Владивостоке возникла крупная вспышка охватившая 300 человек. Инфекция имела сходство со скарлатиной (ДСЛ).

В 1965 г. В.Знаменским и А.Вишняковым (медицинская служба тихоокеанского флота) из испражнений больного ДСЛ был выделен псевдотуберкулезный микроб.

В 1966 году В. Знаменским в опыте самозаражения была установлена этиология дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки.



Сотрудникам НИИ ЭиМ (г.Владивосток)

Г.Сомов, Н.Дзадзиева, А.Королюк, Н.

Тимченко в 1989 г. была присуждена

Государственная премия за изучение

иерсиниозов

АГ-свойства *Y.pseudotuberculosis*

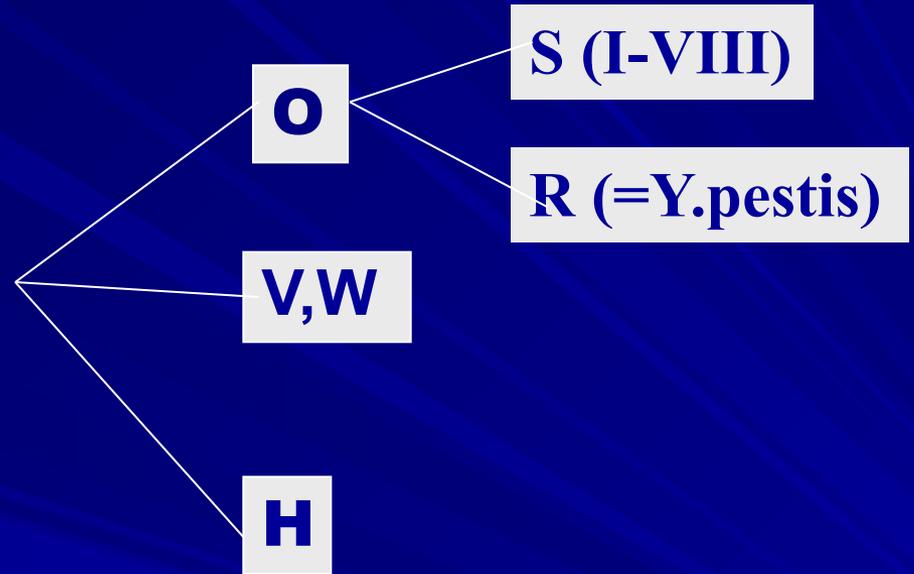
- обладают жгутиковым антигеном, двумя типами соматического антигена (S и R) и антигенами вирулентности V и W. H-антиген диагностического значения не имеет.

- По S антигену *Y.pseudotuberculosis* подразделяются на 8 сероваров.

Большинство штаммов, выделенных от людей, животных принадлежат к I серовару (60-90%), реже - к III (8-32%) и лишь единичные к остальным шести.

- R-антиген возбудителя псевдотуберкулеза идентичен соматическому антигену возбудителя чумы.

Y.pseudotuberculosis



- V и W -АГ принимают участие в обеспечении устойчивости *Y.pseudotuberculosis* к защитным силам макроорганизма. Они синтезируются только при культивировании при температуре 37 °С.
- V- и W- АГ связаны с наружной мембраной клеточной стенки
- По H-Аг выделяют 5 подсероваров, которые обозначают как буквами: а, б, с, d, е. Лучше образуются при температуре 2-30 °С.
- Обнаружены перекрестные АГ с эритроцитами человека, клетками печени, селезенки, вилочковой железы.
- Перекрестные АГ с другими энтеробактериями и сальмонеллами группы Д

Резистентность

В воде при t 18-20 $^{\circ}\text{C}$ выживают более 40 дней, t 4 $^{\circ}\text{C}$ - живут 250 дней. Могут сохраняться в пищевых продуктах (молоко, хлеб). Способны размножаться на свежих овощах (морковь, яблоки, капуста).

В фекалиях в замороженном состоянии сохраняются до 3 месяцев, а при комнатной температуре 7 дней.

Выдерживают замораживание до -30°C и -70°C

Плохо переносят высушивание и нагревание.

При $t > 60$ о С погибают через 30 минут,

при 100 градусов - погибают сразу.

Дезинфектанты содержащие хлор убивают бактерии через 5 минут, 3% р-р

хлорамина в течение 1 минуты, 1%

перманганат калия вызывает их гибель через

3 минуты. Полисепт- 1%, Катамин

АБ-0,25-0,5%, Белас-2,0% убивают за 15-30

МИН.

Биохимическая активность

Иерсинии ферментируют глюкозу, мальтозу, маннит только до кислоты, не ферментируют лактозу и сахарозу, не продуцируют H_2S , не образуют индола. Расщепляют мочевины. Не образуют лизин- и орнитин-декарбоксилазы. Обладает гемолитической активностью.

Биохимическая активность *Yersinia pseudotuberculosis* гораздо ниже чем у *Yersinia enterocolitica*.

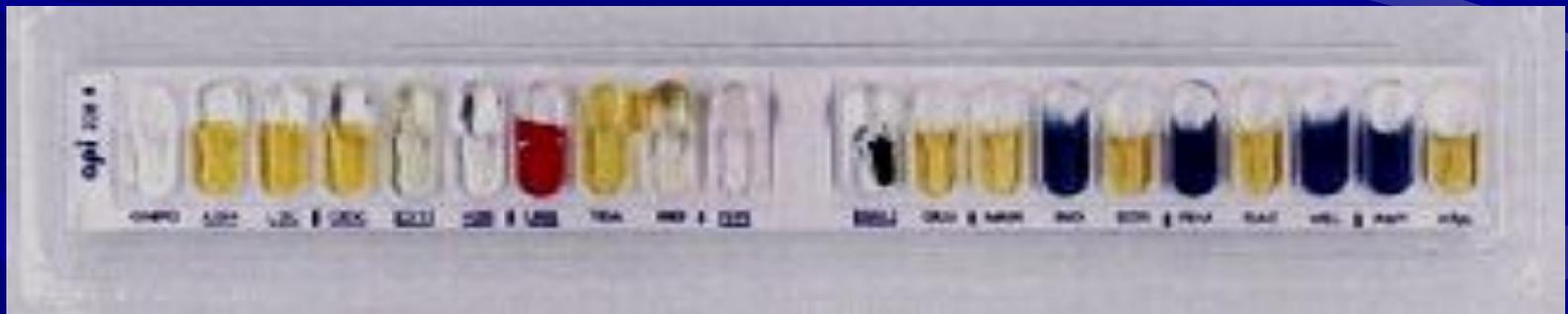
Таблица 12-16. Дифференциальные признаки бактерий рода *Yersinia*

Тест или субстрат	<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>	<i>Yersinia intermedia</i>	<i>Yersinia kristensenii</i>	<i>Yersinia mollaretii</i>	<i>Yersinia pestis</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
Образование индола	-	±	+	+	±	-	-	-
Реакция Фоггса-Прискауэра	-	±	±	-	-	-	-	-
Цитрат Симмонса	-	-	±	+	-	-	-	-
Уреазная активность	+	+	+	+	+	+	-*	+
Орнитин декарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	-	-
Ферментация мелибиозы	-	-	-	+	-	-	±	+
Ферментация рафинозы	-	-	-	+	-	-	-	±
Ферментация сорбита	+	+	+	+	+	+	-	-
Ферментация сахарозы	+	+	+	+	-	+	-	-
Ферментация рамнозы	-	-	+	+	-	-	-	+
Ферментация муката	+	-	±	±	-	+	-	-

* Возможна положительная реакция у свежих замороженных штаммов

Дифференциация иерсиний

	<i>Y.pestis</i>	<i>Y.pseudotuberculosis</i>	<i>Y.enterocolitica</i>
Подвижность 22 ² С	-	+	+
Сахароза	-	-	+
Эскулин	+	+	-
Гидролиз мочевины	-	+	+



Культуральные свойства

факультативные анаэробы, способны ассимилировать азот, водород из газовой смеси.

