

# СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ



- **Цель** — научиться применять полученные знания по общей микробиологии в частной на примере возбудителей зоонозных инфекций, используя знание механизма развития данных инфекций в организме человека и основных методов микробиологического исследования, применение которого необходимо будущим специалистам в рамках обязанностей врача.
- **Семейство:** Enterobacteriaceae
- **Род:** Yersinia
- **Вид:** *Y. pestis* — возбудитель чумы
- **Семейство:** Brucellaceae
- **Род:** Brucella
- **Виды:** *B. Melitensis*, *b. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis* — возбудители бруцеллеза.
- **Род:** Francisella
- **Вид:** *F. Tularensis* – возбудитель туляремии
- **Семейство:** Bacillaceae
- **Род:** Bacillus
- **Вид:** *B. anthracis* – возбудитель сибирской язвы

# I. Вопросы для обсуждения

- 1. Обсуждение теоретических и практических вопросов по теме занятия по общепринятой схеме.
- Стенд-информация по теме: «Возбудители бруцеллеза, чумы, сибирской язвы, туляремии».
- 1. РОД БРУЦЕЛЛ:
- а) демонстрация морфологии возбудителей бруцеллеза в мазках из чистой культуры и органов зараженных животных;
- б) демонстрация роста бруцелл на печеночном агаре;
- в) серодиагностика бруцеллеза, демонстрация реакции Райта и РПГА;
- г) демонстрация биопрепаратов: бруцеллезная вакцина, бруцеллин, бруцеллезный диагностикум.

- 2. РОД ИЕРСИНИЙ:
- а) демонстрация морфологии палочек чумы в мазках из чистой культуры и органов зараженных животных;
- б) демонстрация характера колоний;
- в) демонстрация биопрепаратов;
- г) возбудители псевдотуберкулеза, их свойства и методы диагностики.

- 3. РОД ФРАНЦИСЕЛЛ:
- а) демонстрация морфологии туляремийных палочек в мазках из чистой культуры и органов зараженных животных;
- б) демонстрация характера роста колоний на специальных средах;
- в) методы лабораторной диагностики;
- г) демонстрация биопреператов: вакцина тулярин, туляремийный диагностикум;

- 4. РОД БАЦИЛЛ:
- а) демонстрация морфологии сибиреязвенной палочки в мазках из чистой культуры;
- б) демонстрация роста колоний на МПА и МПБ;
- в) демонстрация реакции Асколи для обнаружения сибиреязвенного антигена.
- г) демонстрация биопрепаратов: вакцина, антраксин, иммуноглобулин;
- 5. Дать заключение о показании к вакцинации и способах приготовления и использования бактериальных препаратов при зоонозных инфекциях.

