

Иерсиниоз



ИЕРСИНИОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ИЕРСИНИОЗЫ

- инфекционные заболевания, вызываемые бактериями рода *Yersinia*:
 - псевдотуберкулез (*Y. pseudotuberculosis*)
 - кишечный иерсиниоз (патогенные *Y. enterocolitica*),
характеризующееся интоксикацией, поражением желудочно-кишечного тракта, а при смешанных и генерализованных формах – полиорганными поражениями.



ИСТОРИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Алекса́ндр Эмиль Жан Йерсе́н (1863-1943)

- В 1894 году открыл возбудителя чумы, названный его именем, *Yersinia pestis*



ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА

- ▣ ***Y. pseudotuberculosis*** выделена в 1883 г. французскими исследователями L. Malasses и W. Vignal из органов морской свинки, зараженной трупным материалом от пациента, погибшего от «туберкулезного» менингита.
- ▣ Карл Эберт (1886 г.), выделив культуру и изучив ее на лабораторных животных как спонтанно болеющих, так и зараженных в эксперименте, отметил сходство патологоанатомических изменений внутренних органов погибших животных с таковыми при туберкулезной инфекции и назвал изучаемый микроорганизм «псевдотуберкулезным».
- ▣ Более полувека заболевание считалось чрезвычайно редким и смертельным. По сведениям В. М. Туманского (1958), до 40-х годов прошлого века в различных странах мира описано только 30 случаев псевдотуберкулеза.
- ▣ W. Masshoff (1953 г.) выделил из обширной группы нетуберкулезных лимфаденитов особую форму доброкачественного ретикулоцитарного мезаденита, а через год W. Кнарр установил его псевдотуберкулезную этиологию. С этого времени псевдотуберкулез стали широко диагностировать и углубленно изучать в основном у больных с патологией органов брюшной полости; часто возбудителя находили при аппендицитах у детей.

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА

- В 1939 г. в США Schlifstein J., Coleman N. (Шлифштейн и Колмен) выделили новый микроорганизм из клинического материала. Биологические свойства этого микроба были близки свойствам *Y. pseudotuberculosis*.
- С 1962 года после регистрации эпизоотий, вызванных этим микроорганизмом среди шиншилл, бактерии были изучены, идентифицированы и по предложению W. Frederiksen (1964 г.) названы *Y. enterocolitica*.
- В 1962 - 63 гг. случаи заболевания, обусловленные *Yersinia enterocolitica*, были описаны в ряде стран Европы, Африки, Японии и др.
- Название принято Международным подкомитетом по таксономии в 1967г.
- В России *Y. enterocolitica* впервые была выделена М.А. Беловой, Г.В. Ющенко из аппендикулярного отростка больного (1968).
- В 1972 г. три известных к тому времени вида иерсиний - *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* - вошли в состав рода *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae* постановлением Международного комитета по номенклатуре бактерий.

-
- С 1988 г. иерсиниозы включены в список инфекций, подлежащих обязательной регистрации в системе здравоохранения.
 - С 1992 г. введена отдельная регистрация псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза как двух самостоятельных нозологических форм, имеющих клинические и эпидемиологические отличия.

ТАКСОНОМИЯ

Группа 5 – факультативно-анаэробные
грамотрицательные палочки

- Подгруппа 1 – семейство *Enterobacteriaceae*
- Род - *Yersinia*
- 18 видов

РОД *YERSINIA*

1. *Y. pestis*
2. *Y. pseudotuberculosis*
3. *Y. enterocolitica*
4. *Y. ruckeri*
5. *Y. intermedia*
6. *Y. frederiksenii*
7. *Y. kristensenii*
8. *Y. aldovae*
9. *Y. rohdei*
10. *Y. mollaretii*
11. *Y. bercovieri*
12. *Y. aleksiciae*
13. *Y. massiliensis*
14. *Y. similis*
15. *Y. nurmii*
16. *Y. pekkanenii*
17. *Y. entomophaga*
18. *Y. wautersii*

Yersin

Malasses et Vignal

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЕРСИНИЙ

Y. enterocolitica, *Y. pseudotuberculosis* и другие виды иерсиний это

- грамотрицательные,
- не образующие спор,
- палочковидные (кокки или овоиды) бактерии с закругленными концами,
- обладают перитрихиальными жгутиками.

При выращивании *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в течение 48ч при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в культурах выявляют бактерии без жгутиков, что связывают с потерей подвижности. Оптимальная t 28-30 $^\circ\text{C}$ (могут размножаться при t 4-10 $^\circ\text{C}$, но накопление в этих условиях идет медленнее).

Морфология иерсиний зависит от условий культивирования и состояния культуры. В мазках из бульонных культур

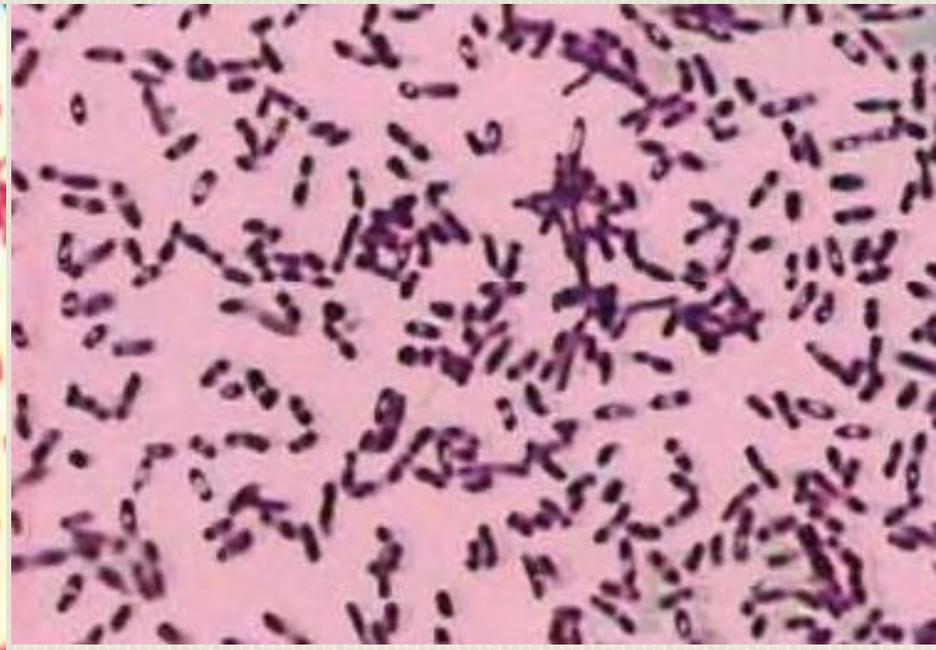
Y. pseudotuberculosis могут располагаться цепочками по 2-5 клеток,