Оптимальной для роста является t 22-28 °C.
психрофилы.

Растут при t от + 4 °C (холодильник) и до 45 градусов.

Способны расти на простых и голодных, обедненных питательных средах (неприхотливы) при pH 6,6-7,8

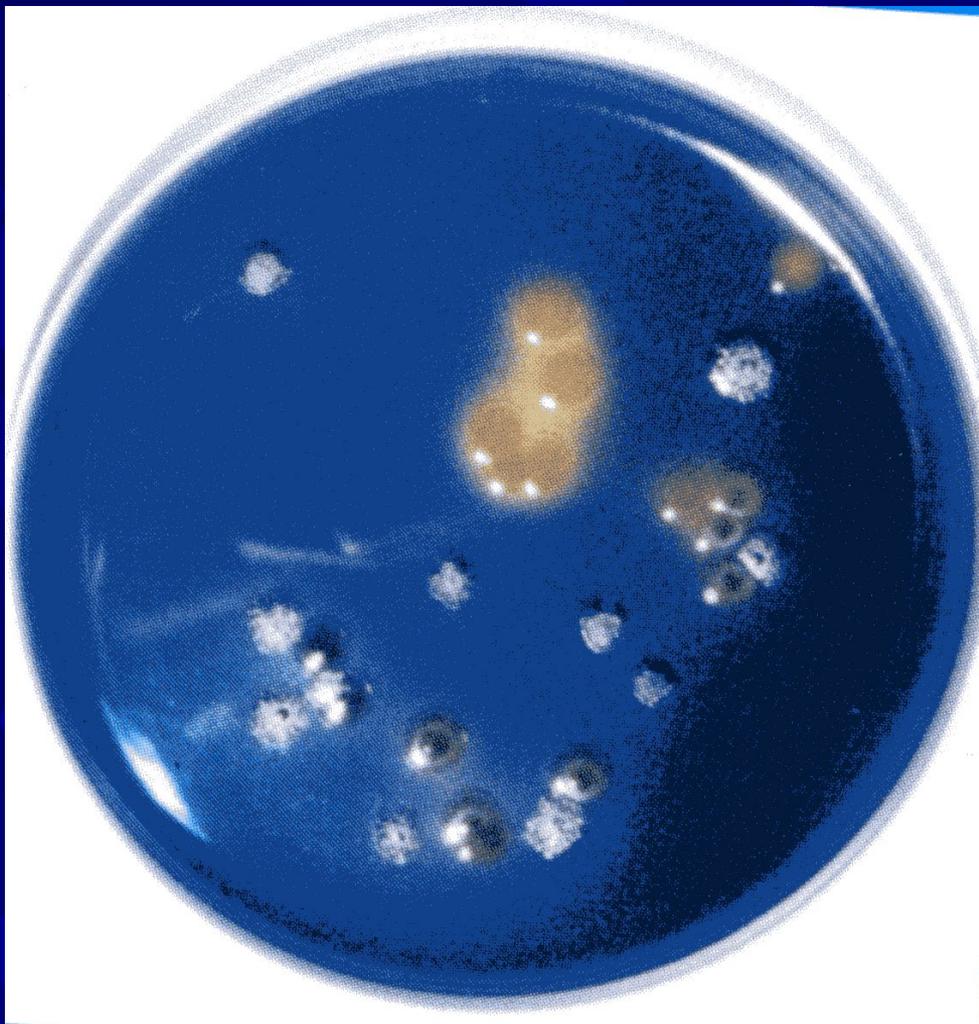
Выращивают

- на средах: МПА, Эндо, МакКонки, Серова, среде с бромтимоловым синим. Не растет на среде Плоскирева.
- При t ниже 37°C образует колонии в S-форме, при t выше 37°C – в R-форме. Могут образовывать переходные S-R и R-S формы.

Y.pseudotuberculosis

- **На среде Эндо (22 °С, 48 часов) образует мелкие, круглые, выпуклые, бесцветные, блестящие колонии с ровными краями**
- **На среде с бромтимоловым синим (СБТС) (37 °С, 48 ч) мелкие голубые колонии с фестончатым краем, выпуклые с приподнятым центром и суховатой, матовой поверхностью**

Иерсиниозная среда (ГНЦ прикладной микробиологии)



- Колонии иерсиний зеленовато-синие:
Y.pseudotuberculosis -
сухие, фестончатые
Y.enterocolitica -
круглые блестящие

У.Pseudotuberculosis на среде Серова (28-37 °С, 42-44 часа)

1. Колонии до 2 мм в форме восьмигранника, с ровными краями или круглые сосцевидным центром. Периферия прозрачная, нежная.

2. Колонии до 5 мм амебовидной формы с плотной поверхностью, выпуклым, темно-красным центром, фестончатыми краями. Колонии всех типов скользят под петлей и крошатся

На жидких средах (фосфатный буфер)
через 24 часа образуют помутнение и
нежную пленку с отходящими вниз
сталактитами

Факторы патогенности возбудителя псевдотуберкулеза

способны к

- адгезии,
- инвазии (максимальная)
- внутриклеточному паразитированию
- продукции термостабильного эндотоксина и белкового экзотоксина.

Серовары возбудителя различаются по патогенным свойствам.

ЭНДОТОКСИН	Сосудистую и цитотоксическую активность, некрозы в органах и тканях
Экзотоксин (термостабильный)	Мембранолитические свойства, иммунодепрессивное действие
RF-фактор	Термолабильный белок, нарушает проницаемость капилляров

- Экстрацеллюлярные и капсульные вещества – тормозят миграцию в очаг инфекции лейкоцитов, угнетают их поглотительную и переваривающую способность.
- Продуцирует аденилатциклазу - повышение содержания ц-АМФ и развитие диареи

По наличию плазмид вирулентности
Y.pseudotuberculosis делят на три
популяции:

- Дальневосточную,
- Западно-сибирскую и
- Московскую.

Генетические детерминанты вирулентности *Y.pseudotuberculosis*

- Плазмида вирулентности 70-kb (*Y.pseudotuberculosis* virulence plasmid) – «pYV»
- Островок патогенности (high-pathogenicity island) – «HPI»
- Токсин - суперантиген (*Y.pseudotuberculosis*-derived mitogen) – YPMa, YPMb, YPMc

Маркеры вирулентности иерсиний

- аутоагглютинация (спонтанное склеивание иерсиний, при росте в среде с глюкозой)
- Кальций зависимость (ограничение роста на среде АГВ при 37 °С при дефиците Ca^{++})
- Температурозависимость морфологии колоний (образование характерных колоний при 37 °С)

аутоагглютинацию определяют на среде Кларка,
температурозависимость на среде АГВ,
кальцийзависимость - на модифицированной среде АГВ.

Yersinia pseudotuberculosis

При низких температурах в окружающей среде способны повышать и восстанавливать свои вирулентные свойства (реверсировать)

Эпидемиология

По механизму передачи иерсиниозы относят к группе кишечных инфекций.

Человек заражается алиментарным путем

- при инфицировании продуктов выделениями грызунов,
- при размножении на них бактерий во время длительного хранения

Фактор передачи - пищевые продукты (овощи, салаты, хлеб, молочные продукты) и вода.

Форма болезни	Проявления	Характер течения	Форма течения
Гастроинтестинальная	Гастроэнтерит Терминальный илеит Острый аппендицит	Легкое	Острое циклическое
Генерализованная	Смешанный вариант Сепсис Гепатит Менингит Пиелонефрит Пневмония	Средней тяжести	Хроническое
Вторично-очаговая	Артрит Узловатая эритема Синдром Рейтера Миокардит Энтероколит	Тяжелое	Рецидивирующее

Патогенез псевдотуберкулеза

Продолжительность инкубационного периода от 3 до 18 дней (в среднем 3-6 дней)

- Входные ворота - ЖКТ.

