

5-25 БИОХИМИЧНИ СВОЙСТВА НА ЩАМОВЕ *YERSINIA ENTEROCOLITICA*, ИЗОЛИРАНИ ОТ ЖИВОТНИ И МЕСО

Атанас Атанасов Павлов - СТ.Н.С.,к.В.М.Н.
Районна ветеринарна станция - Русе

Проучени са биохимичните свойства на щамове *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*), изолирани от чревно съдържание, фекални проби, месо, вътрешни органи и езици на прасета и телета. Установено е, че значителна част от щамовете показват отклонения от биохимичната характеристика на вида *Y. enterocolitica*. Тези отклонения се изразяват главно в различните отношения на щамовете към L-рамноза, d-рафиноза, d-мелибиоза, L-орнитин, малтоза и др. На базата на различията в биохимичните свойства, щамовете са отнесени към следните видове: *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Yersinia X1* и *Yersinia X2*. Извършено е биотипизиране на щамовете от отделните видове. Дискутира се здравното значение на видовете йерсинии.

През 1939 г. Schleifstein и Coleman /21/ изолират от хора нов микроорганизъм - *Bacterium enterocoliticum*. По-късно много автори установяват подобни бактерии у хора, животни и обекти на околната среда, описвайки ги под различни наименования: *Pasteurella pseudotuberculosis* type b, *Pasteurella pseudotuberculosis* - по-популярно, *Pasteurella X*, *Pasteurella Y*, клетка X и др. /17, 19, 20/. Frederiksen /15/ установява, че тези изолати са идентични с *B. enterocoliticum* и предлага обединяването им в отделен вид - *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*). Buchanan и Gibbons /12/ официално поставят *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* в род *Yersinia* на сем. *enterobacteriaceae*. Много автори сочат, че за разлика от *Y. pseudotuberculosis* видът *Y. enterocolitica* обхваща хетерогенни групи бактерии /5, 13, 22, 28/. На базата на някои различия в биохимичните свойства се предлага видът да се раздели на биотипове или биогрупи /7, 18, 20, 23, 24, 26/. Изолирани са значителен брой атипични щамове *Y. enterocolitica* /7, 13, 20, 27/, които по някои биохимични отношения са близки с *Y. pseudotuberculosis* /8, 18, 23, 28/. Най-често атипични *Y. enterocolitica* се установяват в обекти на околната среда /5, 16/, но напоследък се съобщава за изолацията им от хора с различни заболявания /6, 7/. Наскоро се предложи *Y. enterocolitica* да се раздели на 6 отделни вида: *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Yersinia X1* и *Yersinia X2* /2, 3, 4, 9, 10, 11, 25/. Ние си поставихме задача да проучим биохимичните свойства на щамове *Y. enterocolitica*, изолирани от животни и месо.

СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ
МАТЕРИАЛ И МЕТОД

В това проучване използвахме 102 щамове *Y. enterocolitica*, изолирани от предначинани за клане клинично здрави прасета и телета, от месо и вътрешни органи. Биохимичните свойства определяхме по конвенционалните методи /1, 14/. Всички посявки култивирахме на 28°C, а за подвижност, метил рот, Foges Проскауер и Simmons' цитрат - успоредно на 37°C. Отчитахме ежедневно, като отрицателните реакции наблюдавахме в продължение на 20 дни. Щамовете изследвахме серологично с анти O:3 и анти O:5 serum.

РЕЗУЛТАТИ

Проучените 102 щам притежават основните биохимични свойства, характеризирани от *Y. enterocolitica*. Микроорганизмите са грамотрицателни неспорообразуващи къси пръчици, разграждат ферментативно d-глюкоза, положителни са за каталаза, метил рот (28°C и 37°C), уреазата, редукция на нитрати до нитрити, подвижност (28°C), l-арабиноза, галактоза, d-глюкоза, d-манит, d-трехалоза и отрицателни за оксидаза, подвижност (37°C), Фогес Проскауер (37°C), l-фенилаланин дезаминаза, Simmons' цитрат (37°C), натриев малонат, газ от d-глюкоза, сероводород (на Kligler's agar) l-лизин декарбоксилаза, l-аргинин дехидролаза, адонит, d-арабиноза, дулцит, гликоген и инулин.

ТАБЛИЦА 1

Биохимични свойства на щамове *Y. enterocolitica*, изолирани от животни, месо и вътрешни органи

Тест	Групи щамове												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Образуване на индол	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Фогес Проскауер 28°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Simmons' цитрат 28°C	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
l-орнитин декарбоксилаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Образуване на киселина от													
захароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
d-ксилоза	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
малтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
d-мелибиоза	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
l-рамноза	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
d-рафиноза	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
d-сорбит	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

1 в групите са включени щамове с еднакви биохимични свойства

По някои биохимични показатели проучените щамове показват известни различия, на базата на които те бяха разделени на 13 групи (табл.1). Първа, втора и трета група са Фогес Проскауер (28°C) положителни, образуват l-орнитин декарбоксилаза и киселина от захароза, но не и от d-мелибиоза, l-рамноза и d-рафиноза. Тези групи се диференцират помежду си по способността да образуват индол и да разграждат d-ксилоза.