Y. enterocolitica цепочек не образуют.

Y. enterocolitica



Y.
pseudotuberculosis



НЕПАТОГЕННЫЕ ИЛИ ВЫЗЫВАЮЩИЕ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ ВИДЫ *YERSINIA* :

- *Y. intermedia* - название дано в связи с промежуточным положением между *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в соответствии с биохимическими характеристиками.
- *Y. frederiksenii* - назван в честь датского микробиолога W. Frederiksen, внесшего большой вклад в изучение рода *Yersinia*.
- *Y. kristensenii* - назван в честь датского микробиолога M. Kristensen, первым выделившим микроорганизм.
- *Y. ruckeri* - возбудитель болезни «красного рта» рыб, был выявлен R.R. Rucker.

Y. pseudotuberculosis	Y. enterocolitica
<p data-bbox="446 411 678 458">21 серотип</p> <p data-bbox="152 468 967 561"><i>Наибольшее значение в патологии человека имеют серотипы:</i></p> <p data-bbox="394 629 730 676">O:1a, O:1b, O:1c</p> <p data-bbox="523 686 600 733">O:3</p> <p data-bbox="452 743 672 791">O:4a, O:4b</p> <p data-bbox="452 801 672 848">O:5a, O:5b</p>	<p data-bbox="1296 411 1528 458">31 серотип</p> <p data-bbox="1006 468 1818 561"><i>Наибольшее значение в патологии человека имеют серотипы:</i></p> <p data-bbox="1373 572 1450 619">O:3</p> <p data-bbox="1373 629 1450 676">O:4</p> <p data-bbox="1373 686 1450 733">O:5</p> <p data-bbox="1373 743 1450 791">O:8</p> <p data-bbox="1373 801 1450 848">O:9</p> <p data-bbox="1360 858 1464 905">O:13</p> <p data-bbox="1360 915 1464 962">O:18</p> <p data-bbox="1360 972 1464 1019">O:20</p> <p data-bbox="1360 1029 1464 1076">O:21</p>

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

- Вид *Y. pseudotuberculosis* однороден
- *Y. Enterocolitica* подразделяется на 6 биотипов: 1А, 1В, 2-5
1А – непатогенный
- Выделение штаммов *Y. enterocolitica* 1А от больных, при отсутствии других возбудителей вирусной и/или бактериальной природы, а также при отсутствии соматической патологии, позволяет сделать предположение об их потенциальной роли как этиологических агентов. Это следует учитывать, особенно при обследовании больных с диагнозом «острая кишечная инфекция неустановленной этиологии» для проведения исследования на кишечный иерсиниоз.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

Название	Локализация	Вид <i>Yersinia</i>
Гены плазмиды вирулентности иерсиний pYV 46 МДа	плазмида	<i>Y. pestis</i> (pCD1) <i>Y. pseudotuberculosis</i> <i>Y. enterocolitica</i>
Гены «Острова высокой патогенности» HPI	хромосома	<i>Y. pestis</i> (pCD1) <i>Y. pseudotuberculosis</i> <i>Y. enterocolitica</i> 1B
Гены суперантигена YPM	хромосома	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
Гены «Адгезивного острова патогенности» YAPI	хромосома	<i>Y. pseudotuberculosis</i> <i>Y. enterocolitica</i> 1B
Ген адгезии/инвазии <i>ail</i>	хромосома	<i>Y. enterocolitica</i> 1B, 2, 3, 4, 5
Гены энтеротоксинов YstA YstB	хромосома	<i>Y. enterocolitica</i> 1B, 2, 3, 4, 5 <i>Y. enterocolitica</i> 1A
Гены плазмиды pVM82	плазмида	<i>Y. pseudotuberculosis</i> 1 серотип

Y. pseudotuberculosis

- Чаще болеют дети 3-6 лет **организованные** , употребляя салаты из свежих овощей, овощи, фрукты.
- Хорошо накапливается: в капусте, моркови, репчатый лук, яблоки, бананы, хлебобулочные изделия, мясные продукты.
- Подъем заболеваемости начинается в зимние месяцы (январь-февраль) -> пик март-апрель -> заканчивается июнь-июль

Y. enterocolitica

- Чаще болеют дети 3-6 лет **неорганизованные** , при введении в рацион мяса и мясных продуктов.
- Резервуар – грызуны
- Источники инфекции: мясо свиней, молоко, овощи.
- Регистрируется в течение всего года, пик март-апрель, повторный подъем октябрь-ноябрь



ДОСТАТОЧНО ДОЛГО ИЕРСИНИИ ВЫЖИВАЮТ НА РАЗЛИЧНЫХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ:

- В молоке сохраняются до 18 суток
- В сливочном масле- до 145 суток
- На хлебе, кондитерских изделиях – до 24 суток
- В мороженом – от 90 дней до 8 месяцев



В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ:

- В почве могут сохраняться более 4 мес
- В открытых водоемах – до 1 мес
- В кипяченной воде – до 1 года

- В испражнениях при $t\ 22\pm 2^{\circ}\text{C}$ выживают до 7 суток, в замороженных фекалиях - до 3-х мес

- При $t\ 100^{\circ}\text{C}$ погибают в течение 1-2 минут.



- Механизм передачи возбудителя: фекально-оральный.

- Реализуется **пищевым путем** при *прямом* (с сырыми и термически плохо обработанными пищевыми продуктами) или *опосредованном* (через оборудование, инвентарь или посуду) попаданием возбудителя в готовую пищу;
- **Вторичным накоплением** возбудителя в готовых блюдах (при увеличении сроков хранения);
- **Редко-контактно-бытовой путь** (при уходе за больными с/х, домашними животными, при разделке мяса);
- **Водный путь** передачи инфекции.

