

Микробиология возбудителя чумы

(лекция 3)

Кутырев Владимир Викторович

член-корреспондент РАМН

доктор медицинских наук, профессор

РосНИПЧИ «Микроб», Саратов

Патогенность возбудителя чумы

Патогенность – видовой признак микроорганизма, вызывающего инфекционный процесс, развившийся и **наследственно закрепившийся** в процессе эволюции взаимоотношений макро- (хозяин) и микро- (паразит) организмов

Вирулентность – степень патогенности, **изменяющийся признак** (свойство) микроорганизма (LD_{50} , DCL)

Полноценный патогенный микроорганизм (бактерия) должен обладать основными функциями:

- КОЛОНИЗАЦИИ
- ИНВАЗИИ
- ЗАЩИТЫ ОТ ФАГОЦИТОЗА
- ПОРАЖЕНИЯ (ТОКСИЧНОСТЬ)

Биомолекулы, осуществляющие эти функции, обозначаются как факторы (детерминанты) патогенности (вирулентности), так как каждая необходима микроорганизму для развития определенной стадии инфекционного процесса

**Патогенность возбудителя чумы
полидетерминирована – Т. Burrows (1956-63)**

Это комплекс свойств, позволяющих возбудителю преодолеть защитные барьеры чувствительного макроорганизма и безудержно размножаться в нем

ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС ПРИ ЧУМЕ



- грызун – блоха - грызун
- Схема распространения возбудителя: место внедрения – региональный лимфоузел – кровь – паренхиматозные органы – кровь
- Инкубационный период – от часов до 6 суток
- Летальный исход (без лечения) – 3-5 суток
- Летальность (без лечения) при легочной чуме более 90%

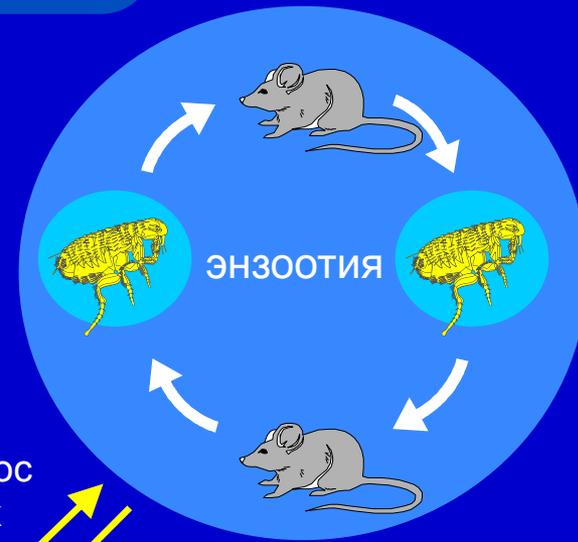
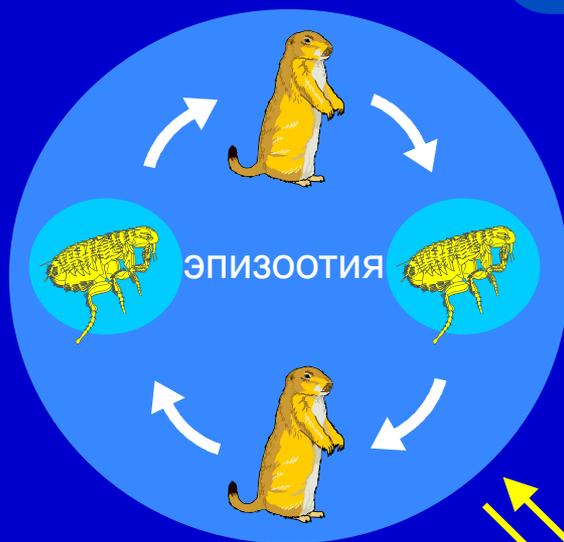
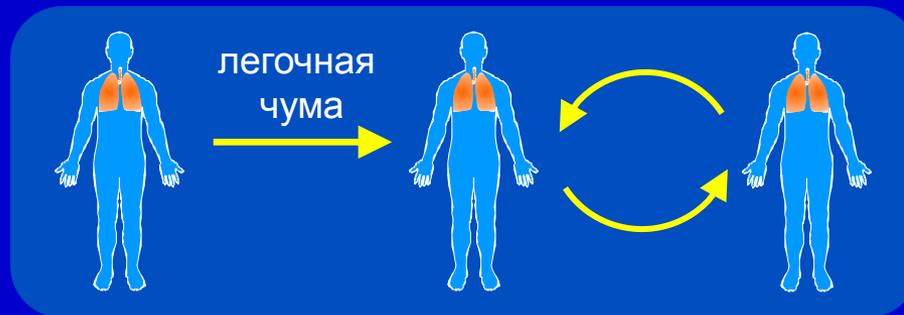
Общая характеристика патогенности