Групи от 4 до 8 включително образуват l-орнитин декарбоксилаза и киселина

от захароза и d-мелибиоза. Показват различна способност за усвояване на Simmons' цитрат (28°C) и разграждане на l-рамноза и d-рафиноза.

Групи 9 и 10 са Фогес Проскауер (28°C) и индол положителни, образуват l-орнитин декарбоксилаза, разграждат захароза и l-рамноза, не образуват киселина от d-мелибиоза и d-рафиноза. Група 9 усвоява Simmons' цитрат, за разлика от група 10.

Щамове от група 11 не разграждат захароза, d-мелибиоза, l-рамноза и d-рафиноза, но образуват l-орнитин декарбоксилаза и индол. За разлика от тях щамове от група 12 са l-орнитин и индол отрицателни.

Последната група щамове са Фогес Проскауер положителни, усвояват Simmons' цитрат (28°C) и декарбоксилат l-орнитин. Образуват киселина от l-рамноза, но не и от захароза, малтоза, d-мелибиоза и d-рафиноза.

Серологичното изследване на щамове посочва, че 3 броя от първа група са серотипи 0:9 и 18 броя от трета група - серотипи 0:3.

ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от нашите проучвания върху биохимичните свойства на 102 щамове микроорганизми, изолирани от животни, месо и вътрешни органи сочат, че същите се отнасят към род *Yersinia* на сем. *Yerobacteriaceae*. Двадесет и четири от тях включени в групи 1, 2 и 3 (табл. 1) притежават биохимични свойства, покриващи се с характеристиката на *Y. enterocolitica*. Останалите 78 щамове (групи 4 до 13 включително) се разграничават от този вид по някои показатели (декарбоксилиране на l-орнитин, образуване на киселина от захароза, малтоза, d-мелибиоза, l-рамноза, d-рафиноза) и се отнасят към атипичните *Y. enterocolitica*.

До 1975 г. *Y. enterocolitica* се считаше за един вид, разделен на няколко биохимични групи /2, 18, 20, 26/. През 1976 г. Brenner и кол. /9/ установяват, че много щамове, известни като атипични, се различават от класически описваната *Y. enterocolitica* не само по биохимични свойства, но и по ДНА-хомоложност. Според авторите тези щамове могат да се разделят най-малко на 3 групи, всяка от които притежава качества на отделен вид. Като основни диференциращи показатели се сочат отнасянията към захароза, l-орнитин, l-рамноза и d-рафиноза /16/. На базата на ДНА хомоложността и различията в биохимичните свойства Brenner и кол. /11/ разделят вида *Y. enterocolitica* на 4 групи, като към първа група отнасят петте класически биотипа на Nilcan /20/, а към останалите три - атипичните щамове. Изследванията на други автори /3, 4, 10, 25/ в последните години сочат, че под наименованието *Y. enterocolitica* се обединяват значително различаващи се помежду си групи бакте-

ри, които трябва да се обособят в отделни видове на род *Yersinia* : *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Yersinia* X1 и *Yersinia* X2. Данните отразени в таблица 1 сочат, че шамовите включени в групи 1, 2 и 3 (24 броя) притежават биохимични свойства, характеризиращи *Y. enterocolitica sensu stricto*. Първа група (3 броя) образуват индол, разграждат d-ксилоза до киселина и се отнасят към биотип 2 на Nilén /20/ и Wauters /26/. Втора група (9 броя) не образуват индол, но разграждат d-ксилоза (биотип 3), а трета група (18 броя) са отрицателни и по двата показателя (биотип 4).

Групи 4 до 8 включват значителна част от проучваните шамове (42 броя), които се диференцират от *Y. enterocolitica* по способността да усвояват Simmons' цитрат (28°C) и да образуват киселина от d-мелибиоза, l-рамноза и d-рафиноза. Съгласно предложената класификация от Bercovier и кол. /3/ те спадат към вида *Y. intermedia*. Различните отнасяния към Simmons' цитрат, l-рамноза и d-рафиноза сочат, че шамовите от тези групи се разпределят най-малко в 5 от осемте биотипа на този вид.

За разлика от *Y. enterocolitica* групи 9 и 10 (27 шам) образуват киселина от l-рамноза. Те се отнасят към новопредложения вид *Y. frederiksenii* /3/. Този вид се диференцира от *Y. intermedia* по неспособността да разгражда d-мелибиоза и d-рафиноза. Шамовите от група 9 (16 броя) усвояват Simmons' цитрат (28°C) и се отнасят към биотип 1 или 3, а група 10 (11 броя) са отрицателни по този показател и спадат към биотип 2 или 4 на *Y. frederiksenii*.

Останалата част от проучените шамове показват по-слаба биохимична активност. Група 11 (6 броя) образуват индол и l-орнитин декарбоксилаза, разграждат до киселина d-ксилоза, малтоза, d-сорбит, но не и захароза, d-мелибиоза, l-рамноза и d-рафиноза. Те се отнасят към вида *Y. kristensenii* /3/. Шамовите от група 12 (2 броя) образуват киселина от малтоза, не декарбоксилират l-орнитин и спадат към все още неподлучилата наименование *Yersinia* X1, а група 13 (1 шам) образува l-орнитин декарбоксилаза, но не разгражда малтоза и се отнася към *Yersinia* X2.