ПАТОГЕНЕЗ

Заражение



Адгезия, колонизация, инвазия в
слизистую оболочку



Размножение в эпителиоцитах



Эрозия на слизистой
оболочке



Брыжеечные лимфоузлы



Лимфаденит



Персистирование



Диссеминация в различные органы



Вторичные очаговые изменения

КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ИЕРСИНИОЗА

- гастроинтестинальная (гастроэнтерит, энтероколит, гастроэнтероколит) – 55-75%;
- абдоминальная (мезаденит, терминальный илеит, острый аппендицит) – 3,5-10%;
- генерализованная (смешанная, септическая) – 15-20% и 2-6%, соответственно;
- вторично-очаговая (артрит, хронический энтероколит, офтальмит, остеит, конъюнктивит, синдром Рейтера, узловатая эритема).

КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА

- катаральная;
- гастроинтестинальная (гастрит, гастроэнтерит);
- абдоминальная (мезаденит, терминальный илеит, острый аппендицит);
- генерализованная (скарлатиноподобный, смешанный, септический);
- вторично-очаговая (артрит, сакроилеит, узловатая эритема, миокардит, гепатит, менингит, синдром Рейтера, иридоциклит, увеит).

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

- Острое (1 месяц)
- Затяжное (до 3-х месяцев)
- Хроническое (свыше 3-х месяцев)

ЛЕЧЕНИЕ ИЕРСИНИОЗОВ

Острое течение:

- этиотропная терапия.

(левомицетин,
сумамед, гентамицин в/м,
амикацин в/м, цефатоксим
в/м, линдоцин в/м, бисептол,
энтерофурил,) в сочетании с
пробиотическими
препаратами (энтерол,
линекс, бифиформ,
ламинолакт).

Общий курс
антибактериальной терапии
– 10-14 дней.



□ СП 3.1.7.2615-10 «Профилактика иерсиниоза»

□ МР N° 11-3/8-09 от 11.05.2004

«ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗ И ИЕРСИНИОЗ

(эпидемиология, клиника, диагностика, терапия)»

□ **МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях»**

Дата введения: 18.06.2012

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ МУК 4.2.3019-12

Организация и проведение лабораторных исследований
на туберкулез на территориальном,
региональном и
федеральном уровнях

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ (ПО МУК 4.2.3019-12)

Настоящие методические указания (далее - МУ) определяют организацию и порядок проведения исследований на туберкулез в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней.

5.1.3.1. ПРАВИЛА ОТБОРА И

ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ ПРОБ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

(ПО МУК 4.2.3019-12)

- Материал от больного (подозрительного на заболевание) отбирает медицинский персонал немедленно при выявлении больного (подозрительного на заболевание) до начала лечения антибиотиками.
- При совместном использовании бактериологического и ПЦР методов отбор материала осуществляется в одноразовую посуду.

5.1.3.1. ПРАВИЛА ОТБОРА И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ ПРОБ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

(ПО МУК 4.2.3019-12)

Правила отбора материала от больных (подозрительных на заболевание):

- **испражнения*** берут на протяжении всего периода заболевания в количестве 0,5 - 1,0 г стерильной ложечкой из судна и помещают в стерильный широкогорлый флакон с 5,0 - 10,0 мл среды накопления;

* Высеваемость иерсиний наиболее высока в первые 3 - 5 дней болезни и до назначения антибиотиков, результаты бактериологического исследования улучшаются, если взятие материала производится 3-кратно в течение первой недели болезни (госпитализации).

-
- **мочу** исследуют в первые 7 дней болезни, берут 20 - 30 мл средней порции утренней мочи в стерильную посуду. Осадок после центрифугирования помещают в 5,0 мл среды накопления;
 - **смыв из зева** берут в первые 3 дня болезни натошак с задней стенки глотки и корня языка тампоном, смоченном в физиологическом растворе и помещают в 5,0 мл среды накопления;
 - **кровь** исследуют в течение болезни на высоте лихорадки, весь лихорадочный период и в период рецидива болезни. Кровь забирают натошак в количестве 5 - 10 мл из локтевой вены с соблюдением правил асептики, выдерживают при комнатной температуре в наклонном положении (под углом 30 - 45°) до образования сгустка (30 - 40 мин), после чего сгусток отделяют от стенки, сыворотку переносят в пробирку для серологических реакций, а сгусток помещают в 5,0 мл среды накопления.

Правила отбора операционного или секционного материала:

- **Аппендикулярный отросток.** Стерильно ножницами измельчают 1,0 - 2,0 г пробы и помещают в 5,0 - 10,0 мл среды накопления.
- **Мезентериальные лимфоузлы, другие органы и ткани.** Стерильно ножницами измельчают 1,0 - 2,0 г пробы и помещают в 5,0 - 10,0 мл среды накопления.
- **Желчь.** В 5,0 мл среды накопления помещают 0,5 - 1,0 мл.
- **Содержимое кишечника.** В 5,0 мл среды накопления помещают 0,5 - 1,0 мл.
- **Сгусток крови.** Стерильно измельчают 0,5 - 1,0 мл пробы и помещают в 5,0 мл среды накопления.

-
- Пробы этикетировывают, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией, заполняют бланк направления и помещают в контейнер для транспортирования биологического материала на исследование.
 - Транспортирование материала в лабораторию осуществляется при температуре $(4 - 12) ^\circ\text{C}$ в течение двух часов после взятия.

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ (ПО МУК 4.2.3019-12)

ПРЯМЫЕ МЕТОДЫ

- Бактериологический
- ПЦР (молекулярно-генетический) - (фекалии, ткани аппендиксов)

НЕПРЯМЫЕ МЕТОДЫ

- РНГА для выявления антител к *Y. pseudotuberculosis* O:1

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

«+» выделение культуры из организма больного является достоверным подтверждением диагноза

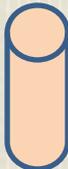
«-» одним из патогенных свойств возбудителя псевдотуберкулеза и большинства патогенных *Y. enterocolitica* является инвазивность, поэтому применение бактериологического метода недостаточно эффективно после 5-7-го дня от начала заболевания

«-» низкая частота выделения возбудителя
(низкая концентрация иерсиний по сравнению с сопутствующей микрофлорой)

«-» ретроспективность получения результата (на 7-10 день)

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Исследуемый материал



«Холодовое обогащение»
(ФСБ, пептонно-калиевая
среда) при t (6 ± 2) $^{\circ}\text{C}$



Щелочная обработка

2-3 сут. 5-7 сут. 10 сут.



