

**Бруцеллёз,
Туляремия**

Классификация возбудителей бруцеллёза

- 4 группа по Берджи - грамотрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки и кокки
- семейство **Brucellaceae**
- род **Brucella**
- ВИДЫ (10):
 - ***B. melitensis*** (95 – 97% случаев в РФ)
 - ***B. abortus***
 - ***B. suis***
 - ***B. canis***
 - ***B. neotomae***
 - ***B. ovis***
- ВИДЫ делятся на биовары

Морфологические и тинкториальные свойства

- Мелкие коккобактерии**
- Грамотрицательные**
- Образуют микрокапсулу**
- Неподвижны**
- Спор не образуют**

Культуральные свойства

- прихотливы
- на простых средах не растут
- в первых генерациях размножаются медленно (1 – 3 недели)
- печеночные среды (бульон и агар)
- кровяные и сывороточные среды
- в бульоне – равномерное помутнение
- на агаре – сероватые, мелкие, выпуклые, блестящие колонии (S-формы)
- *V. abortus* требует 5 – 10 % CO₂

Биохимические свойства

- ферментируют глюкозу и арабинозу с образованием кислоты без газа
- не образуют индол
- для *V. abortus* образование H_2S **вариабельно**
- *V. melitensis* **не образует** H_2S
- *V. suis* **образует** H_2S

Антигенные свойства

- О-антиген (ЛПС)

Эпидемиология

Источник ***B. abortus*** –

крупный рогатый скот



**Источник *V. melitensis* –
мелкий рогатый скот (овцы, козы)**



Источник *V. suis* –

СВИНЬИ



Эпидемиология

- Пути передачи:
 - алиментарный – через мясо, непастеризованное молоко и молочные продукты (например, сыр брынза)
 - контактный (через неповрежденную кожу и слизистые)
 - аэрогенный



Эпидемиология

- **Восприимчивый коллектив**

- любой человек без специфического иммунитета.

- **Группы риска:**

- работники животноводства

- работники предприятий, обрабатывающих и заготавливающих продукты животноводства

- ветеринары

В очагах бруцеллеза сезонный подъем заболеваемости людей связан с периодами отела, окота или опороса у животных.

Факторы патогенности бруцелл

- **адгезины:**
 - микрокапсула
 - белки наружной мембраны
- **ферменты патогенности:**
 - гиалуронидаза (придаёт высокую инвазивность)
 - нейраминидаза
- **токсины:**
 - эндотоксин (ЛПС)
- **агрессины:**
 - низкомолекулярные протеины, ингибирующие слияние фагосомы и лизосомы и подавляющие “окислительный взрыв” (**незавершенный фагоцитоз**)
 - каталаза и супероксиддисмутаза (защищают бруцелл от перекисей и других бактерицидных форм кислорода)
 - **являются факультативными внутриклеточными паразитами клеток РЭС**

Патогенез бруцеллёза

Проникновение бруцелл через кожу и слизистые



Попадание в регионарные л/у, размножение в макрофагах



Проникновение в кровь, бактериемия и эндотоксинемия



Гематогенная диссеминация в органы, богатые элементами РЭС: печень, селезёнка, костный мозг, л/у, почки



Формирование **гранулём** (специфические клеточные узелки)



Периодически выход в кровь (бактериемия и эндотоксинемия), аллергия макроорганизма (ГЗТ)

Клиника бруцеллёза

- **острый бруцеллез**
1,5 – 2 месяца
- **подострый бруцеллез**
до 6 месяцев
- **хронический бруцеллез**
более 6 месяцев

Клиника острого и подострого бруцеллёза

1. Длительная волнообразная лихорадка (у большей части больных сочетается с ознобами), самочувствие остаётся хорошим
2. Проливные поты
3. Гепатоспленомегалия
4. Полилимфаденопатия
5. Артралгии, миалгии
6. Поражения ЦНС токсического характера: головная боль, утомляемость, нарушения сна и др.
7. Может быть розеолезная сыпь на коже

Клиника хронического бруцеллёза

1. Поражения опорно-двигательного аппарата:

- артриты крупных суставов**
- сакроилеит**
- миозиты**
- бурситы**
- тендовагиниты**

2. Поражения центральной и периферической нервной системы

3. Поражения половой системы:

- орхит, эпидидимит у мужчин**
- сальпингит, оофорит, эндометрит, НМЦ у женщин**

4. Менингиты, энцефалиты

Лабораторная диагностика

Бактериологическое исследование проводится в лабораториях ООИ

Исследуемый материал – кровь (особенно во время лихорадки), пунктат костного мозга и л/у, моча, реже – желчь, испражнения, суставная жидкость.