Возбудитель чумы патогенен для 250
ВИДОВ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

ЖИВОТНЫЕ:

- ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ
- ОТНОСИТЕЛЬНО РЕЗИСТЕНТНЫЕ
- РЕЗИСТЕНТНЫЕ

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ



Носители возбудителя чумы в природе – более 200 видов грызунов, переносчики – их блохи.

Источники чумы – природные очаги, локализованные в Азии, Африке, Америке и Европе.

Yersinia pestis – факультативный
внутриклеточный паразит, вызывающий
развитие незавершенного фагоцитоза

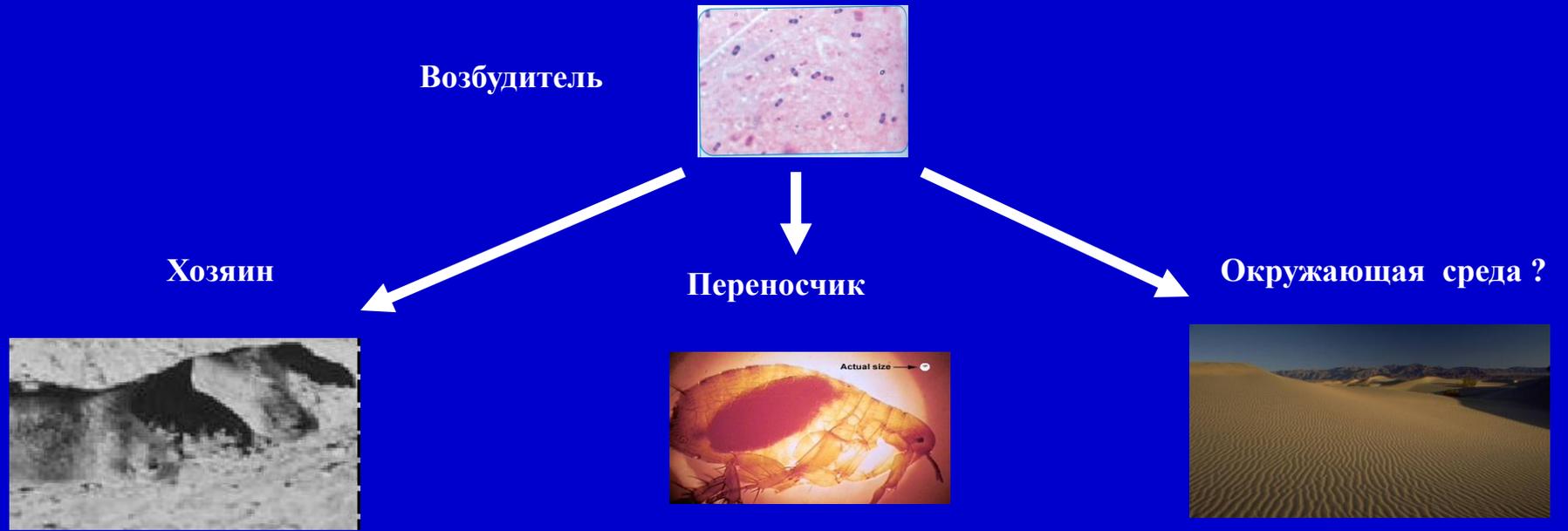
Детерминанты (факторы) патогенности по T. Burrows (1963)