СБТС при t
(26 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 48 ч



Биохимическая идентификация



Серологическая идентификация

Идентификация вирулентных иерсиний

Среда СБТС



Yersinia enterocolitica



Yersinia pseudotuberculosis

Рост на среде СБТС

Y. pseudotuberculosis -

зелено-синие колонии с фестончатыми краями, выпуклые с приподнятым центром и сухой матовой поверхностью

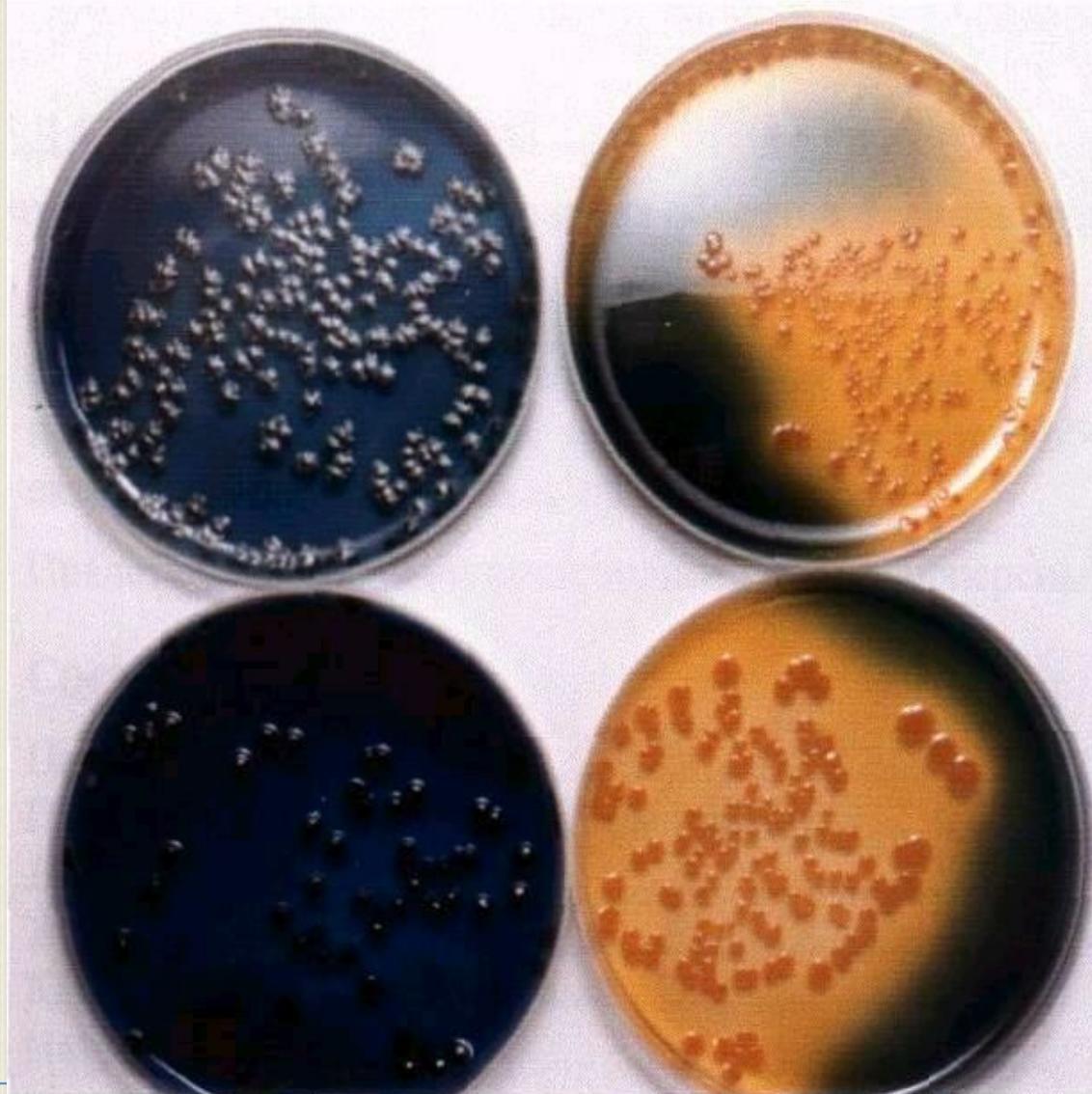
Sh. flexneri -

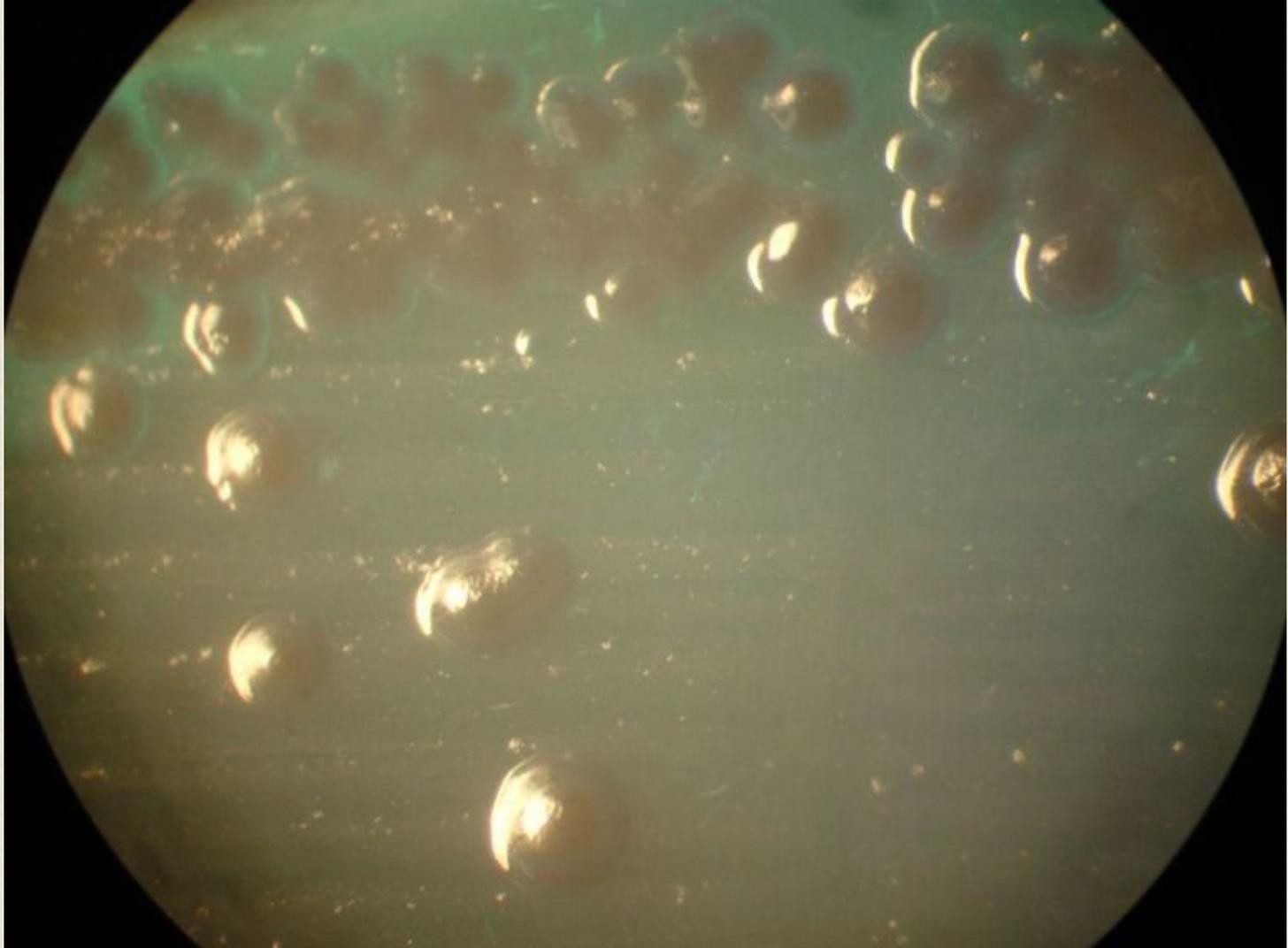
желтые, мелкие, сочные, плоские колонии

Y. enterocolitica -

зелено-синие менее сухие колонии, круглые, выпуклые с приподнятым центром, с матовым налетом

E. coli - желтые, крупные, сочные, выпуклые колонии





ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛОНИЙ ИЕРСИНИЙ НА ПЛОТНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Вид	Среда Хоттингера		Среда Эпто		СБТС		Среда Олькеницкого		Примечание
	24 часа	48 часов	24 часа	48 часов	24 часа	48 часов	Столбик	Скошенная часть	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Колонии диаметром 0,1-0,2 мм, голубовато-белые 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 (росинчатые) круглые, выпуклые, блестящие, бесцветные	Колонии диаметром 0,1-0,2 мм, крупные, выпуклые, блестящие с ровными краями, бесцветные	Колонии мелкие круглые, могут иметь слегка желтоватую окраску	Колонии диаметром 1 – 2 мм, голубовато-зеленоватые, с фестончатыми краями, выпуклые с приподнятым центром и сухой матовой поверхностью на синем фоне среды	Малиновый		На СБТС через 48 ч колонии <i>E. coli</i> – ярко-желтые, диаметром 2-3 мм, сочные, выпуклые; <i>Sh. flexneri</i> – желтые, диаметром 1-2 мм сочные, плоские
<i>Yersinia enterocolitica</i>	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	Такие же	Такие же, но с розоватым оттенком		Колонии диаметром 2 – 4 мм, голубовато-зеленоватые выпуклые, сухие, с матовым налетом	Малиновый, слегка желтоватый в самой нижней части	Малиновый	