## II. Вопросы для самоподготовки:

### I. Контрольные вопросы:

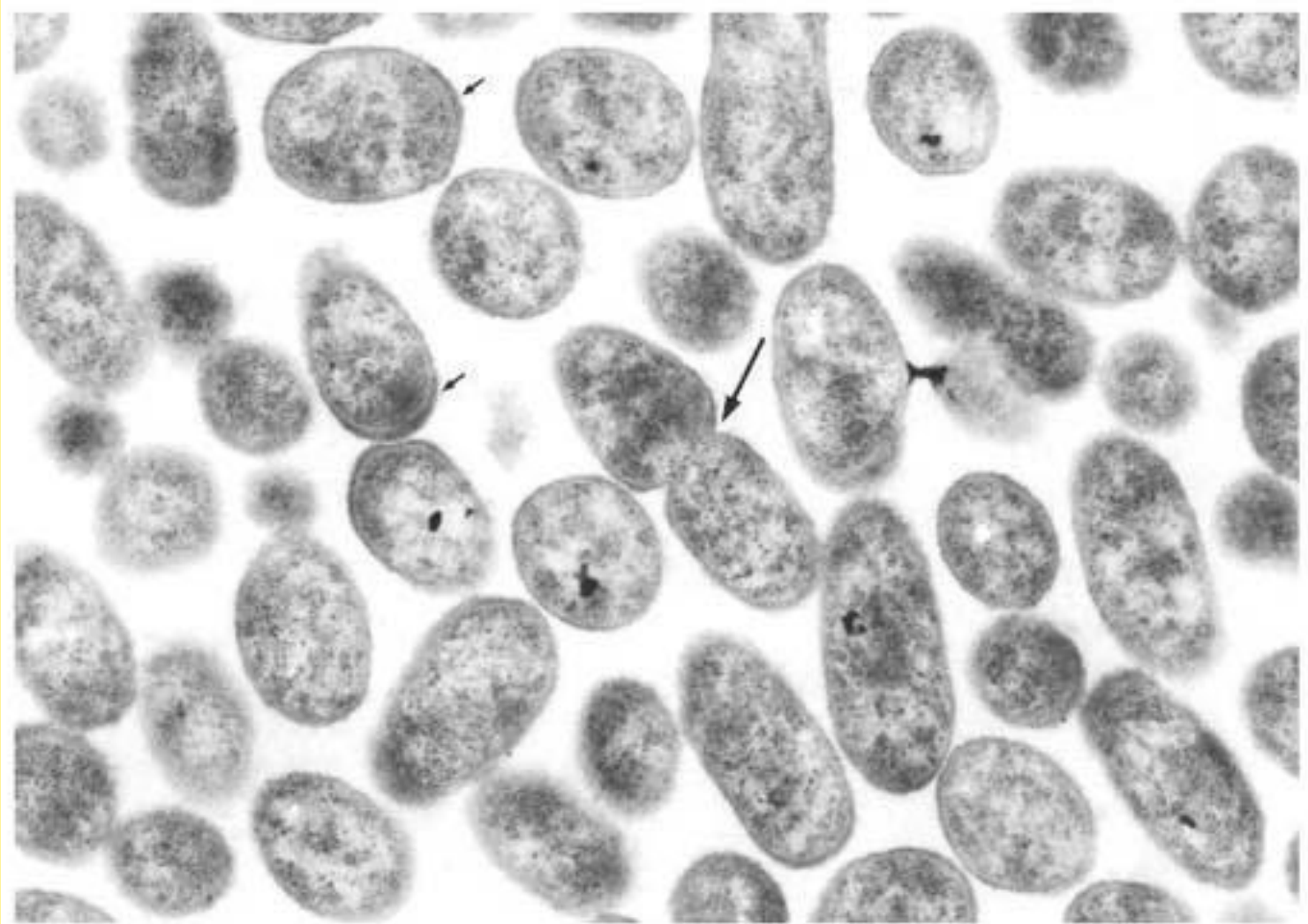
- а) Какие виды бруцелл вызывают бруцеллез у человека?
- б) Каковы основные хозяева бруцелл соответствующих видов?
- в) Каковы морфология и культуральные свойства различных видов бруцелл?
- г) Какой из видов бруцелл наиболее патогенен для человека?
- д) Каковы пути заражения бруцеллезом?
- е) Какие микробиологические методы применяются для диагностики бруцеллеза?
- ж) Какой берется от больного материал для выделения возбудителя бруцеллеза? Как осуществляется выделение возбудителя из разного материала?
- з) Какими методами осуществляется серологическая диагностика бруцеллеза? Какова техника постановки серологических реакций?
- и) Как производится оценка реакции Райта? Какова ее диагностическая ценность?
- к) Как ставится аллергическая проба Бюрне? Через сколько времени и как производится ее оценка?
- л) С какого дня заболевания рекомендуется ставить реакцию Райта и пробу Бюрне?
- м) Что такое бруцеллин и как его получают?
- н) Как производится специфическая профилактика бруцеллеза? Как производится отбор лиц, подлежащих специфической вакцинации?

- **Бруцеллез** – зоонозное инфекционно – аллергическое заболевание с волнообразным течением, лихорадкой, поражением опорно – двигательного аппарата, сердечно – сосудистой, нервной и др. систем.