Микробы в полости рта повреждают слизистую и внедряются в ткани, проникая в регионарные лимфоузлы, вызывая явления фарингита и шейного лимфаденита

- Уже через 15 минут бактерии проникают в кровь с развитием первичной бактериемии.

Псевдотуберкулез начинается сразу как генерализованная инфекция с диссеминацией возбудителя в печень, легкие, почки, лимфатические узлы.

- Микроорганизмы попадают в желудок и в дистальный отдел тонкого кишечника.

Они проникают в слизистый и подслизистый слой, вызывают выраженные воспалительные изменения.

Может развиваться терминальный илеит, у части больных – клиника острого аппендицита.

Из стенки кишки бактерии проникают в мезентериальные лимфоузлы.

- Дальнейшая генерализация инфекции с формированием стадии вторичной бактериемии и токсинемии и развитием лихорадки и полиморфной сыпи.
- У больных со вторичным иммунодефицитом заболевание может принимать септическое течение.

При разрушении микробов выделяется
эндотоксин.

Эндотоксин циркулирует в крови,
поражает ЦНС, вегетативную нервную
систему, сосуды, печень, почки.



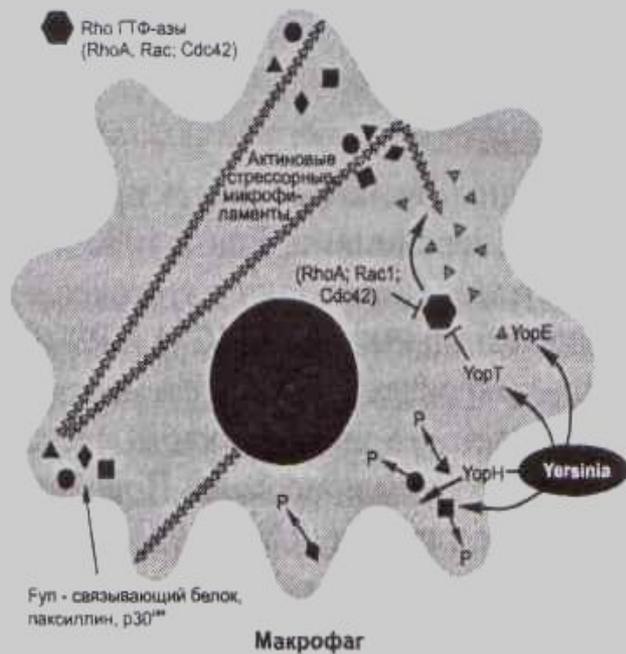


аллергический компонент

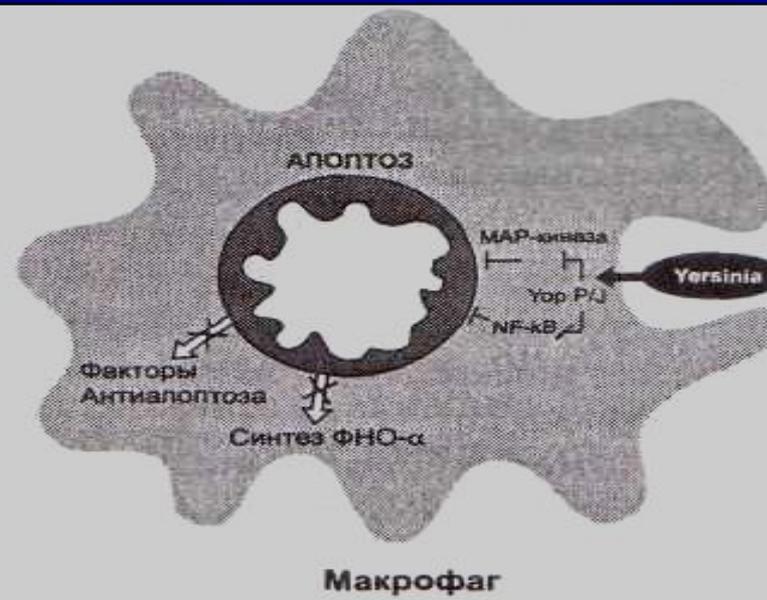
Микробы обладают сильным сенсibiliзирующим действием. Отмечается развитие аллергических реакций в виде формирования специфических гранулем и гиперартралгий.

Инфекционному процессу свойственна волнообразность течения с периодами ремиссии и обострения

Дисбаланс на уровне фагоцитарного звена иммунитета рассматривается как ведущая причина формирования рецидивов.

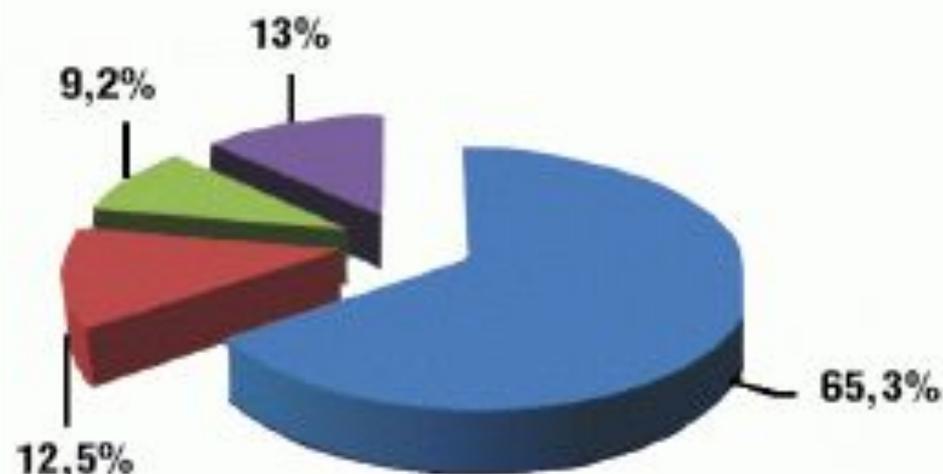


Блокада персиниями фагоцитарной активности макрофагов

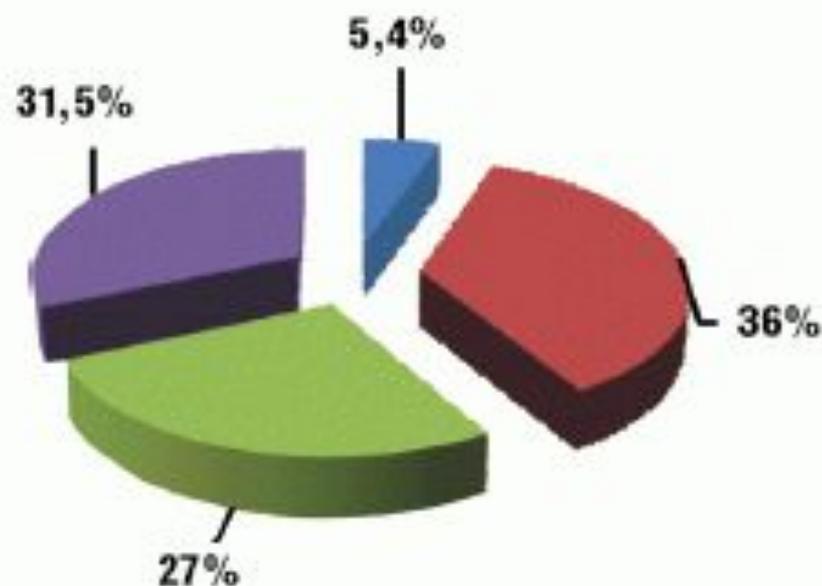


Активация программы апоптоза в макрофагах,

а) Генерализованная форма



б) Вторично-очаговая форма



- Циклическое течение
- Рецидивирующее течение
- Затяжное течение
- Хроническое течение

Рис. 1. Варианты течения генерализованной и вторично-очаговой формы нерсиниоза и псевдотуберкулеза

Период ремиссии. Наступает после исчезновения сыпи и нормализации температуры

Постинфекционный иммунитет стойкий.