Основные биохимические свойства бактерий рода *Yersinia* (26 ± 2) °C

Тест или субстрат	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>					<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. ruckeri</i>	<i>Y. aldovae</i>	<i>Y. rohdei</i>	<i>Y. mollaretti</i>	<i>Y. bercovieri</i>	<i>Y. aleksiciae</i>	<i>Y. similis</i>	
			Биотипы															
			I		II	III	IV											V
			IA	IB														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Гидролиз мочевины	-	+	+	+	+	+	+	+	[+]	[+]	[+]	-	[+]	B	[-]	B	+	+
Образование индола	-	-	+	+	B	-	-	-	+	+	B	-	-	-	-	-	+	-
Подвижность (22 ± 2) °C	(22 ± 2) °C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	+	+
	(37 ± 1) °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Реакция Фогса-Проскауэра	(26 ± 2) °C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	(37 ± 1) °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Фенилаланиндезаминаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Орнитиндекарбоксилаза	-	-	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	B	[-]	[+]	[+]	+	-
Лизиндекарбоксилаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-	-	+	-
Липаза (Твин-80)	-	-	+	+	-	-	-	-	B	B	B	B	-	-	-	-	-	-
Цитрат Симмонса	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Гидролиз эскулина	B	+	[+]	-	-	-	-	-	[+]	+	-	-	-	-	-	[-]	-	+

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Образование кислоты из:																		
D-ксилозы	+	+	+	+	+	+	-	B	+	+	[+]	-	B	B	B	+	+	+
мальтозы	[+]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	B	+	+	+
мелибиозы	[-]	B	-	-	-	-	-	-	-	[+]	-	-	-	B	-	-	-	-
L-рамнозы	-	B	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
рафинозы	-	[-]	-	-	-	-	-	-	B	B	-	-	-	B	-	-	-	-
салицина	B	[-]	+	-	-	-	-	-	+	+	[-]	-	-	-	[-]	[-]	-	-
сахарозы	-	-	+	+	+	+	+	B	+	+	-	-	[-]	+	+	+	-	-
D-сорбитола	B	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	B	B	+	+	+	+	-
трегалозы	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	[+]	+	+	+	+	+