Методы диагностики:

1) Экспресс-метод

- ПЦР**
- РИФ**
- ИФА**

2) Бактериологический метод

Низкая высеваемость возбудителя

Медленный рост (инкубация от 5 до 30 суток)

V. abortus требует 5 – 10 % CO₂

Материал засевают на:

- **печёночный бульон** (МПБ + настой из говяжьей печени):

равномерное помутнение

- **печёночный агар** (МПА + настой из говяжьей печени):

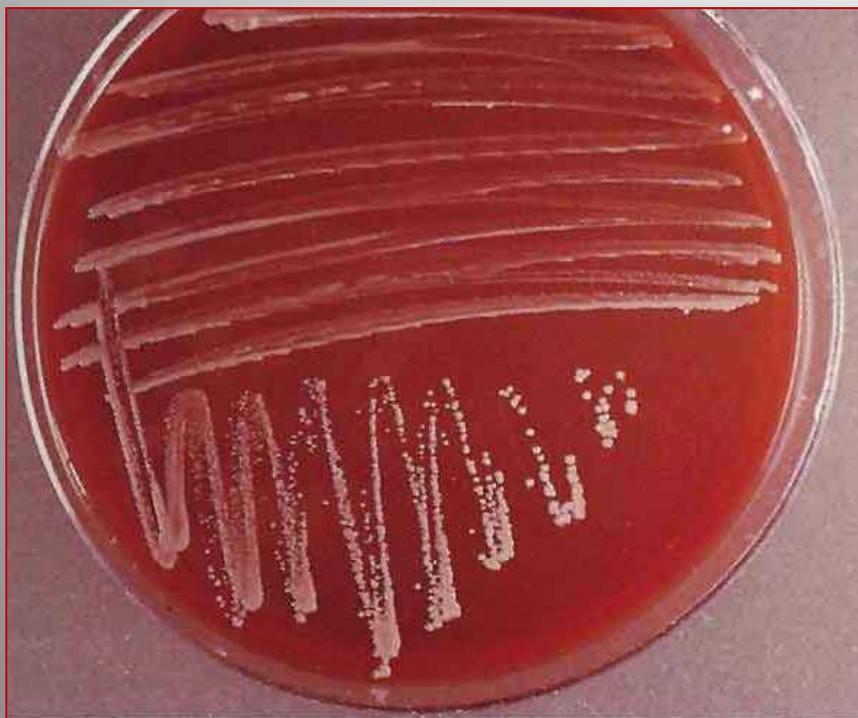
сероватые, мелкие, выпуклые, блестящие колонии (S-формы) (фото)

- **кровяной агар** (фото)