Возбудитель кишечного иерсиниоза

Y. enterocolitica



Серовар

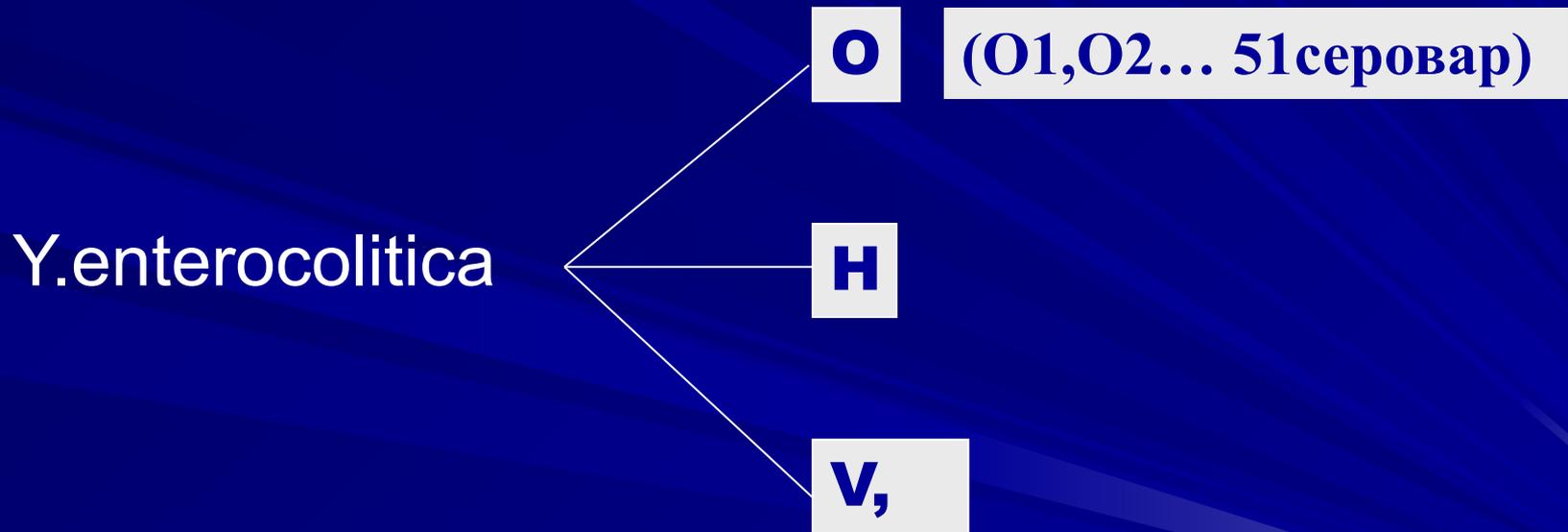
Основной природный резервуар

03	Человек, свиньи, коровы, обезьяны, обыкновенные полёвки, овощи, молоко, мясо
02а, 02б	Зайцы, шиншиллы, человек
01, 04а	Шиншиллы
05,27	Шиншиллы, человек, собаки, овощи, мясо
011,012	Различные животные, человек, вода, почва, овощи, объекты окружающей среды
09	Человек, свиньи, крупный рогатый скот, серая крыса, обыкновенные полёвки, овощи, молоко, мясо
08	Человек, обыкновенная полёвка, объекты окружающей среды
05.27; 06.30; 07;010; 013; 014;015;018; 019;020; 021; 022; 04б	Различные животные, вода, почва
06	Человек, различные животные, вода
016,023,024,025, 026	Человек, вода, почва
017	Человек, рыбы, моллюски, грызуны, вода, почва, молоко, мясо

Y.enterocolitica

- имеют жгутиковый H-антиген, соматический O-антиген и антигены вирулентности V и W.
- Наибольшее практическое значение имеет O-антиген, по которому Y.enterocolitica подразделяют на 51 серовар. От человека выделяются штаммы сероваров O3; O5; O8; O9.

Антигенные свойства



Культуральные свойства *Y.enterocolitica*

- на среде Эндо (22 °С, 48 часов) Мелкие, круглые, выпуклые, розовые, блестящие колонии с ровными краями;
- на среде с бромтимоловым синим (СБТС) (37 °С, 48 ч) крупные (2-4 мм), выпуклые, сухие колонии голубого цвета с матовой поверхностью;
- растет на среде Плоскирева.

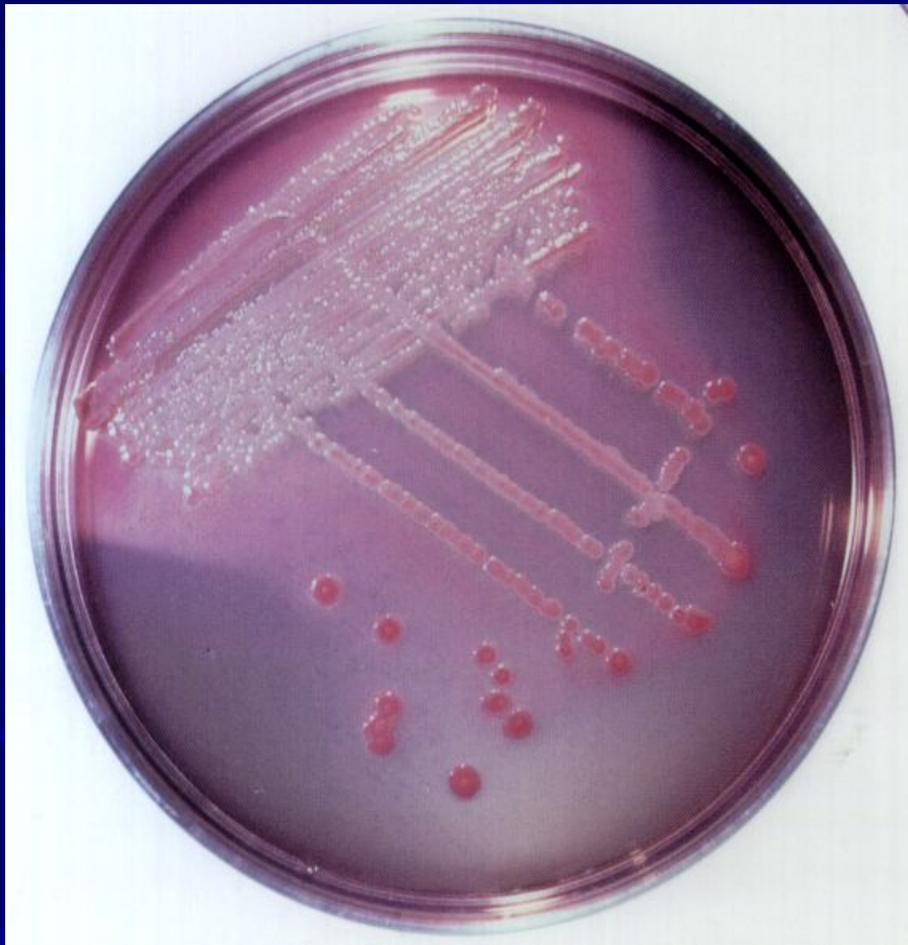
Культуральные свойства *Y. enterocolitica* на среде Серова (28-37 °С, 42-44 часа)

1. Колонии 0,5- 2,5 мм в форме неправильного многоугольника с сосочком в центре. Центр темно-красный, края светлые, опалесцирующие

