

**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 % CO<sub>2</sub>

# 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)

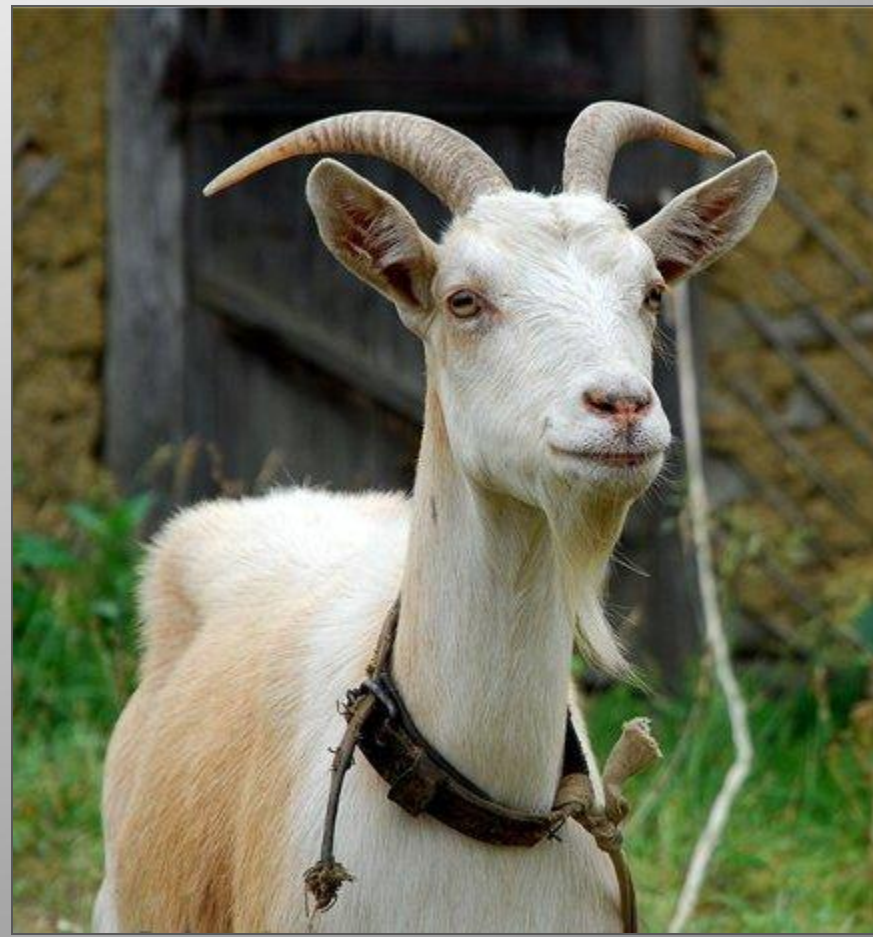
# Эпидемиология

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. Мочеполовая система**

# 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 % CO<sub>2</sub>

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)