- Антигены вирулентности (**V** и **W**)
- Капсульный антиген (**Fra**)
- Триада: пестицин-фибринолизин-коагулаза (**Pst-Fib-Cog**)
- Признак пигментации (**Pgm**)
- Эндогенные пурины (**Pur**)

Основные комплексы и факторы патогенности

- Комплекс YOP-вирулона (pCad)
- Комплекс области пигментации - (Pgm-область хромосомы - остров патогенности)
- Активатор плазминогена - (pla – pPst)
- Капсульный антиген - (caf – pFra)
- Пили адгезии (pH6-антиген) - (psa-оперон хромосомы)

Жизненный цикл возбудителя чумы и биологический эффект основных факторов патогенности



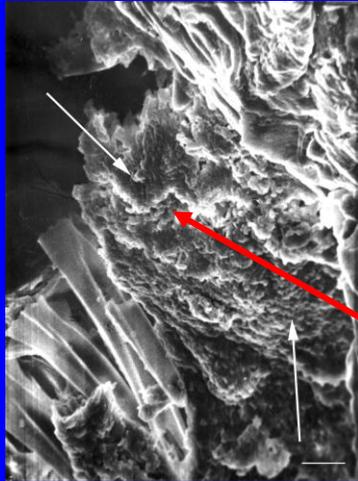
- инвазия и распространение
- адгезия к эукариотическим клеткам
- защита от фагоцитоза и подавление иммунной системы
- токсический шок

- колонизация
- образование биопленки
- образование блока преджелудка
- инсектицидные токсины ?

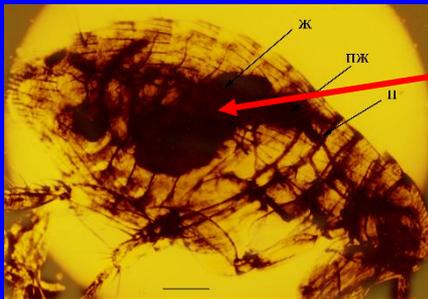
- отсутствие генов (или их экспрессии), обеспечивающих сапрофитную фазу
- некультивируемое состояние ?

Жизненный цикл возбудителя чумы и биологический эффект основных факторов патогенности

В переносчике:



- колонизация блохи - мышинный токсин (Ymt); коагулазная активность (Pla)?
- образование биопленки



- образование блока преджелудка - сорбция гемина (локус hms)
- инсектицидные токсины - ?

Жизненный цикл возбудителя чумы и биологический эффект основных факторов патогенности (продолжение)

В хозяине:

- **Инвазия и распространение :**
 - активатор плазминогена (фибринолитическая активность Pla)
 - система транспорта железа (локус *ybt*)
- **Адгезия к эукариотическим клеткам:**
 - антиген рН6 (Psa)
 - капсульный антиген (Fra)
- **Защита и подавление иммунной системы:**
 - капсульный антиген (Fra)
 - комплекс YOP-вирулона (pCad)
- **Токсический шок:** липополисахарид (ЛПС)

Основные элементы систем Yop вирулгона (плазмиды pCad/ pYV - 70 kb)

I. Глобальные регуляторы:

37°C

контакт с эукариотической клеткой (ЭК)

II. Система контактной секреции (Ysc, III тип систем секреции)

1. Аппарат секреции:

- секретеры (Ysc):

YscN -АТФ-аза

YscR, U, LcrD - протеины ЦМ

YscC - протеин канала ВМ

- шапероны (Syc):

SycD -транслокаторов

SycE, H - эфффекторов

2. Регуляторы: позитивные (37°C, VirF, LcrV)

негативные (LcrQ, LcrG)

Основные элементы систем Yop вирулона (плазмида pCad/ pYV - 70 kb)

(продолжение 1)

III. Система транслокации бактериальных протеинов в эукариотические клетки - мишени:

YopB, YopD и др. - формирование пор в ПМЭК

IV. Контролирующий элемент - YopN

- контактный сенсор
- запирающий клапан
- Ca^{2+} -сенсор

Основные элементы систем TOR вируса

(плазмида pCad/ pYV - 70 kb)

(продолжение 2)

V. Эффекторные протеины

1. Внутриклеточные:

YopE - цитотоксин, деполимеризация актина

YopH - тирозин-фосфатаза, дефосфорилиция

YrkA - протеинкиназа, фосфорилиция

YopM - связывание α -тромбина..?