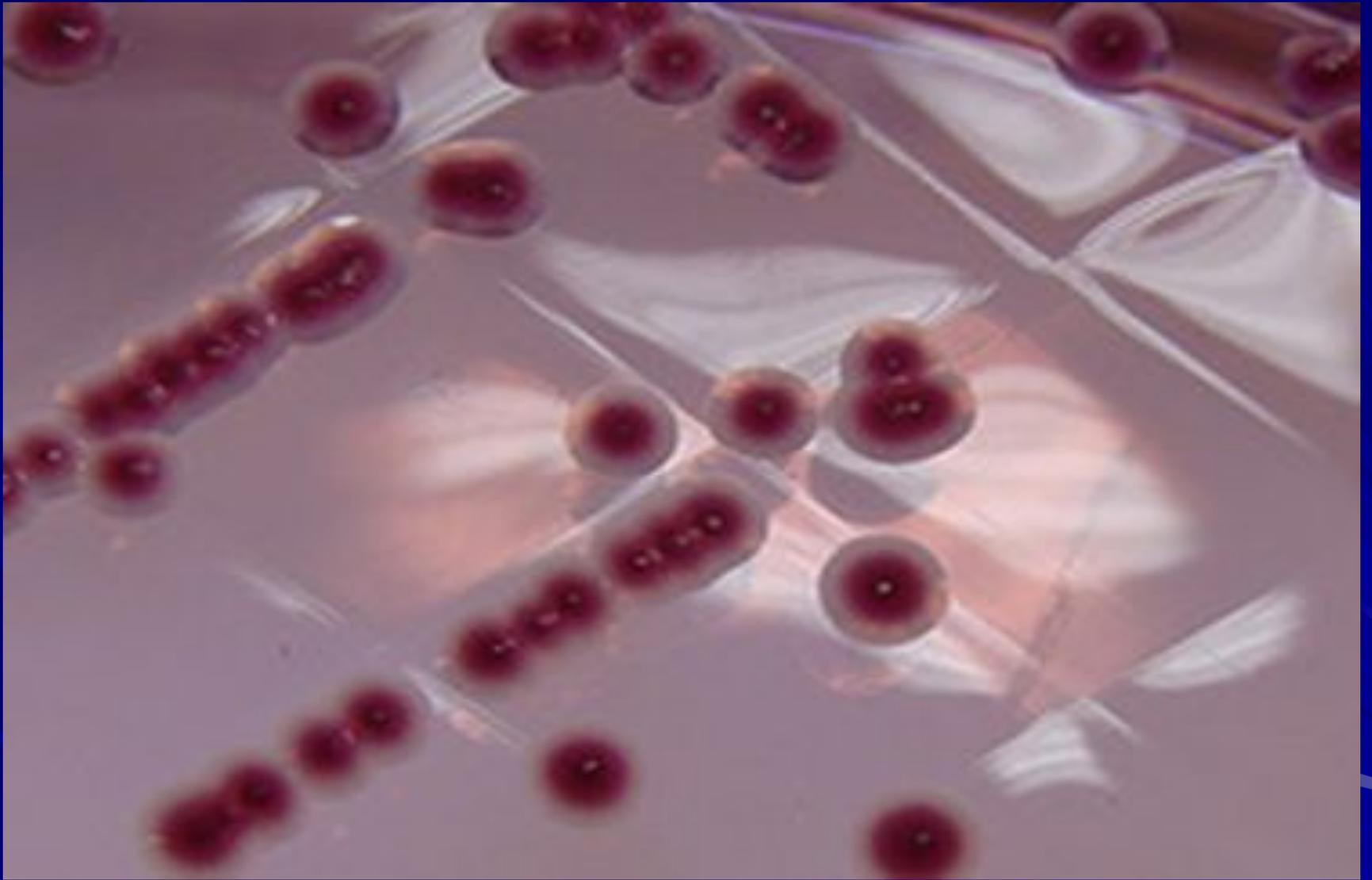
2. Колонии почти правильной круглой формы, диаметром 1,5-2 мм, выпуклые с более темным центром, влажные, блестящие, легко снимаемые петлей.

- Современные питательные среды позволяют сократить время исследования в 3 раза, по сравнению с традиционными;
- Повысить эффективность обнаружения возбудителей
(пептонно-калиевая среда накопления, буферно-казеиново-дрожжевая среда и др.)

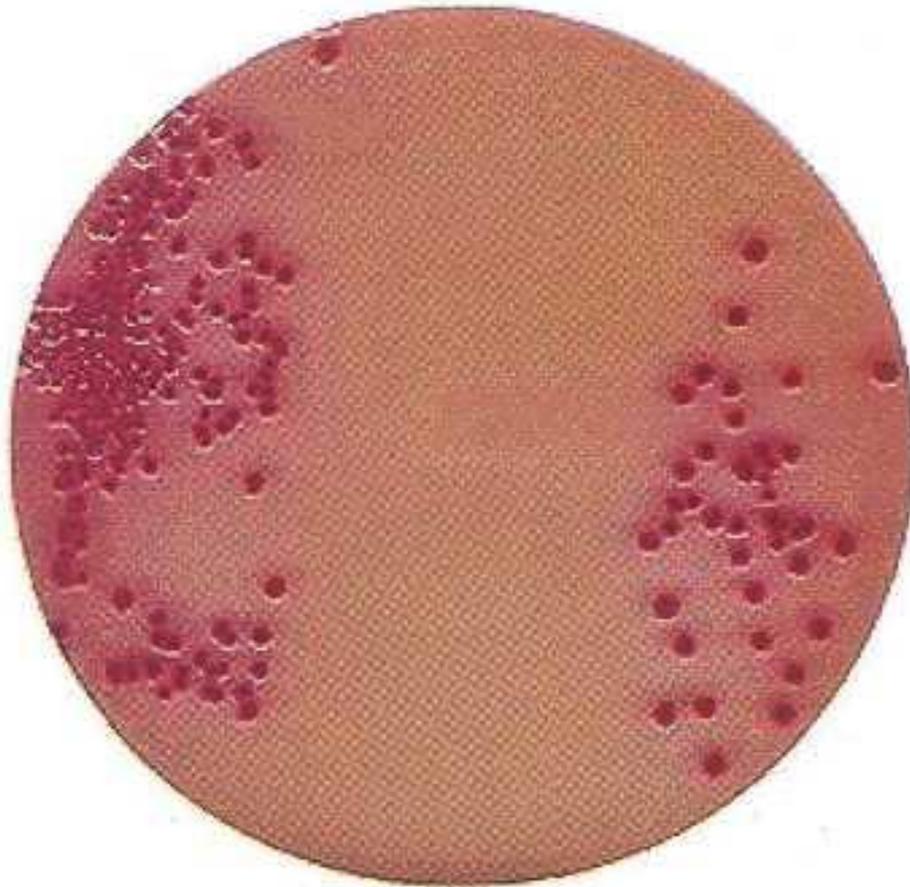
Селективная среда для *Yersinia enterocolitica* (OXOID)