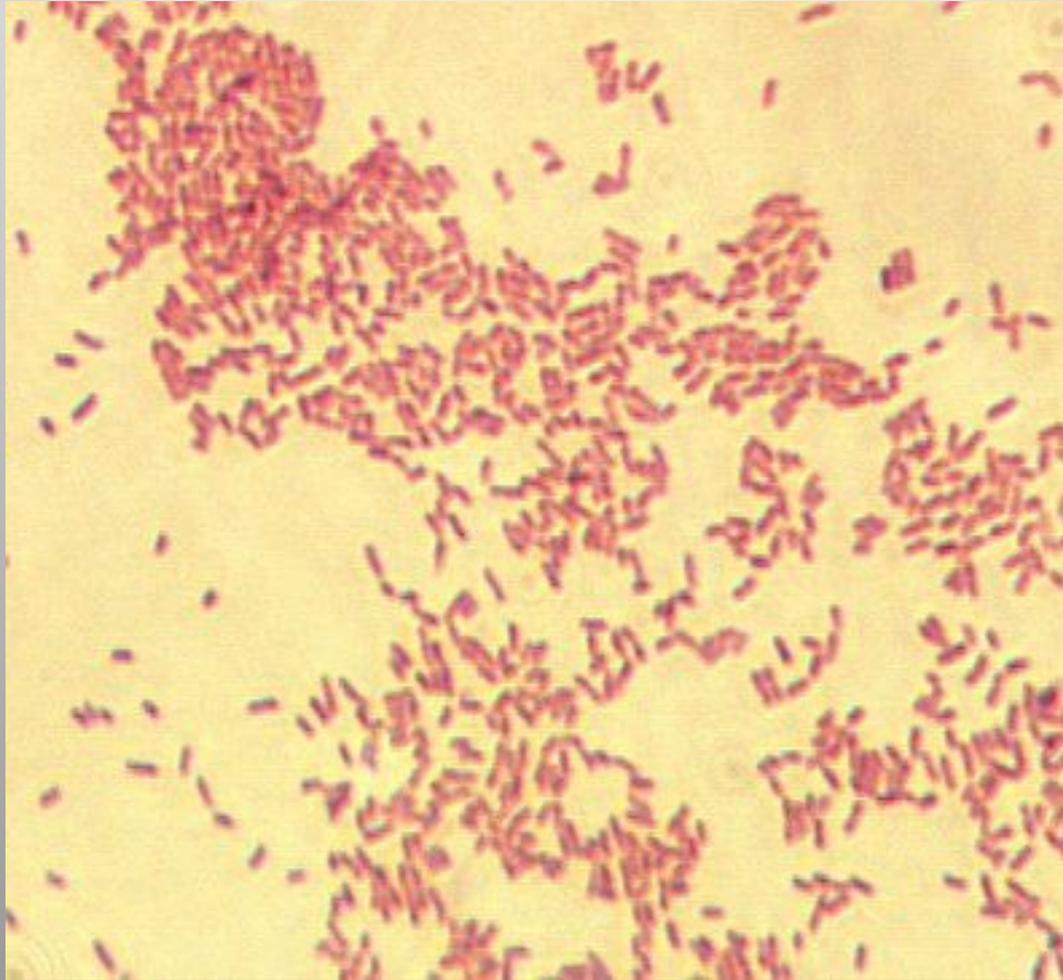
Колонии бруцелл на печеночном агаре



Колонии бруцелл на кровяном агаре



Мазок из колоний, окраска по Граму



Идентификация чистой культуры:

- по биохимическим свойствам:
 - ферментируют глюкозу и арабинозу **до кислоты** без газа
 - **не** образуют индол
 - для ***V. abortus*** образование H_2S **вариабельно**
 - ***V. melitensis*** **не образует** H_2S
 - ***V. suis*** **образует** H_2S
- по антигенным свойствам (**РА**)
- по фаголизабельным свойствам
- **бактериостатические тесты Хеддельсона:**

основаны на бактериостатическом действии анилиновых красителей – **фуксина** и **тионина**:

 - ***V. abortus*** растет на среде **с фуксином**, не растет с тионином
 - ***V. suis*** растет на среде **с тионином**, не растет с фуксином
 - ***V. melitensis*** растет на обеих средах

3) Биологический метод

- Заражают исследуемым материалом морских свинок и белых мышей.
- Вскрытие мышей – через 20 – 25 суток, морских свинок – через 30 – 35 суток. Изучают патологоанатомические изменения, проводят микроскопию мазков из органов, проводят бактериологическое исследование (20 – 25 дней).



4) Серологический метод – 1-ый основной

- Необходимо применять **серодиагностику** в комплексе с кожно-аллергической пробой,
- т.к. серодиагностика и кожно-аллергическая проба в различные периоды заболевания имеют разную диагностическую ценность.
- В первые 6 месяцев заболевания диагностическая ценность серологического метода выше, чем аллергического; серологические реакции в этот период оказываются положительными почти в 98% случаев.
- По мере удлинения срока заболевания процент положительных серологических реакций (реакция агглютинации, РПГА) начинает падать.
- В поздние периоды заболевания большую диагностическую ценность имеет реакция Кумбса и внутрикожная аллергическая проба.