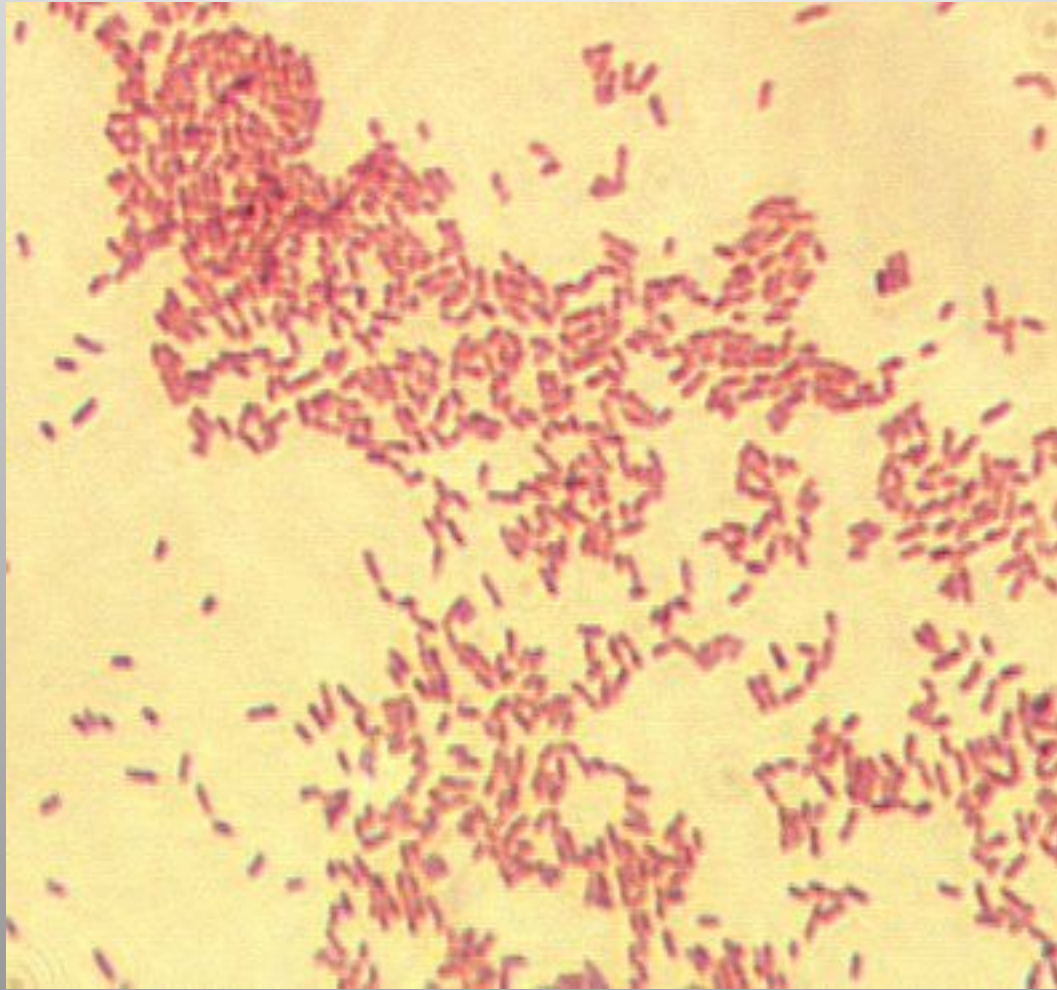
# Колонии бруцелл на печеночном агаре



# Колонии бруцелл на кровяном агаре



# Мазок из колоний, окраска по Граму



# Идентификация чистой культуры:

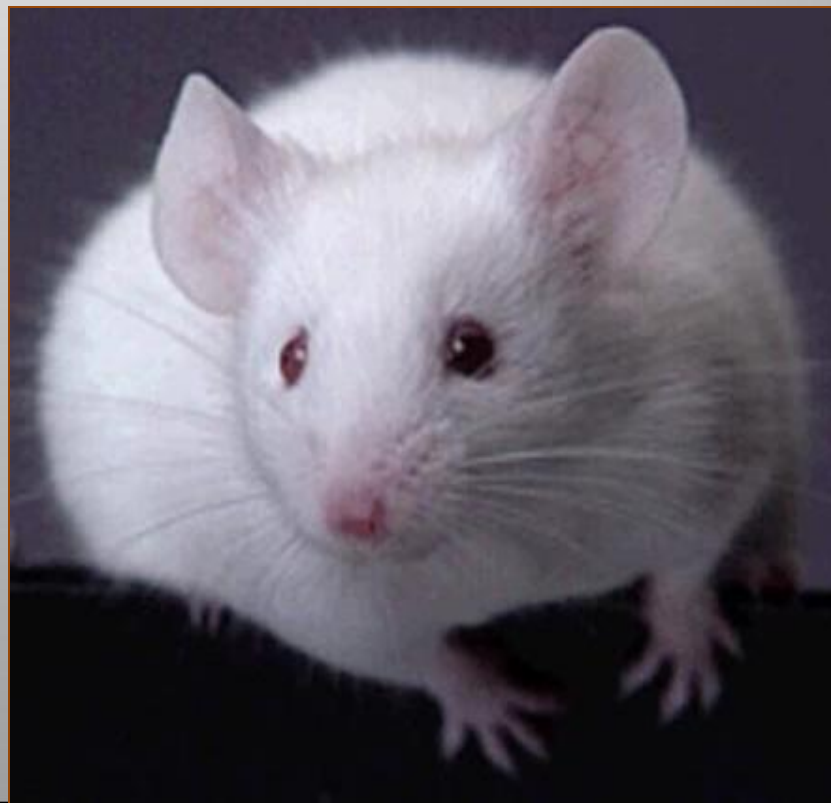
- по биохимическим свойствам:
  - ферментируют глюкозу и арабинозу **до кислоты** без газа
  - **не** образуют индол
  - для ***V. abortus*** образование  $H_2S$  **вариабельно**
  - ***V. melitensis*** **не образует**  $H_2S$
  - ***V. suis*** **образует**  $H_2S$
- по антигенным свойствам (**РА**)
- 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><b>I</b></p> <p><b>0,04 мл сыворотки пациента</b> + <b>0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</b></p>	<p><b>IV контроль диагностикума (Кд)</b></p> <p><b>0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</b> + <b>0,03 мл физ. раствора</b></p>
<p><b>II</b></p> <p><b>0,02 мл сыворотки пациента</b> + <b>0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</b></p>	<p><b>V контроль сыворотки (Кс)</b></p> <p><b>0,02 мл сыворотки пациента</b> + <b>0,03 мл физ. раствора</b></p>
<p><b>III</b></p> <p><b>0,01 мл сыворотки пациента</b> + <b>0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума</b></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) (**незавершенный 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 )