2. Внеклеточные:

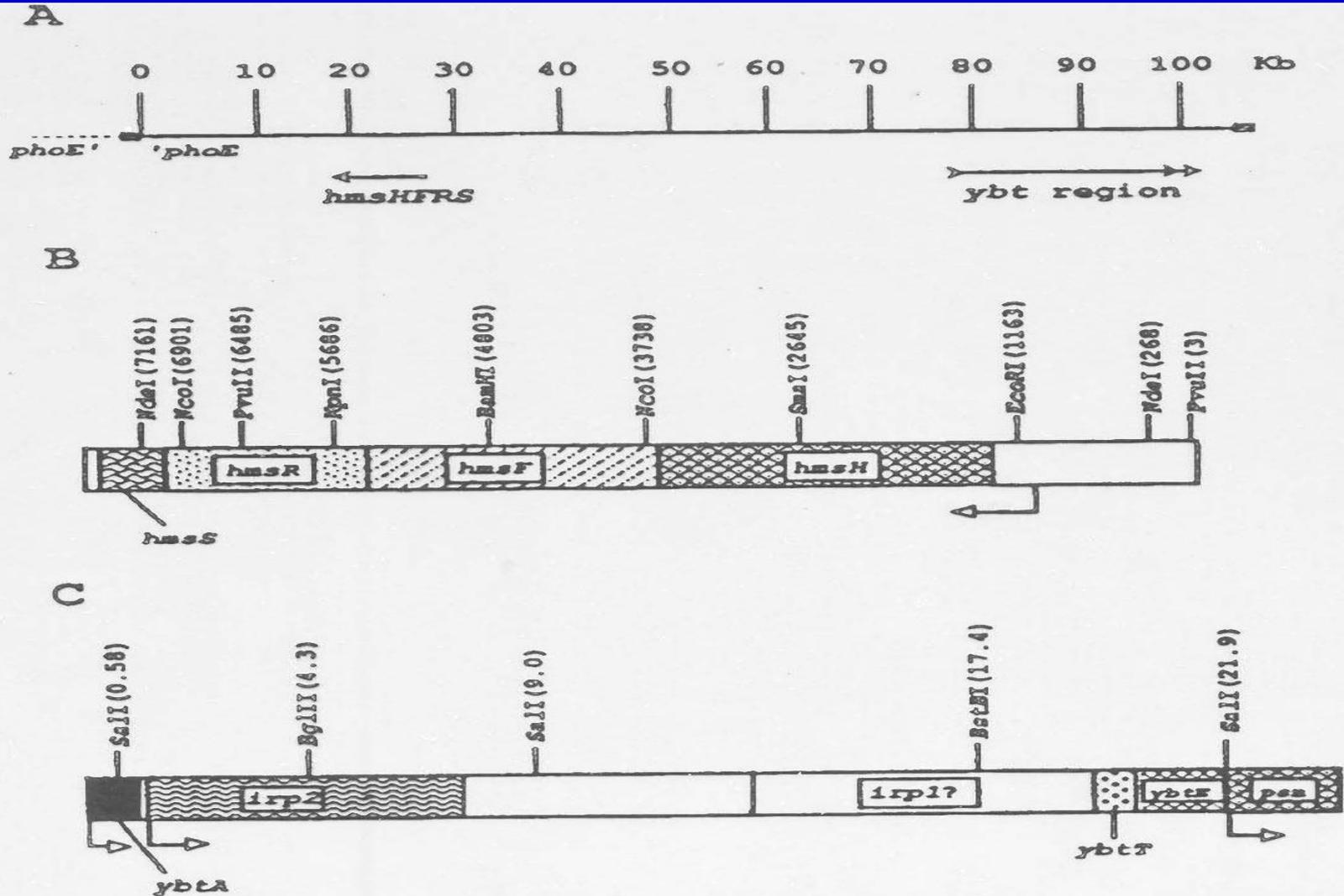
LcrV - иммуносупрессор, супрессирует *in vivo* продукцию интерферона; подавляет функцию хемотаксиса нейтрофильных лейкоцитов