4) Серологический метод – 1-ый основной

- пластинчатая (качественная) РА – **Хеддельсона**
- развернутая (количественная) РА – **Райта**
- развернутая РПГА
- РСК
- ИФА
- нРИФ
- **проба Кумбса** (на выявление неполных АТ)

Схема реакции Хеддельсона

<p>I</p> <p>0,04 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</p>	<p>IV контроль диагностикума (Кд)</p> <p>0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума + 0,03 мл физ. раствора</p>
<p>II</p> <p>0,02 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</p>	<p>V контроль сыворотки (Кс)</p> <p>0,02 мл сыворотки пациента + 0,03 мл физ. раствора</p>
<p>III</p> <p>0,01 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</p>	

- **Единый бруцеллезный диагностикум** содержит антигены трех патогенных для человека видов бруцелл (бруцеллы инактивированы нагреванием), подкрашен метиленовым синим. Используется для реакции Хеддельсона и Райта

Учет реакции Хеддельсона

- реакцию окончательно учитывают через 8 минут
- отсутствие агглютинации во всех дозах сыворотки - реакция «**отрицательная**»
- агглютинация только в первой дозе или в первой и второй дозах сыворотки - результат «**сомнительный**»
- агглютинация во всех дозах сыворотки - результат «**положительный**»
- при положительной реакции Хеддельсона ставят развёрнутую реакцию РА - **Райта** для определения титра АТ (диагностический титр 1:200)

- При хроническом бруцеллёзе (**более 6 месяцев**) реакция агглютинации может быть отрицательной, т.к. у больного становится больше **неполных АТ**
- Для выявления неполных АТ **ставится реакция (проба) Кумбса** с использованием антиглобулиновой сыворотки против иммуноглобулинов человека

5) Метод кожно-аллергических проб – 2-ой основной

Кожно-аллергическая **проба Бюрне** основана на способности организма, сенсibilизированного бруцеллезным антигеном, специфически отвечать местной реакцией на внутрикожное введение бруцеллезного аллергена (**ГЗТ**).

Реакция выявляется у больных позднее, чем антитела, и сохраняется годами после исчезновения клинических симптомов.

Необходимо иметь в виду, что аллергическая реакция может быть **положительной** в случаях бессимптомной инфекции, а также у привитых

- Для постановки пробы Бюрне используют **бруцеллин**.
- **Бруцеллин** – это полисахаридно-белковый комплекс из вакцинного штамма *Brucella abortus* 19-ВА полученный методом кислотного гидролиза.
- Вводится **0,1 мл внутрикожно** в ладонную поверхность предплечья.
- Учет реакции производится через **24 - 72 часа**.
- Результат считается **положительным**, если образуется **инфильтрат** и гиперемия размером **не менее 2 см в диаметре**.

Внутрикожное введение аллергена



Вакцина бруцеллёзная живая



Вакцина бруцеллёзная живая

- содержит живые клетки *B. abortus* вакцинного (**аттенуированного**) штамма 19ВА
- штамм получен американским учёным Беком путём многократных пересевов бруцелл на питательных средах при комнатной температуре. Учёная П.А. Вершилова доказала, что все 3 вида бруцелл создают перекрёстный иммунитет друг против друга
- используется для профилактики бруцеллёза по эпид. показаниям группам риска, ревакцинация – через 1 год

Вакцина бруцеллезная лечебная

содержит штаммы *Brucella melitensis* и *Brucella abortus*, инактивированные нагреванием



Классификация возбудителя туляремии

- **4 группа по Берджи -**
грамотрицательные аэробные и
микроаэрофильные палочки и кокки
- **семейство Brucellaceae**
- **род Francisella**
- **вид F. tularensis (делится на биовары)**

Морфологические и тинкториальные свойства

- Мелкие коккобактерии**
- Грамотрицательные**
- Образуют микрокапсулу**
- Неподвижны**
- Спор не образуют**

Культуральные свойства

- прихотливы, на простых средах не растут
- желточные среды (**свернутая желточная среда Мак-Коя**)
- кровяной агар с добавлением глюкозы и цистеина (**среда Френсиса**)
- на агаре – беловатые, мелкие, выпуклые, блестящие колонии
- в жидких средах образуют плёнку