Извършени са много проучвания върху ролята на *Y. enterocolitica* като етиологичен фактор на заболявания по хората и животните. Повечето автори /2, 3, 7, 9, 13, 26/ установяват, че най-патогенни за човека са серотипове O:3 и O:9. Резултатите от нашите изследвания сочат, че 17,66% от проучените шамове се отнасят към серотип O:3, биотип 4 и 2,94% - към серотип O:9, биотип 2 на Nilén /20/.

Все още не е напълно изяснена ролята на атипичните *Y. enterocolitica* при заболяванията по хората и животните. Доскоро се считаше, че те се изолират предимно от обекти на околната среда и нямат здравно значение. Напоследък има съобщения за изолирането им от хора с различни заболявания (раневи, постоперативни и кожни

инфекции, билатерален конюнктивит, ентерит, неоплазма на колона, уретрална стеноза, абсцеси, артрити и др.). Някои автори съобщават /3, 10, 11, 25/, че 15% от шамовете *Y. intermedia*, 30% от *Y. kristensenii* и 47% от *Y. frederiksenii* са от човешки произход. Тези данни сочат, че както *Y. enterocolitica* така и новопредложените видове могат да имат определен дял в заболяванията по хората.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хаджидимова, Л. Микробиологична диагностика. III изд. Медицина и физкултура. С., 1975.
2. Baker, P.M., J.J. Farmer III, J. Clin. Microbiol., 15, 3, 491, 1982.
3. Bercovier, H., D.J. Brenner, J. Ursing, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, J.M. Alonso, G.P. Carter, H.H. Mollaret. Current Microbiol., 4, 201, 1980.
4. Bercovier, H., J. Ursing, D.J. Brenner, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, G.P. Carter, H.H. Mollaret. Current Microbiol., 4, 219, 1980.
5. Bottone, E.J. Crit. Revs. Microbiol., 5, 211, 1977.
6. Bottone, E.J. J. Clin. Microbiol., 7, 6, 562, 1978.
7. Bottone, E.J., B. Chester, M.S. Malowany, J. Allerhand. Appl. Microbiol., 5, 858, 1974.
8. Brenner, D.J. Contrib. Microbiol. Immunol., 5, 33, 1979.
9. Brenner, D.J., A.G. Steigerwalt, D.P. Falcao, R.E. Weaver, G.R. Fanning. Intern. J. Syst. Bacteriol., 26, 2, 180, 1976.
10. Brenner, D.J., H. Bercovier, J. Ursing, J.M. Alonso, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, G.P. Carter, H.H. Mollaret. Current Microbiol., 4, 207, 1980.
11. Brenner, D.J., J. Ursing, H. Bercovier, A. Steigerwalt, G. Fanning, J.M. Alonso, H.H. Mollaret. Current Microbiol., 4, 195, 1980.
12. Buchanan, R.E., N.E. Gibbons (ed). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8-th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore, p. 330, 1974.
13. Darland, G., W.H. Ewing, B.R. Davis. The biochemical characteristics of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. CDC publication. Center for Disease Control, Atlanta, Ga., 1975.
14. Edwards, P.R., W.H. Ewing. Identification of Enterobacteriaceae. 3-rd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota, 1972.
15. Frederiksen, F. Proc. XIV Scand. Congr. Path. Microbiol., Oslo. Oslo Universitetforlaget, Norway. Abs. N° 14, 103, 1964.
16. Harvey, S., J.R. Greenwood, M.J. Pickett, R.A. Mah. Appl. Environ. Microbiol., 32, 352, 1976.

17. Hässig, A., J. Karrer, F. Pusterla. Schweiz.med. Wschr., 79, 911, 1949.
18. Knapp, W., E. Thal. Contrib. Microbiol. Immunol., 2, 10, 1973.
19. Morris, G.K., J.C. Feeley. Bull. WHO, 54, 79, 1976.
20. Niléhn, B. Acta pathol. microbiol. scand., Suppl. 206, 1, 1969.
21. Schleifstein, J., M.B. Coleman. New York State J. Med., 39, 1749, 1939.
22. Smith, J.E., E. Thal. Acta pathol. microbiol. scand., 64, 213, 1965.
23. Stevens, M., N.S. Mair. Contrib. Microbiol. Immunol., 2, 17, 1973.
24. Toma, S., L. Lafleur. Appl. Microbiol., 28, 469, 1974.
25. Ursing, J., D.J. Brenner, H. Bercovier, G.R. Fanning, A.G. Steigerwalt, J. Brault, H.H. Mollaret. Current Microbiol., 4, 213, 1980.
26. Wauters, G. Ph.D. thesis. Catholic University of Louvain. Vander, Louvain, Belgium, 1970.
27. Wauters, G. Contrib. Microbiol. Immunol., 2, 38, 1973.
28. Weaver, R.E., J.G. Jordan. Contrib. Microbiol. Immunol., 2, 120, 1973.