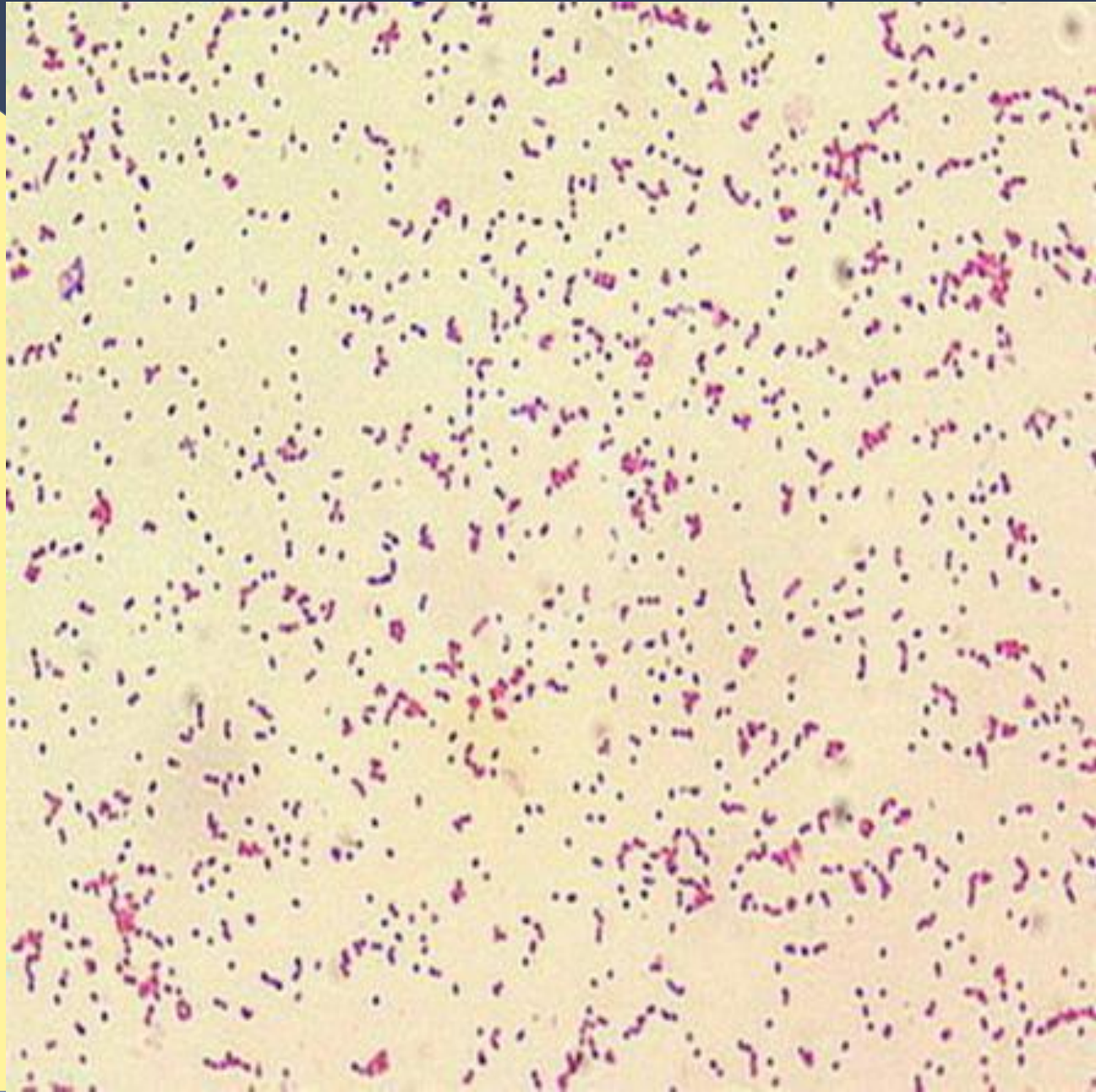
Виды	Болезнь
Brucella Melitensis	Бруцеллез коз, овец человека
Brucella Abortus	Бруцеллез крупного рогатого скота, человека
Brucella Suis	Бруцеллез свиней, человека
Brucella Canis	Бруцеллез собак
Brucella Ovis	Бруцеллез овец
Brucella Neotomae	Бруцеллез крыс, морских свинок, мышей