Биохимические свойства

- ферментирует глюкозу, мальтозу, маннозу с образованием кислоты без газа
- образует H_2S

Антигенные свойства

- О-антиген (ЛПС)
- Vi-антиген (поверхностно-оболочечный)

Эпидемиология

- **Источник инфекции – животные, в основном – грызуны (суслики, ондатры, тарбаганы и др.) (зооноз).**



Эпидемиология

- **Пути передачи:**

- **контактный**
- **трансмиссивный (комары, клещи, слепни и др.)**
- **алиментарный и водный**
- **воздушно-капельный**

- **Восприимчивый коллектив**

– **любой человек без специфического иммунитета. Группы риска: охотники, промысловики и др.**

Факторы патогенности *F. tularensis*

- **адгезины:**
 - микрокапсула
 - белки наружной мембраны
- **ферменты патогенности:**
 - гиалуронидаза (придаёт высокую инвазивность)
 - нейраминидаза
- **токсины:**
 - эндотоксин (ЛПС)
- **агрессины:**
 - капсула
 - вещества, подавляющие лизосомальную функцию фагоцитов (макрофагов) (**незавершённый фагоцитоз**)

Патогенез туляремии

Проникновение через кожу и слизистые глаз, дыхательной и пищеварительной систем



Размножение во входных воротах (первичный аффект) и регионарных л/у, **незавершённый фагоцитоз**, воспаление л/у (бубонная, язвенно-бубонная, глазо-бубонная, ангинозно-бубонная, абдоминальная, легочная формы)



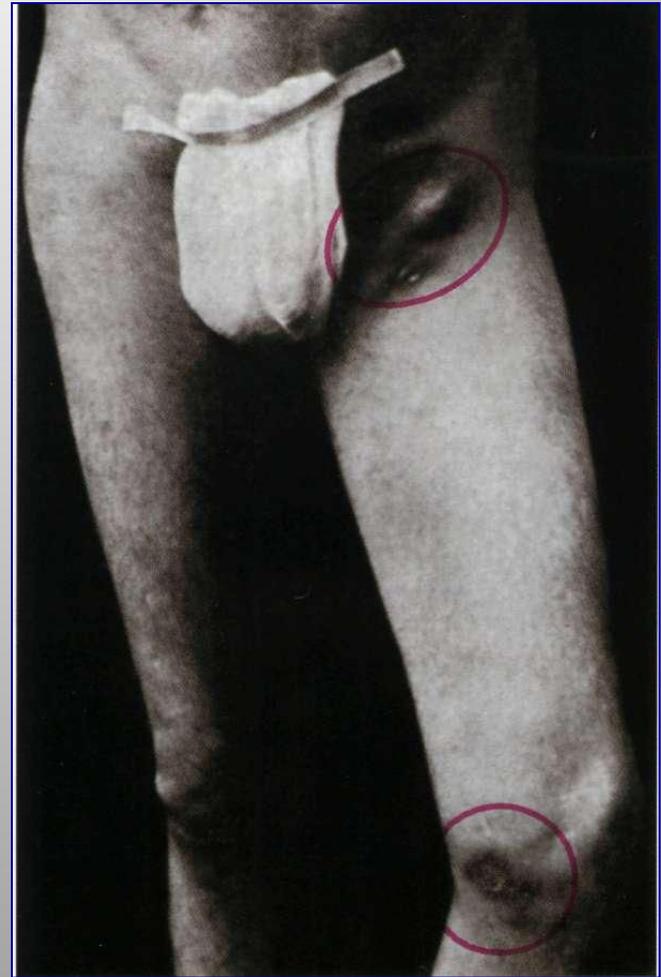
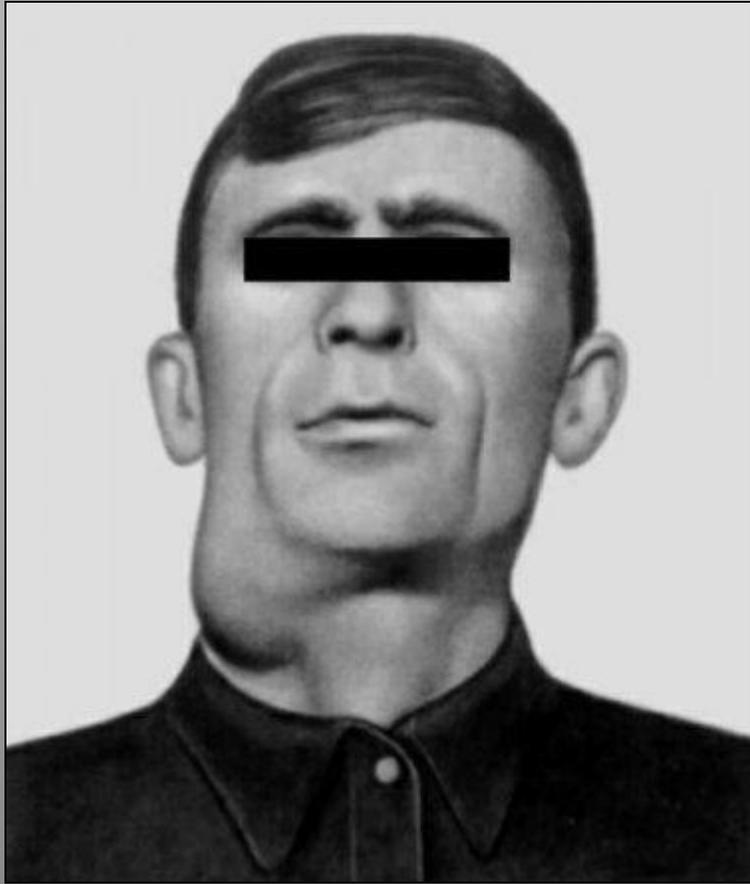
Нарушение барьерной функции л/у, проникновение в кровь, бактериемия и эндотоксинемия