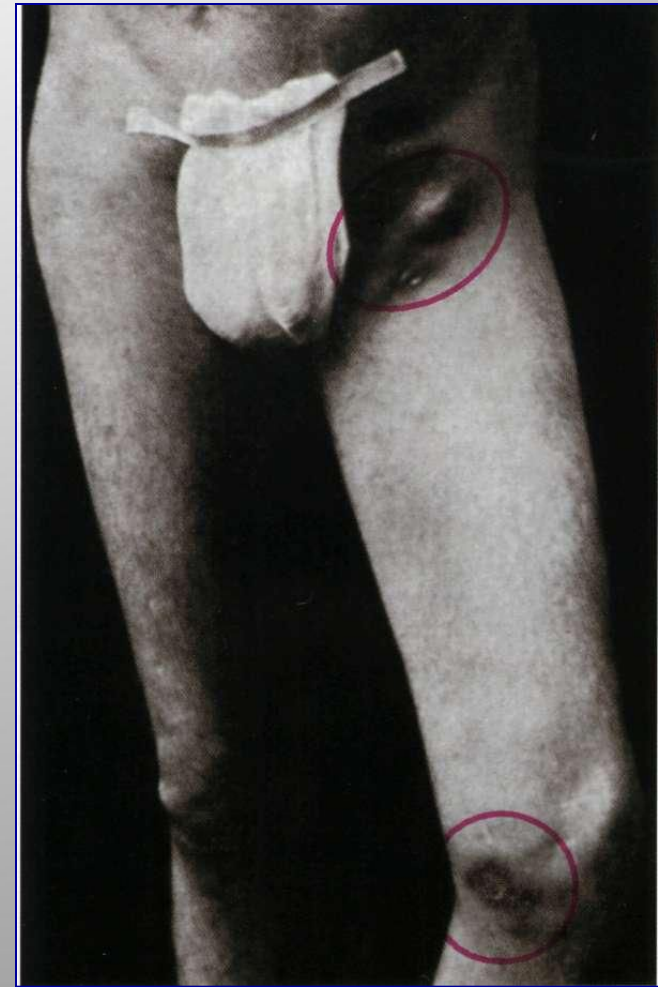
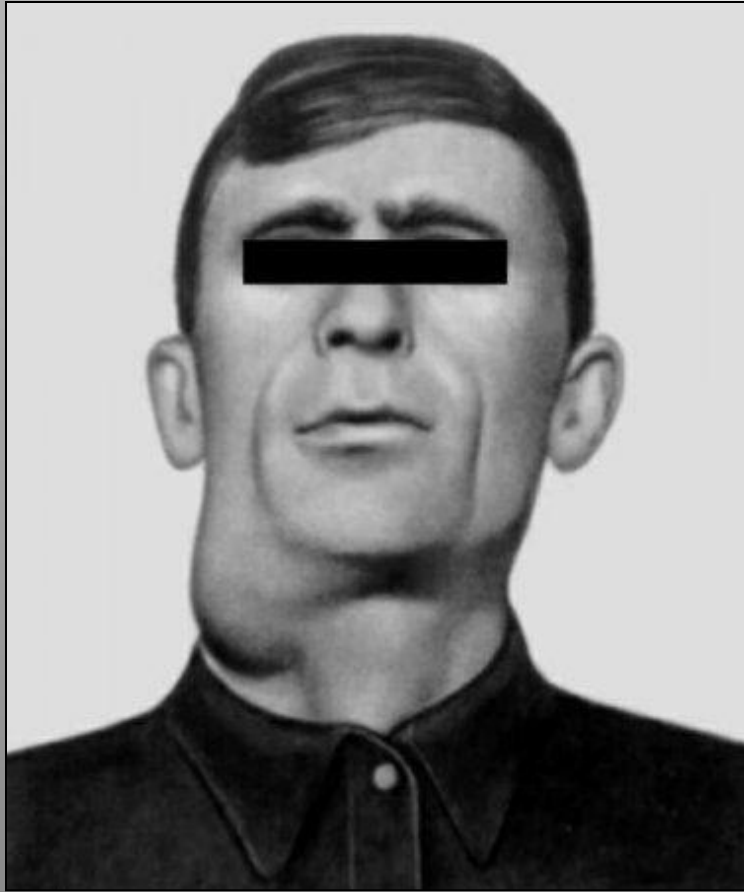
Нарушение барьерной функции л/у, проникновение в кровь, бактериемия и эндотоксинемия