3. Гипотетические:

YopK, L - функции выживания и размножения в лимфоидных тканях

- **Комплекс УОР-вирулона (pCad)** обеспечивает функцию системы секреции III типа
- **Эффекторные белки Уорs** осуществляют отрицательную регуляцию реакций фагоцитирующих клеток хозяина на чумную инфекцию и таким образом подавляют фагоцитоз

Структурно-функциональная организация «острова патогенности» *Yersinia pestis*



I. Атрибуты "острова патогенности"

1. наличие кластеров генов вирулентности
2. фланкирование IS-элементами или прямыми повторами
3. повышенное содержание ГЦ
4. высокая частота делеций, дупликаций и амплификации

II. Комплекс фенотипа Pgm*, определяемый хромосомной областью пигментации (Pgm, 102 тпн,):

1. способность сорбировать гемин (Hms*)
2. рост в железodefицитной среде при 37⁰
3. чувствительность к пестицину (Pst^s)
4. экспрессия железорепрессируемых полипептидов (Irp+)

III. Локус сохранения гемина (Hms)

1. Hms- оперон включает два структурных гена (HmsH,F) и два регуляторных (HmsR,S)
2. Функция выражена при 26⁰C
3. Образование биопленки
3. Обеспечивает блокирование преджелудка блохи
4. Роль в организме хозяина ?

IV. Область сидерофор-зависимой системы транспорта железа (Ybt, 25-40 тпн):

1. Структурные гены сидерофора (ybt, иерсиниабактин) и рецептора (psn/fyuA, рецептор пестицина)
2. Регуляторные гены (irp1,2; ybtT,E; регулятор AraC- типа)
3. Негативная регуляция – глобальный регулятор (Fur)

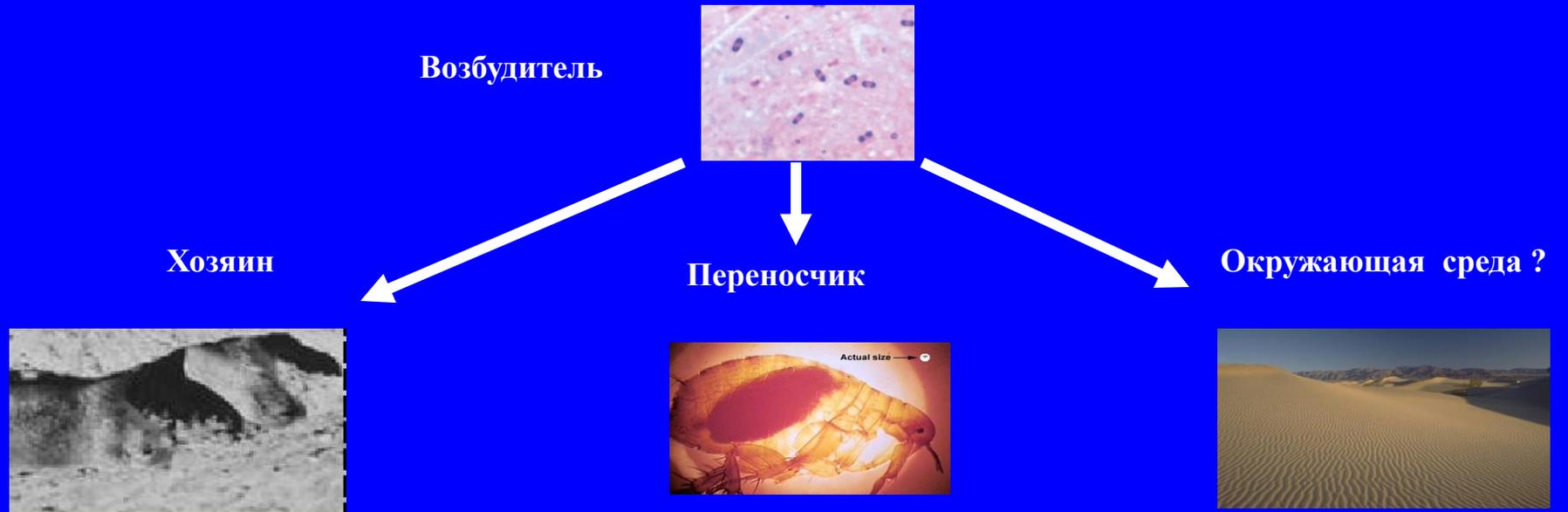
Комплекс области пигментации - (Pgm-область хромосомы) обеспечивает функции:

- образование биопленки
- сохранения гемина (hms)
- сидерофор-зависимого транспорта железа (ybt), включая синтез рецептора пестицина (psn)

**Сохранение гемина обеспечивает
блокообразование в преджелудке блохи**

**Система(ы) транспорта железа обеспечивают
размножение возбудителя в организме хозяина**

Жизненный цикл возбудителя чумы и биологический эффект основных факторов патогенности



- инвазия и распространение
- адгезия к эукариотическим клеткам
- защита от фагоцитоза и подавление иммунной системы
- токсический шок

- колонизация
- образование биопленки
- образование блока преджелудка
- инсектицидные токсины ?

- отсутствие генов (или их экспрессии), обеспечивающих сапрофитную фазу
- некультивируемое состояние ?

КАКИЕ АДАПТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ МОЖЕТ ИСПОЛЬЗОВАТЬ *Y.PESTIS* ДЛЯ ВЫЖИВАНИЯ В МЕЖЭПИЗОТИЧЕСКИЙ ПЕРИОД?



КЛАССИЧЕСКАЯ СХЕМА ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЯ И РАЗВИТИЯ ЭПИЗООТИИ

- Безрезультатность поиска возбудителя среди грызунов и их блох в межэпидемический период, внезапность и одномоментность возникновения эпизоотий на разных очаговых территориях послужило основой для предположения, что чумной микроб может использовать две основные стратегии выживания в окружающей среде при неблагоприятных условиях:
- Длительное сохранение чумного микроба в почве в некультивируемом состоянии (Сучков Ю.Г. с соавт., 1997) ?
- Сохранение в ротовой полости нематод (*Caenorhabditis elegans*) путем формирования биопленки с участием генов *hms* (Darty S. et al., 2002; Joshua G.W.P. et al., 2003.) ?

Однако эти данные требуют дальнейшей экспериментальной проверки.

Не выявлены гены, обеспечивающие переход возбудителя в сапрофитическую фазу.

Лабораторная диагностика: определение вирулентности

Определение вирулентности штаммов *Y.pestis* является обязательным требованием лабораторного исследования

- **In vivo**



- **In vitro**



Определение вирулентности *in vivo* (биопроба)



- Лабораторные модели – мыши и морские свинки



- Штаммы *Y. pestis* (по LD₅₀):
 - высоковирулентные - 1-100 кое
 - вирулентные - 10³-10⁵ кое
 - слабовирулентные - 10⁵-10⁹ кое
 - авирулентные > 10¹⁰ кое

Вакцинные штаммы – авирулентные + особые требования

Определение вирулентности штаммов *Y.pestis* in vitro

- кальцийзависимость (Cad^+) роста при 37С
(среда Higuchi&Smith)
- признак пигментации (Pgm^+)
(среда Jackson&Burrows)

Противочумные вакцины

- **Живая чумная вакцина (ЖЧВ, Россия)** – вакцинный штамм *Y.pestis* EV (pPst⁺, pCad⁺, pFra⁺, Pgm⁻)
(используется в России и ряде других стран)
- **Химическая чумная вакцина (ХЧВ, Россия)** – капсульный антиген + ОСА
(препарат для ревакцинации прошел Госиспытания)
- **Чумная вакцина USP (США)** – убитая формалином культура вирулентного штамма *Y.pestis* 195P⁺
(снята с производства)

Благодарю за внимание !