Гематогенная диссеминация, образование гранулём во внутренних органах и лимфоузлах (септическая форма)

Клиника туляремии

Ангинозно - бубонная форма Язвенно – бубонная форма



Клиника туляремии: ангинозно-бубонная форма



Лабораторная диагностика

Проводится в лабораториях ООИ

Исследуемый материал — отделяемое язв, конъюнктивы глаза, пунктат бубона, плёнка из зева, мокрота, кровь.

Методы диагностики:

1) Экспресс-метод

- ПЦР
- РИФ
- ИФА

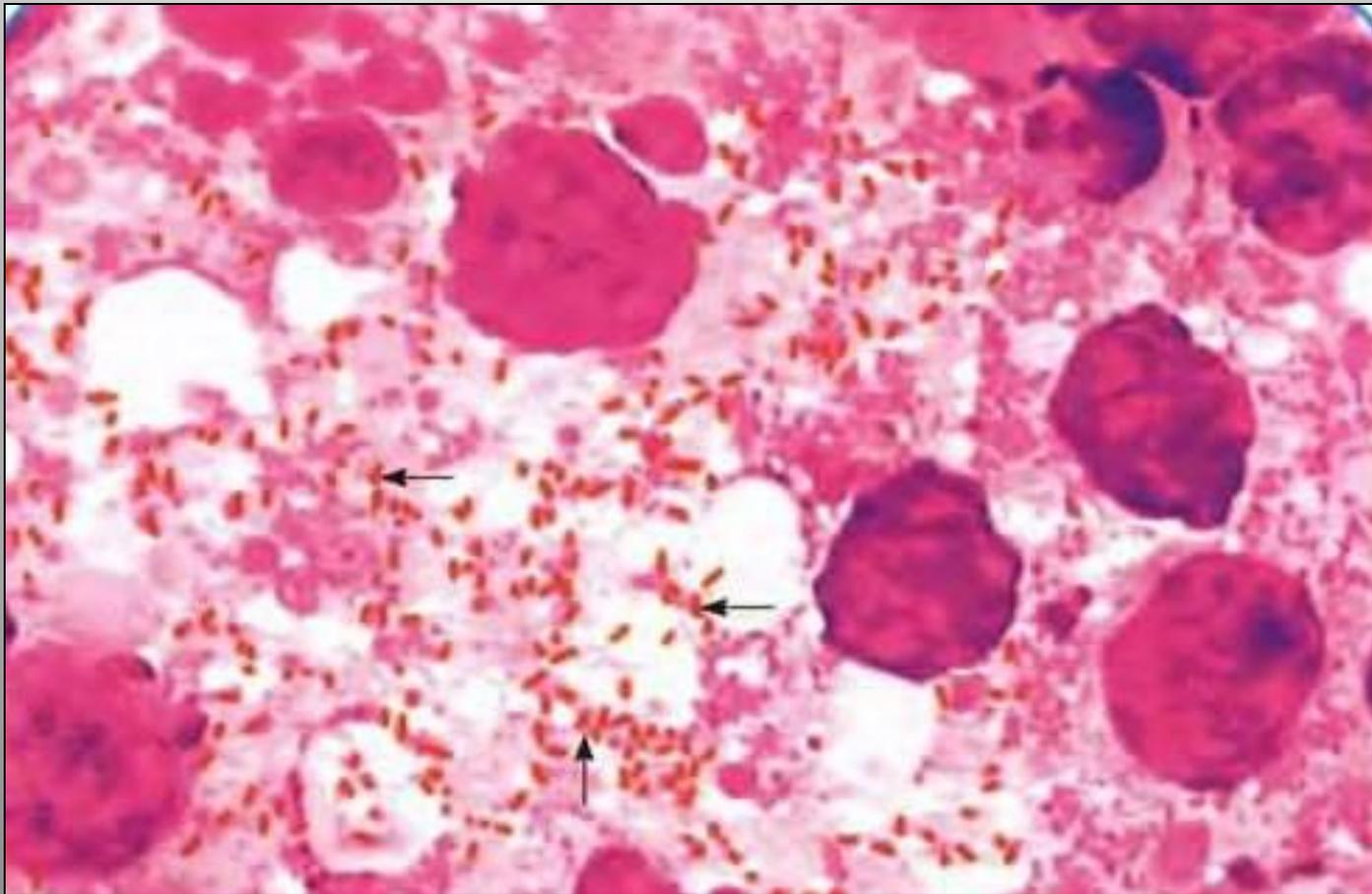
2) Бактериологический метод

Проводится опосредованно через биологический!!!

Заражают исследуемым материалом белых мышей и морских свинок. Животные погибают на 6 – 14 сутки, затем изучают патологоанатомические изменения, микроскопируют мазки из органов животных и проводят **бактериологический метод**



***F. tularensis* в мазке-отпечатке из
селезёнки
(окраска по Романовскому-Гимзе)**



Посев материала от животных проводят на:

- **желточные среды**

 - свернутая желточная среда Мак-Коя**

- **кровяной агар с добавлением глюкозы и цистеина (среда Френсиса)**

- **на агаре – беловатые, мелкие, выпуклые, блестящие колонии**

Колонии францизелл на желточном агаре



Идентификация чистой культуры:

– по биохимическим свойствам:

- ферментирует глюкозу, мальтозу, маннозу до кислоты без газа
- образует H_2S

– по антигенным свойствам:

реакция агглютинации на стекле

3) Серологический метод – 1-ый основной

- **развернутая РА**
- **развернутая РПГА**
- **РСК**
- **ИФА**

4) Метод кожно-аллергических проб – 2-ой основной

- Для постановки пробы используют **тулярин**
- **Тулярин** – это взвесь инактивированных нагреванием франциселл вакцинного штамма
- Вводится **0,1 мл внутрикожно** в ладонную поверхность предплечья (есть тулярин для **накожного** применения)
- Учет реакции производится через **24 - 72 часа**
- Результат считается **положительным**, если образуется **инфильтрат и гиперемия размером не менее 5 мм в диаметре**
- У вакцинированных или переболевших людей проба остаётся положительной несколько лет. У больных проба становится положительной с 3 – 5 дня болезни

Вакцина туляреми́йная живая



Вакцина туляремиальная живая

- содержит живые клетки *F. tularensis* вакцинного (**аттенуированного**) штамма
- штамм получен Н.А. Гайским и Б.Я. Эльбертом путём многократных пересевов францизелл на питательных средах
- Используется для профилактики туляремии по эпид. показаниям группам риска и лицам, проживающим на территории с природными очагами туляремии, ревакцинация – через 5