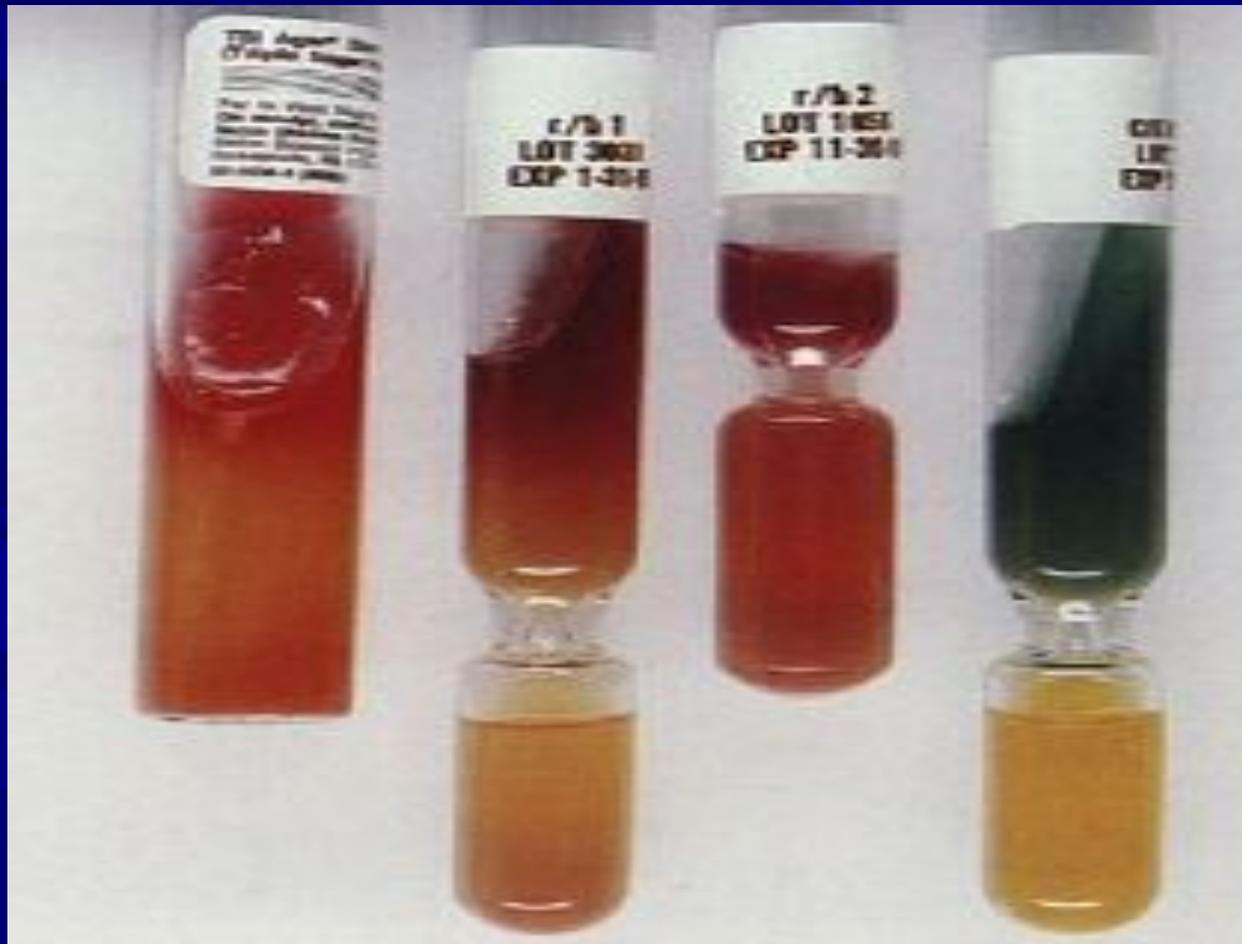
**Селективная
добавка:
цефазолин,
иргазан,
новобиоцин**



Рост на хромогенной среде



Yersinia enterocolitica ATCC 35669



B-27 Characteristic reactions of *Yersinia enterocolitica*.

Факторы патогенности возбудителя кишечного иерсиниоза

установлены в 1939 г. Шляйфштайном и
Колмэном

Гетерогенен по вирулентным свойствам

- Адгезивность
- Инвазивность
- внутриклеточный паразитизм
- продукции эндотоксина (ЛПС) и термостабильного энтеротоксина сходного с ЭПКП.
- Ферменты патогенности: фосфатаза, протеинкиназа
- Антифагоцитарная активность капсулы
- Не обладает гемолитической активностью

Патогенные свойства определяются как
хромосомными, так и плазмидными
факторами

Патогенез кишечного иерсиниоза

- Источником инфекции могут служить сельскохозяйственные животные (свиньи, кошки, собаки, птицы, грызуны)
- Пути передачи: пищевой, водный, контактно-бытовой
(возможна передача от больных при тесном контакте), развитие внутрибольничных вспышек;

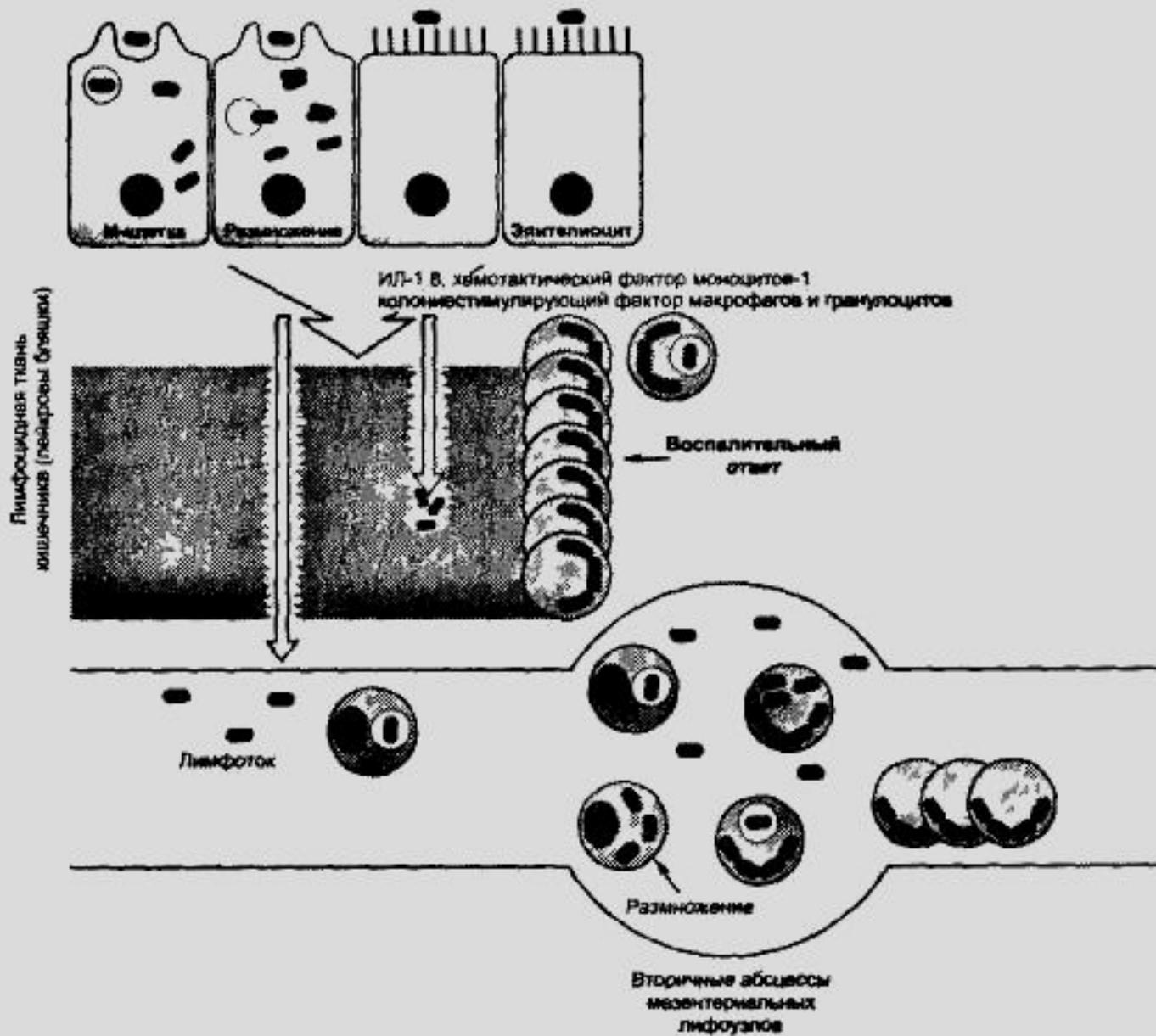
Чаще болеют дети до 5 лет.

- У 25% заболевание продолжается неделю
- У 50%- около 2-4 недель
- У 25%- несколько месяцев.