«+» – положительная реакция у 90 % и более штаммов; «[+]» – положительная реакция у 76—89 % штаммов; «B» – положительная реакция у 26—75 % штаммов; «[-]» – положительная реакция у 11—25 % штаммов; «-» – отрицательная реакция у 90 % и более штаммов

БИОХИМИЧЕСКИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

- «ДС-ДИФ-ЭНТЕРО-24» (НПО
Диагностические Системы, Н. Новгород)
- «МТС-М-12Е» (НПО «Питательные среды»,
Махачкала)
- «ЭНТЕРОтест24» (и ее модификация
«Энтеротест24 Н») (ЭрбаЛахема, Чехия)
- **«API 20E» bioMérieux (Франция)**

«API 20E» BIOMÉRIEUX (ФРАНЦИЯ)

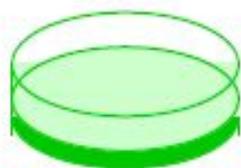


- **Стрип –пластиковая полоска с лунками (10, 20 или 50), в каждой из которых находятся лиофильно высушенные сахара.**

ПРИНЦИП

Суспензия

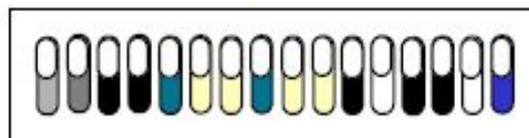
Колонии



(McF)



Инокуляция



Инкубация



РЕЗУЛЬТАТ



BIOMÉRIEUX
INDUSTRY

СЧИТЫВАНИЕ



(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	...
1	2	4	1	2	4	1	2	4	
3			6			0			

➤ Сложите суммы тестов со знаком «+» в каждой группе

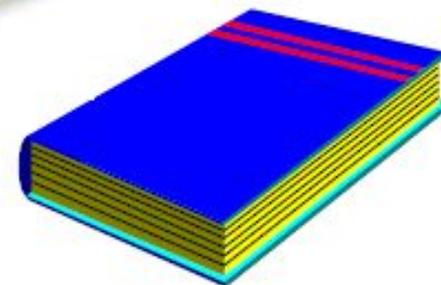
Вы получите числовой профиль из 7 цифр



ИНТЕРПРИТАЦИЯ ПРОФИЛЯ



➤ **APIWeb**



➤ **Аналитическая таблица профилей**



(не нужна для API Campy, Listeria,

вся информация в инструкции пользователя

Пример:

API Staph, 6736153 = *S. aureus*

ПРИНЦИП ПЦР -

многократное копирование (амплификация) специфического фрагмента гена вирулентности возбудителя с использованием фермента ДНК-полимеразы

Наборы «АмплиСенс *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis-FL*» с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» (производство ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора).

«+» высокая чувствительность

«+» высокая специфичность

«+» возможность подтверждения диагноза на ранней стадии заболевания

«+» быстрота получения результата, т.к. пробы исследуются в нативном виде

НЕПРЯМЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (СЕРОЛОГИЯ)

ДИНАМИКА АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ ИЕРСИНИОЗАМИ

- антитела появляются на 1-й неделе заболевания
- максимальный уровень на 3-4 неделях заболевания
- через 2 месяца количество антител снижается
- через 6 месяцев выявляются в минимальных концентрациях (1:50; 1:100)

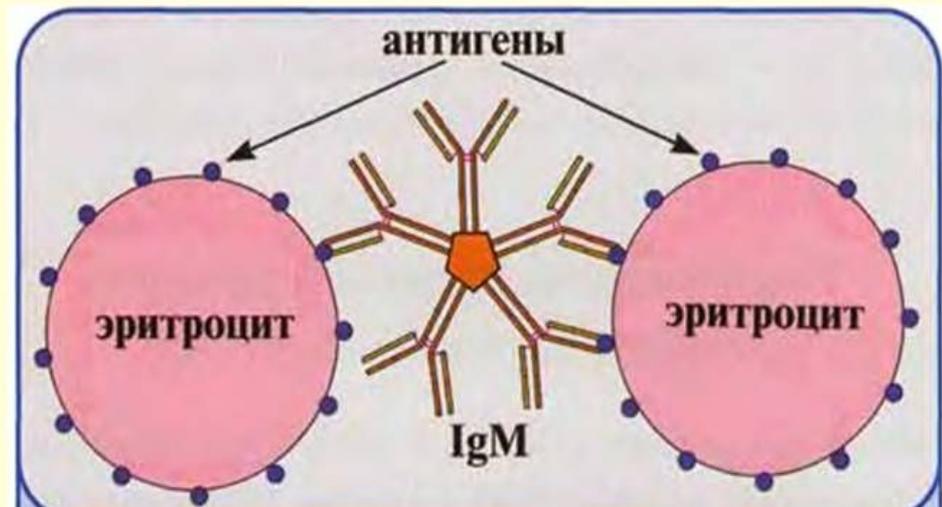
ОБЩИЕ ПРАВИЛА ПОСТАНОВКИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

- Кровь для исследований отбирается в чистую сухую пробирку
- Сыворотку можно хранить 7 дней при температуре 4 градуса
- При исследовании парных сывороток достоверным считается 2-4 кратное нарастание титра антител
- Диагностический титр в РНГА и РА 1:200 и 1:160 соответственно