# Brucella melitensis



# Brucella Abortus



# Морфология бруцелл

- **Бруцеллы** обладают сходными морфологическими, тинкториальными и культуральными свойствами. Они представляют собой грамотрицательные мелкие кокковидные клетки диаметром 0,5-0,7 мкм и длиной 0,6-1,5 мкм, располагаются беспорядочно, иногда парами, не имеют жгутиков, не образуют спор и капсул. Содержание Г + Ц в ДНК составляет 56-58 мол %.

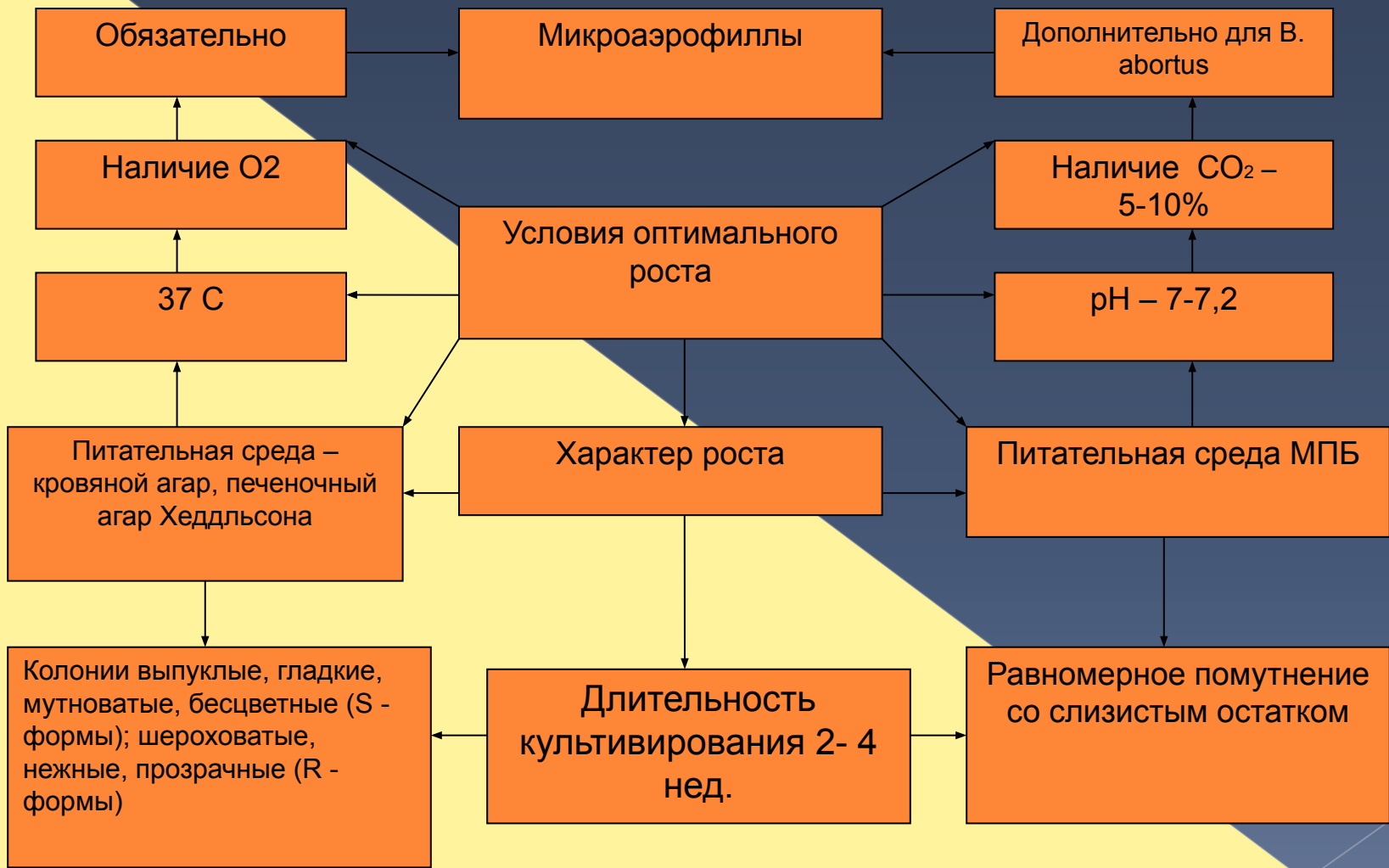
# Культуральные свойства

- Бруцеллы являются аэробами или микроаэрофилами, в анаэробных условиях не растут. Температурный оптимум для роста 36-37 °С; рН 7,0-7,2; хорошо растут на обычных питательных средах, но лучше - с добавлением сыворотки или крови. Рекомендуемые среды: питательный агар с добавлением сыворотки (5 %) и глюкозы; агар, приготовленный на картофельном настое, с добавлением 5 % сыворотки; кровяной агар; мясо-пептонный бульон. Особенностью *Brucella abortus* является потребность ее в повышенном содержании CO<sub>2</sub> (5- 10 %) в атмосфере роста. Очень характерен для бруцелл медленный рост, особенно в первых генерациях: при высеве от человека и животных рост иногда появляется через 2-4 нед. Колонии бруцелл бесцветны, выпуклые, круглые - S-формы, или шероховатые - R-формы, нежные и прозрачные вначале, с возрастом мутнеют.
- Колонии *Brucella canis*, *Brucella ovis* и 5-го биотипа *Brucella suis* всегда имеют R-форму. Рост бруцелл в бульонных средах сопровождается равномерным помутнением. Для роста бруцелл необходимы тиамин, биотин, ниацин. Бруцеллы ферментируют глюкозу и арабинозу с образованием кислоты без газа, не образуют индола, восстанавливают нитраты в нитриты. Образование сероводорода наиболее сильно выражено у *Brucella suis*.



# Культуральные свойства

- Аэробы, капнофилы. Требовательны к питательным средам, на простых питательных средах не растут, растут на сложных питательных средах (сывороточно- декстрозной и кровяной агар). Характеризуются медленным ростом на питательных средах, посевы инкубируют не менее 3 нед. В жидких средах вызывают равномерное потемнение с небольшим осадком, но без пленки на поверхности. На плотных средах формируют очень мелкие круглые выпуклые гладкие прозрачные голубовато – серые колонии. Гемолиза не дают, пигмента не образуют. Температурный оптимум роста 37°C, оптимум pH 6,6 – 7,4. Под действием антибиотиков превращается в L – формы. Хорошо культивируется в желточном мешке эмбриона.