Часто развиваются затяжные
заболевания и аутоиммунные
спондилоартриты

Этиопатогенез

- Микробы проникают в слизистую оболочку тонкой кишки
- Размножаются в пейеровых бляшках
- Мигрируют в брызжеечные лимфоузлы
- Возможно развитие бактериемии



Типы взаимодействия с клетками хозяина

- Слабо адгезивные и неинвазивные;
- Умеренно адгезивные и слабо инвазивные;
- Умеренно и высоко адгезивные и инвазивные иерсинии.

Методы идентификации вирулентных *Y.enterocolitica*

- **Биологические методы**
 - Пероральное и в лапку, заражение мышей и морских свинок (энтеротоксин)
 - Культура клеток (адгезивность, инвазивность)
- **Генетические методы (ПЦР)**
- **Фенотипические методы**
 - ПИР-тест, расщепление эскулина, салицина
 - Аутоагглютинация, Са зависимость роста при 37 °С
 - Связывание красителей
- **Иммунологические методы (РНГА, Ко-Аг, ИФА)**



**В случаях кишечного иерсиниоза
ВОЗМОЖНО ПОЯВЛЕНИЕ СЫПИ**

Y. enterocolitica

Умеренный психрофил.

Вирулентность повышается в присутствии ионов Fe.

Иммунитет при иерсиниозах

- **как гуморальный, так и клеточный**

Дисбаланс продукции цитокинов в сторону увеличения провоспалительных (ИЛ-1, ФНО-альфа) замедляет процесс клеточной кооперации при развитии иммунного ответа и как следствие - задержка гуморального иммунитета.

Титр АТ нарастает ко второй и третьей неделе.

Повреждение бактериями нейтрофилов ведет к незавершенности фагоцитоза.

Иммунитет формируется медленно, типоспецифический сохраняется около года, возможны повторные заболевания.

- После перенесенного заболевания Ig A исчезают через 5 месяцев, Ig M- через 6-8 месяцев, IgG- до 2-х лет.

Стойкое увеличение Ig A совместно с IgG указывает на затяжной характер заболевания.

Лабораторная диагностика

Материал от больного (слизь из зева, кровь, моча, испражнения и др.) исследуется сразу на оба возбудителя.

Основные методы: бактериологический и серологический

Дополнительные:
биологический,
аллергологический



Материал для бактериологического исследования,	способы его взятия и обработки
Материал	Количество, необходимое для посева, сроки взятия Способ взятия и обработки
Фекалии	Материал от больных 0,5-1 г В первые 6 дней болезни и в период обострения Тампоном или ректальным зондом
Смыв с зева	В первые 3 дня болезни Тампоном с задней стенки глотки, корня языка
Моча	Так же, как испражнения Первая утренняя порция. После отстаивания используют осадок
мокрота	0,5-1 мл (по показаниям) Обычный
спинномозговая жидкость	0,5 мл (по показаниям) Обычный
кровь	В первые три дня Из пальца или вены. Сгусток измельчить
Желчь	1-2 мл (по показаниям) Обычная
мезентериальные лимфоузлы	Операционный материал 1-1,5 г
участки кишечника	1-2 г

Метод Петерсона и Кука (1963 г.)

- Холодовая методика значительно повышает эффективность бактериологического исследования.

Подращивание в условиях холодильника
(до 15 дней);

- Методика «холодового удара» - материал помещают в морозильную камеру при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 2-3 часа, а затем проводят высеив на плотные питательные среды.

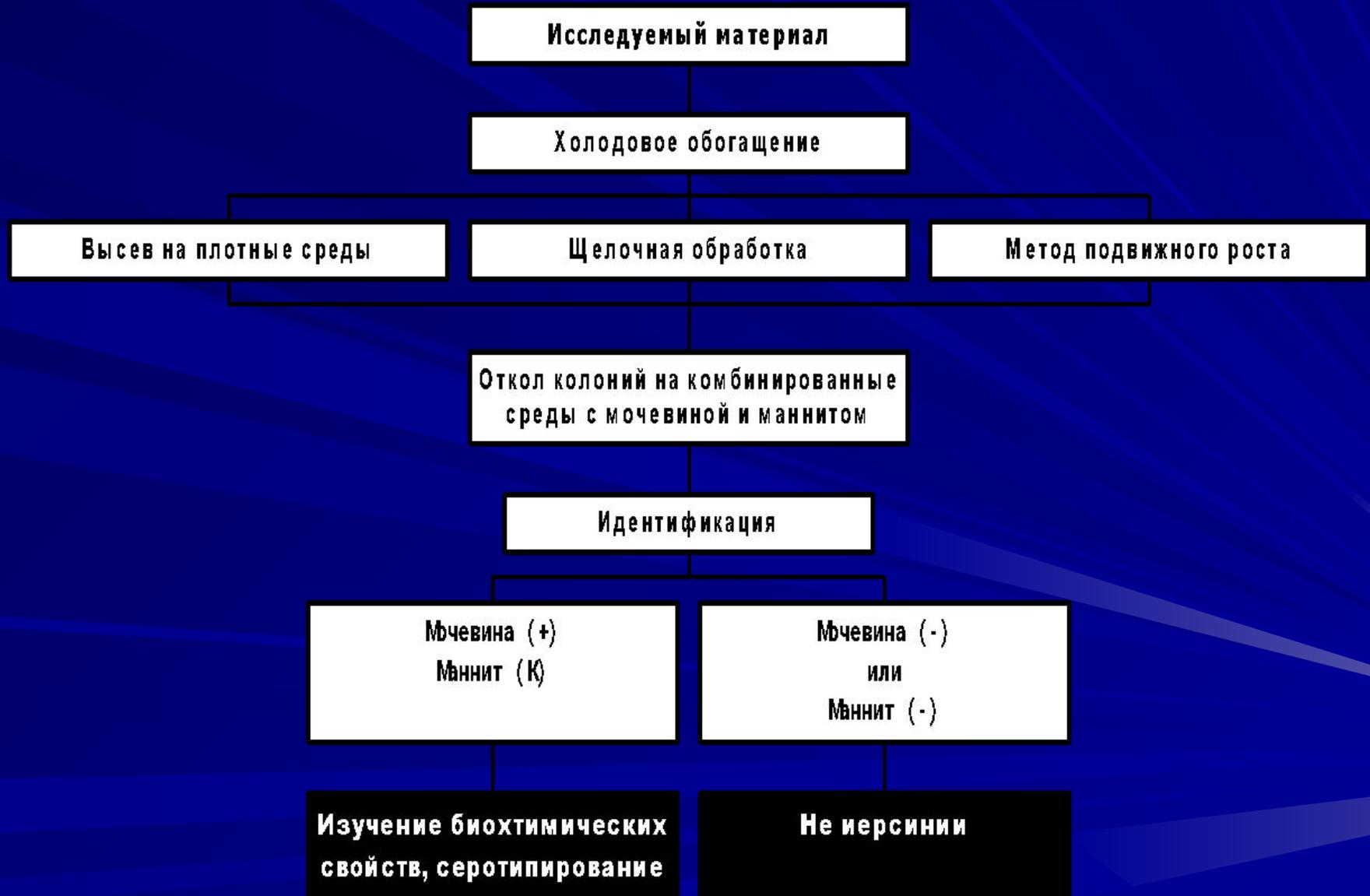
Соотношение материала и фосфатного буфера (среда обогащения) при посеве составляет 1:10.

Материал засевают в 2 пробирки. Одна инкубируется при температуре +29°C, другая - +4 °C.

- Щелочная обработка и подращивание в условиях холодильника подавляют постороннюю микрофлору.