РЕАКЦИЯ НЕПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

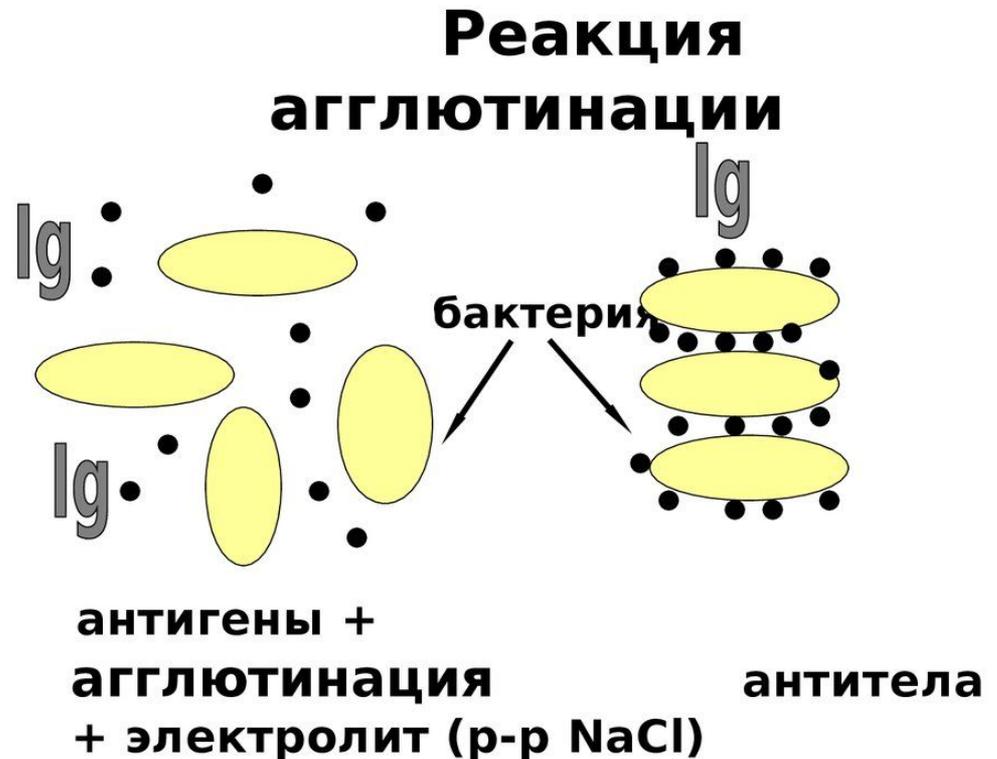
- Принцип реакции – на поверхности эритроцитов концентрируют антиген; при вступлении в контакт со специфическими антителами эритроциты склеиваются, образуя видимый осадок
- Диагностический титр 1:200
- «-» требуется регулярная проверка активности эритроцитарных диагностикумов
- «-» определяются суммарные антитела

Реакция непрямо́й гемагглютинации.



РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ

- Принцип реакции - корпускулярные антигены иерсиний склеиваются и выпадают в осадок под влиянием антител в среде с содержанием электролитов.
- Диагностический титр 1:160
- «+» спектр антител к иерсиниям разных серотипов шире, чем в РНГА
- «-» определяются суммарные антитела

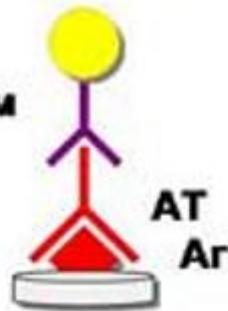


ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

- Принцип метода - основан на образовании комплекса антиген антитело, выявляемого с помощью второго антитела, меченного пероксидазой хрена (конъюгат).
- «+» выявляются АТ ко всем патогенным иерсиниям
- «+» выявляются классы антител: IgM, IgA, IgG
- «+» быстрая постановка реакции

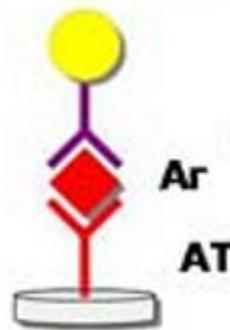
Иммуноферментный анализ (ИФА)

Антитела к АТ,
меченные ферментом



Выявление антител

Антитела к Аг,
меченные ферментом



Выявление антигена

ИММУНОБЛОТ (ПРИНЦИП МЕТОДА)

1. Электрофорез белков наружной мембраны персидий (антигены) перенос на нироцеллюлозную мембрану (НЦМ)



2. ИФА:

Инкубация тестовых стрипов НЦМ с сывороткой крови (антитела связываются с антигенами)



Инкубация НЦМ с ферментным конъюгатом (антитела к иммуноглобулинам человека, меченые ЦФ)