# Пути заражения бруцеллезом

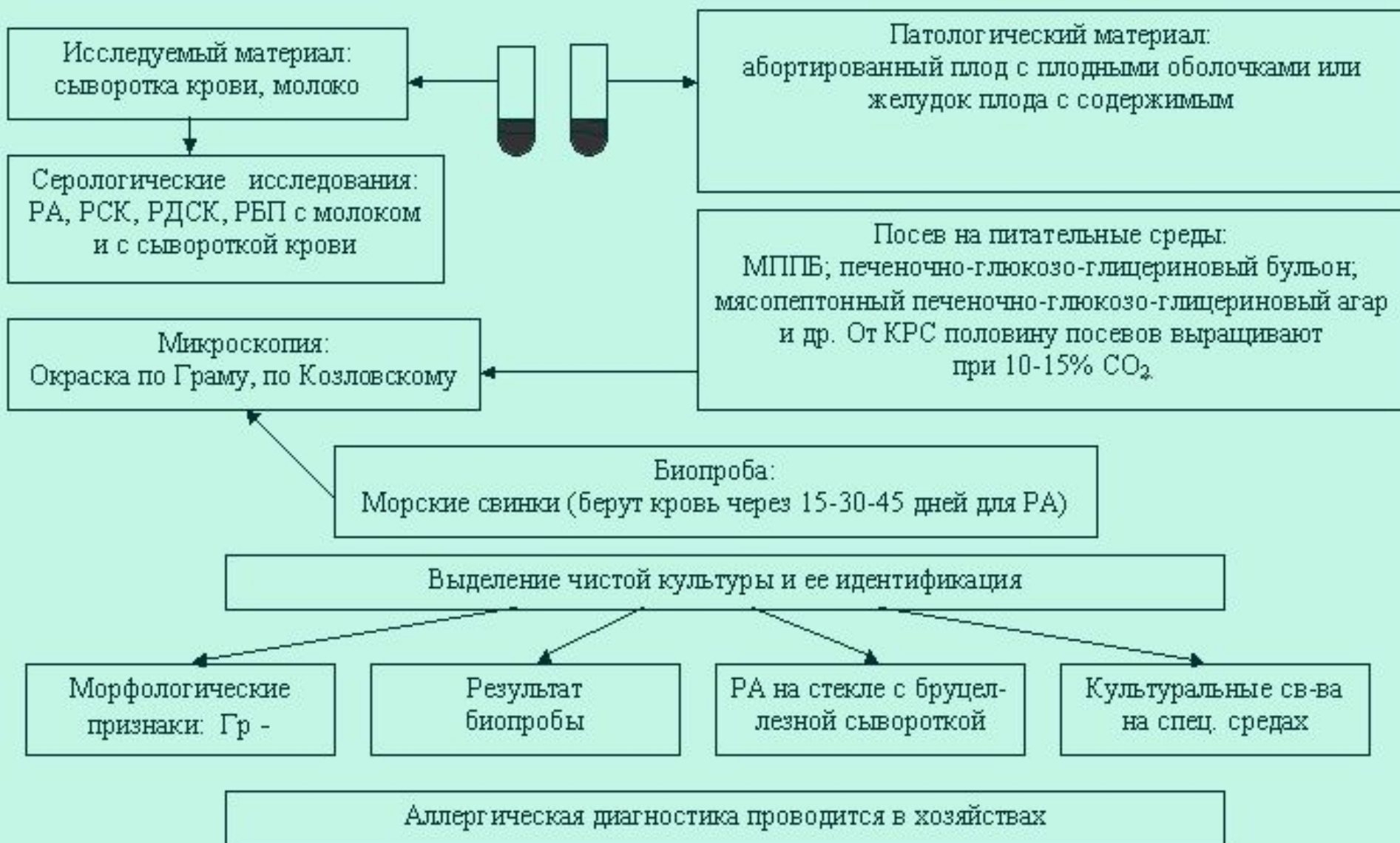
Эпизоотический процесс среди домашних животных поддерживается за счет фекально-орального механизма передачи бруцеллеза. Человек заражается бруцеллезом, в основном, алиментарным путем — при потреблении зараженных молока и молочных продуктов, а также при использовании в пищу недостаточно термически обработанного или сырого мяса. Отмечается также контактное заражение людей, профессионально связанных с домашними животными (ветеринары, зоотехники, животноводы, доярки, пастухи и т. п.). Это так называемое контактное заражение происходит при заносе контаминированными руками возбудителя на слизистые оболочки ротовой полости. Таким образом, профессиональная заболеваемость также связана с инфицированием через пищеварительный тракт. Не исключено, хотя и маловероятно, заражение бруцеллезом при микротравмах, ведущих к нарушению целостности кожных покровов. Контактное заражение особенно часто реализуется при родах, абортах, при снятии шкурок погибших и забитых родившихся ягнят. Хотя бруцеллы хорошо переносят высушивание в выделениях животных, однако, по-видимому, воздушно-пылевое заражение не происходит даже при высокой контаминации внешней среды околоплодной жидкостью и последом abortировавших или родивших животных. Об этом говорит, в частности, тот факт, что первичной легочной формы бруцеллеза не наблюдается. Ряд авторов отмечают возможность поражения бронхов и даже развития пневмонии, но только как результат осложнений.