Обнаружение иерсиний в исследуемом материале



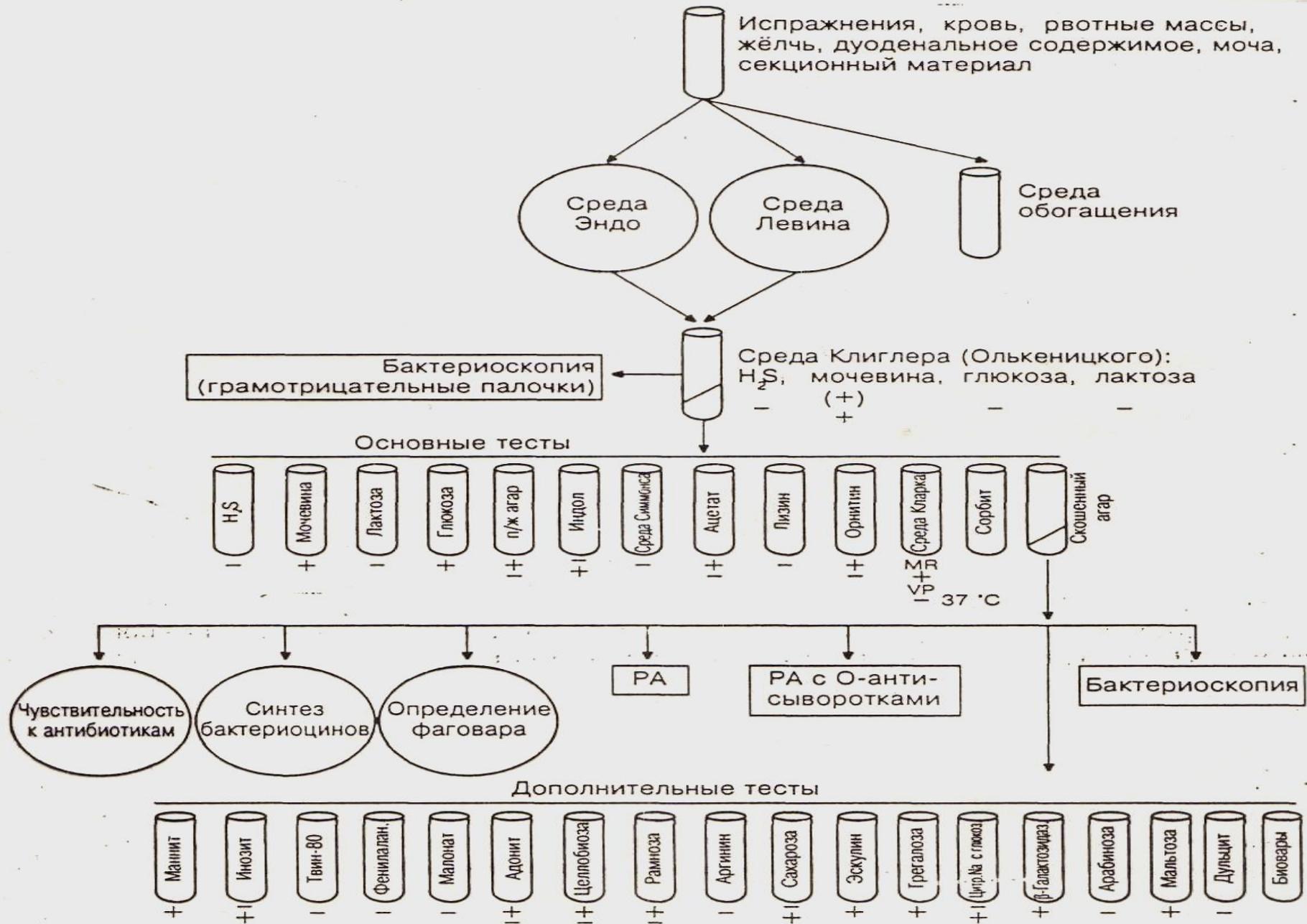


Рис. 12-10. Схема бактериологического выделения возбудителей иерсиниозов

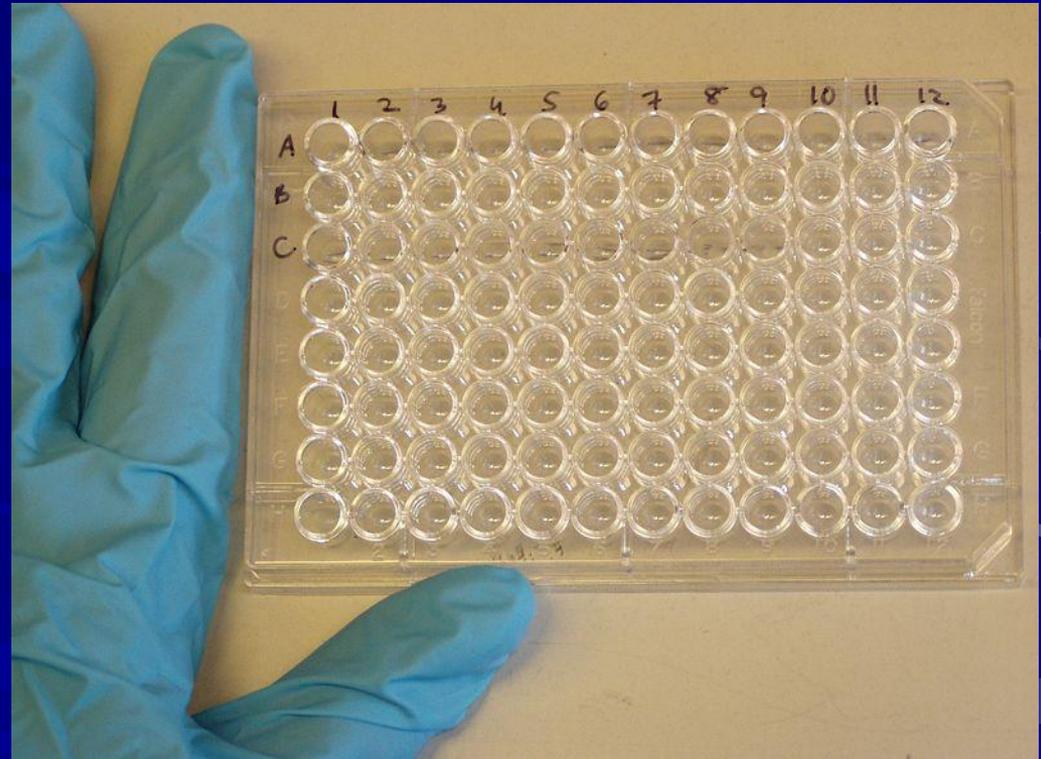
Серологическая диагностика

Проводится не ранее 14 дня от начала заболевания.

- Титр АТ определяют в РПГА (1:200) с парными сыворотками;
- Реакция бактериолиза.
- Для выявления АГ в объектах применяют – РТНГА

Экспресс-диагностика

- Ко-агглютинация;
- латекс-агглютинация
- РИФ;
- ИФА;
- ПЦР



Вспомогательный метод

Постановка кожной пробы с аллергеном-псевдотуберкулином (И.Рольщиков и др., 1999 г.)

- Специфической профилактики нет
- Неспецифическая профилактика включает соблюдение общесанитарных гигиенических правил

Лечение

- Этиотропное (аминогликозиды, триметоприм, невигаграмон, рифампицин, фторхинолоны)
- Иммуномодулирующая-рекомбинантный IL-2 (ронколейкин).
Снижает длительность интоксикации, оказывает противорецидивный эффект

Антибиотики

Вид иерсиний

	Y. Pseudo-tuberculosis	Y. enterocolitica
Сумамед (азитромицин)	Устойчивы	Умеренно устойчивы
Карбенициллин	Чувствительны	Устойчивы
Нитроксолин	Умеренно устойчивы	Чувствительны
Ампициллин	Чувствительны	Устойчивы
Кефазолин	Чувствительны	Устойчивы
Цефалексин	Чувствительны	Умеренно устойчивы } }
Бензилпенициллин	Чувствительны	Устойчивы

Благодарим за внимание!