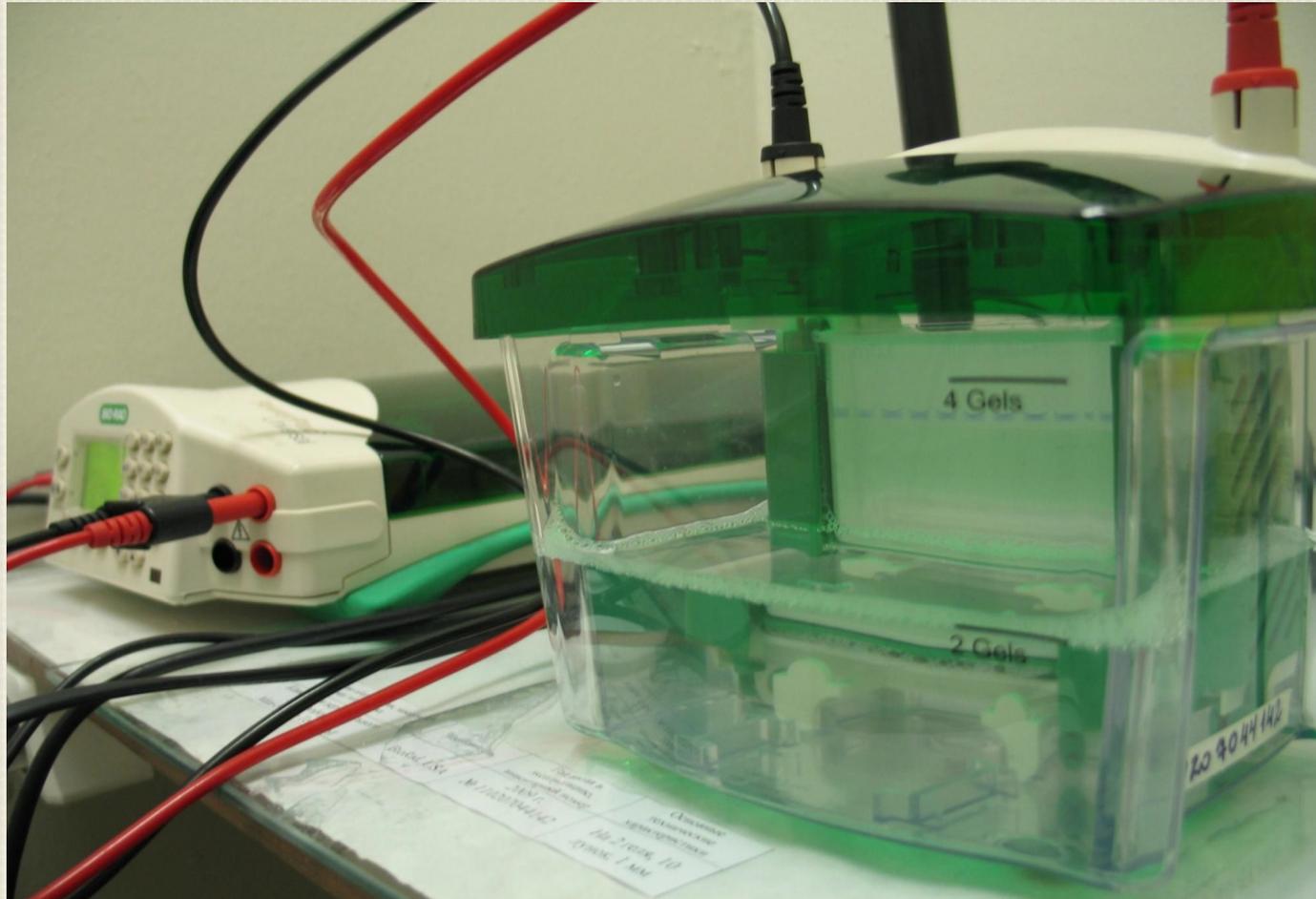


Появление цветной реакции (цветных полос на стрипе НЦМ)



Оценка результата – сравнение с контрольным стрипом НЦМ

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ БЕЛКОВ НАРУЖНОЙ МЕМБРАНЫ ИЕРСИНИЙ

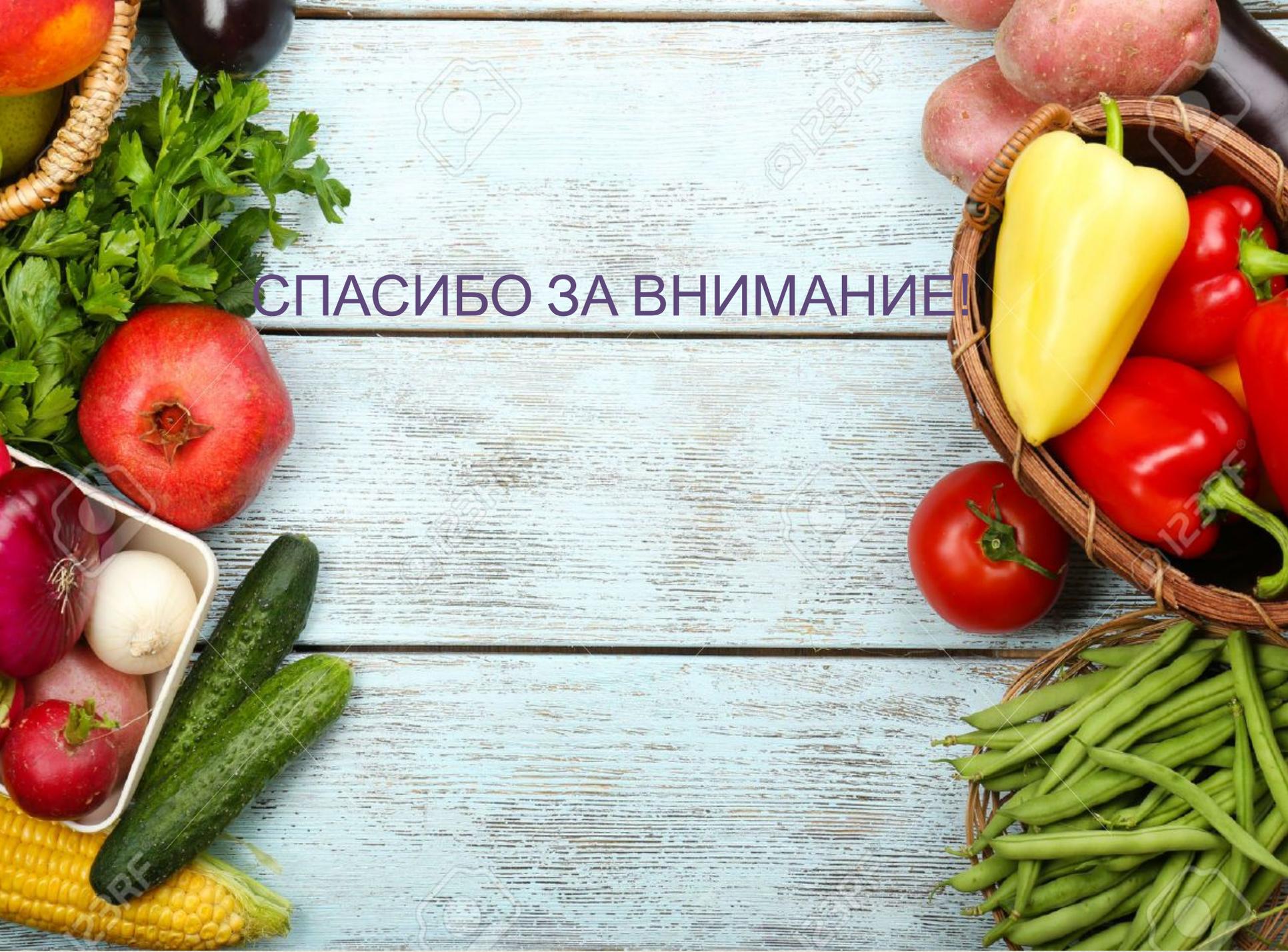


МЕТОД ИММУНОБЛОТА

- «+» высокая чувствительность и специфичность, «золотой стандарт» в серологической диагностике
- «+» выявляются АТ ко всем патогенным иерсиниям
- «+» выявляются классы антител: IgM, IgA, IgG
- «+» быстрая постановка реакции
- «-» дороговизна

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ

- острое течение иерсиниозов - РНГА, РА и ИФА
- хроническое течение (более 6 месяцев) – иммуноблот



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!