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:**

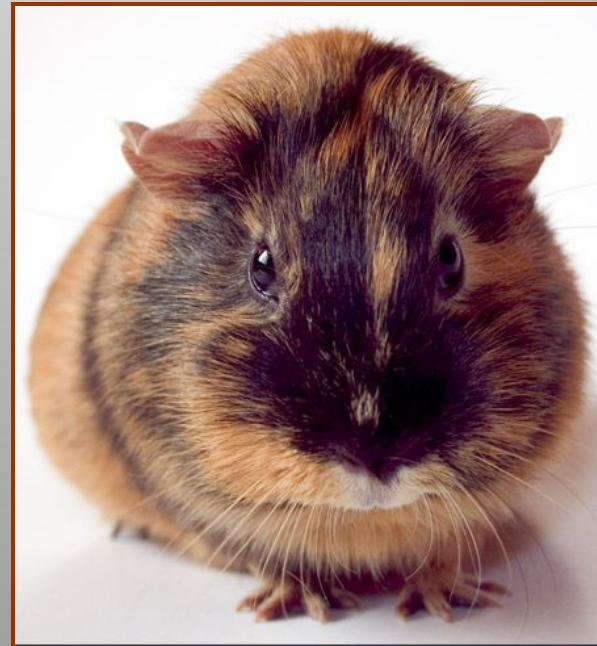
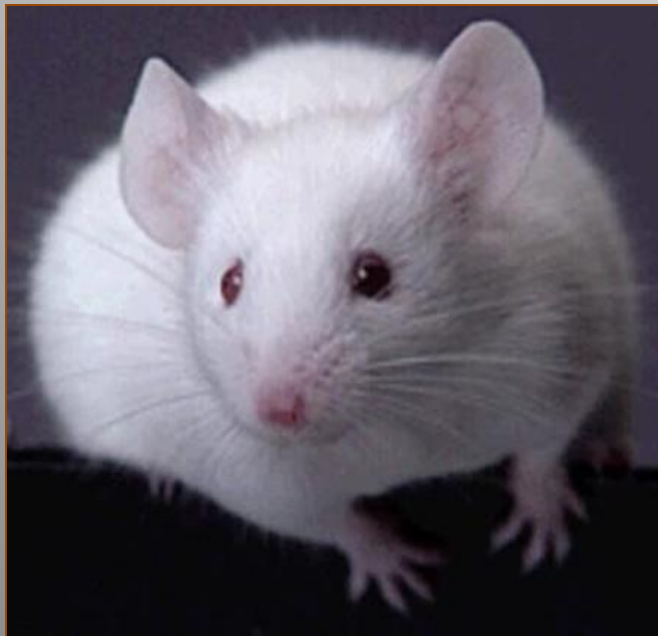
**1) Экспресс-метод**

- ПЦР
- РИФ
- ИФА

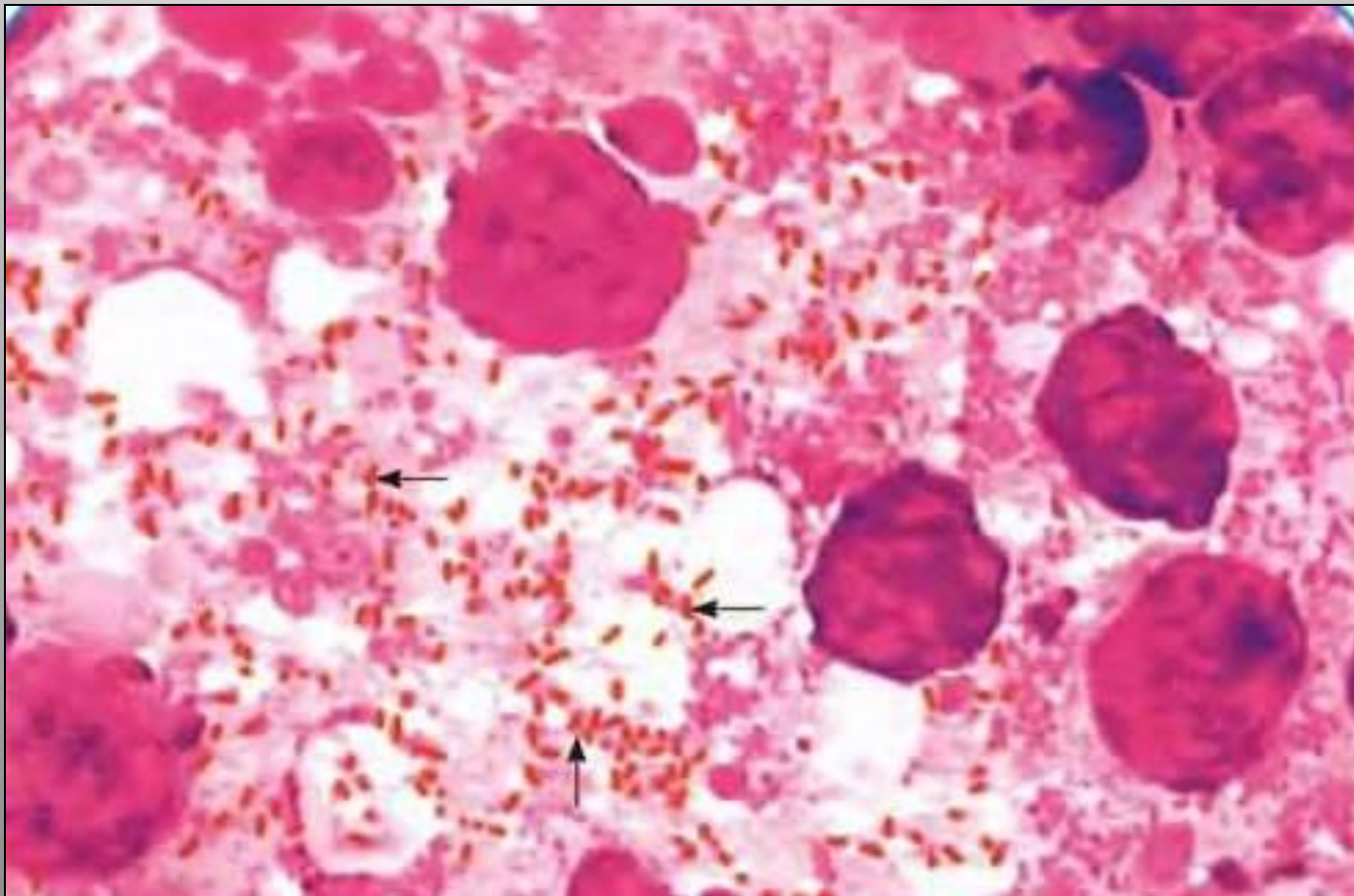
## 2) Бактериологический метод

**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**

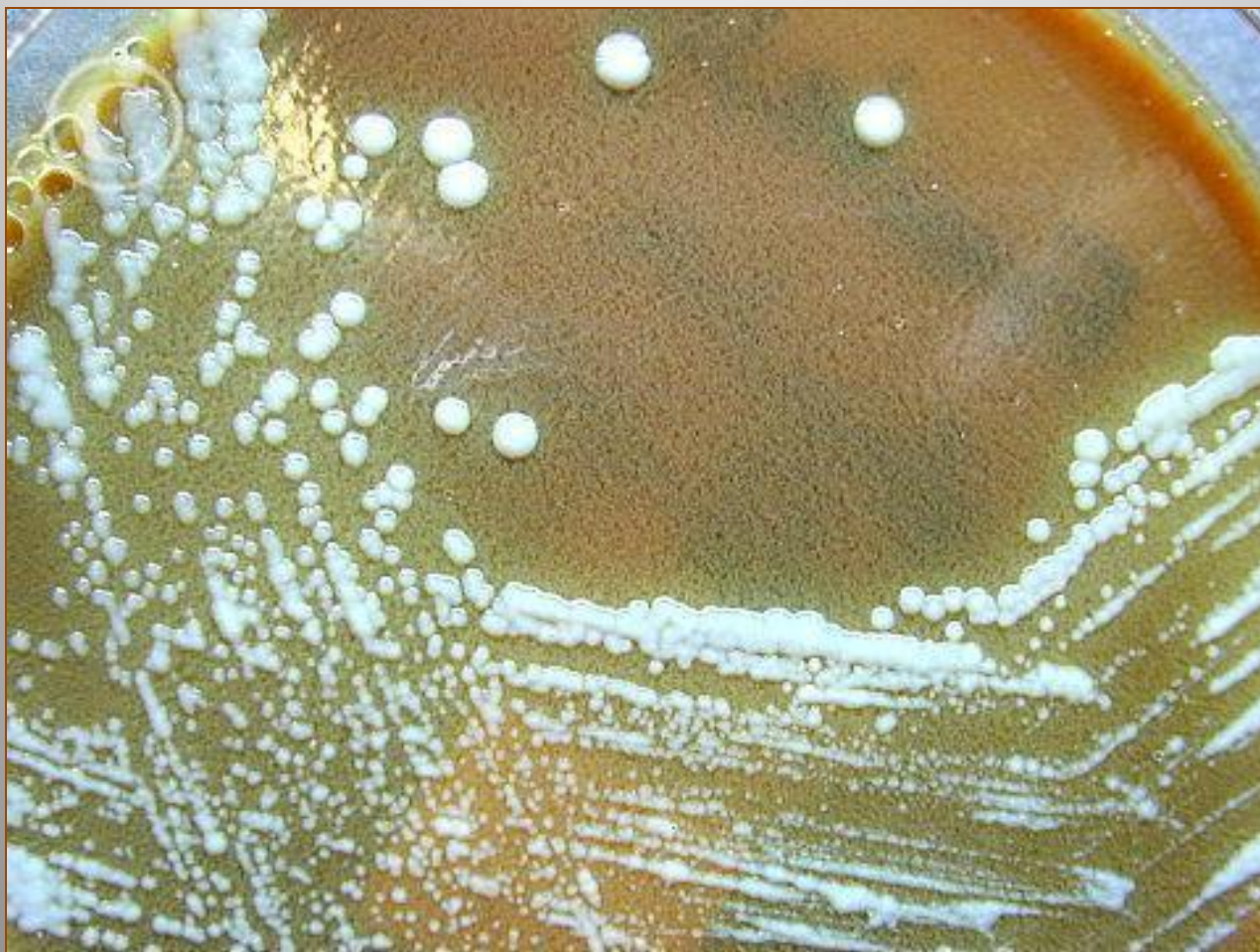
  - свернутая желточная среда Мак-Коя**

- **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 францизелл 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