# Микробиологические методы применяются для диагностики бруцеллеза

- 1. Бактериологический метод
- 2. Биологический метод
- 3. Серологический метод
- 4. Аллергический метод



# Схема лабораторной диагностики бруцеллеза









# Реакции Райта

- Райта реакция (A. E. Wright) — серологический метод лабораторной диагностики бруцеллезной инфекции. Реакция Райта высоко специфична и становится положительной с самого начала болезни. Наиболее высокие титры реакции Райта (80% и выше) обычно наблюдаются через 1—2 мес. после начала заболевания и сохраняются на протяжении лихорадочного периода. В дальнейшем титры реакции начинают падать, и к концу первого года заболевания реакция Райта, как правило, становится отрицательной. Появление и накопление агглютининов в крови больных бруцеллезом зависят от степени антигенного раздражения. Поэтому наиболее высокие показатели титров агглютининов наблюдаются в фазе бактериемии, резко снижаясь по мере затухания инфекционного процесса.

Иногда реакция Райта сохраняется положительной до 2—3 и даже 5 лет после перенесенного заболевания. Однако в этих случаях следует иметь в виду возможность повторного заражения и рецидивов заболевания. В некоторых случаях классического бруцеллеза, подтвержденного выделением гемокультуры и положительной аллергической пробой, реакция Райта может быть отрицательной; это возможно при заражении организма измененным в антигенном отношении штаммом бруцелл. Благодаря некоторой общности в антигенной структуре слабоположительные результаты реакции Райта могут быть у людей, инфицированных возбудителями туляремии, холеры, и при некоторых других инфекционных заболеваниях, а также у лиц, вакцинированных против этих инфекций. Слабоположительная реакция Райта (в разведениях 1:50 и 1:100) иногда наблюдается и у здоровых женщин в последние недели беременности. Повторная постановка реакции Райта (наблюдение за ее динамикой) позволяет дифференцировать специфическую реакцию Райта от неспецифической, так как повышение титров указывает на наличие бруцеллезной инфекции.

Существенную роль в реакции Райта играет подбор штаммов для приготовления диагностикума (диссоциированные штаммы для этой цели не пригодны), а также концентрация применяемой микробной взвеси. Кроме антигена, источником ошибок может быть и исследуемая сыворотка.

Она должна быть свежей, негемолизированной, прозрачной (без эритроцитов и пр.) и без признаков прорастания посторонней микрофлорой.

При постановке реакции Райта иногда наблюдаются так называемые проагглютинационные зоны, т. е. отрицательный результат с малыми разведениями сыворотки и четко выраженный положительный результат при более высоких разведениях; возможно также выпадение агглютинации в средней части ряда разведений. Явление это чаще наблюдается при высоких титрах сывороток и делает необходимым применение длинного ряда разведений. Появление феномена зоны, по-видимому, связано с наличием в сыворотках крови неполных (блокирующих) антител. Сыворотку крови для исследования получают обычным способом. Реакцию Райта ставят всегда с двумя контролями: а) контроль каждой из исследуемых сывороток для исключения ложной агглютинации за счет выпадения белков самой сыворотки и б) контроль антигена — одна пробирка при любом количестве исследуемых сывороток — для исключения спонтанной агглютинации антигена.

- Физиол. раствор, применяемый для разведения сыворотки и антигена, должен изготавливаться на дистиллированной воде нейтральной реакции ( $\text{pH}=6,9\text{—}7,1$ ) и во избежание прорастания содержать 0,5% карболовой кислоты. Реакцию Райта ставят не менее чем в пяти разведениях (1:50, 1:100, 1:200, 1:400 и 1:800) в объеме 1 мл каждое. В качестве антигена применяют диагностикум, подтитрованный по национальной стандартной противобруцеллезной агглютинирующей сыворотке. Перед употреблением диагностикум разводят в 10 раз карболизированным (0,5%) физиологическим раствором. В 1 мл разведенного диагностикума содержится около  $6\text{--}10^9$  микробных клеток.

Учет реакции производят через 24 часа путем сравнения степени просветления в опытных пробирках с соответствующим стандартом мутности, который готовят следующим образом. В 4 пробирки последовательно наливают 1, 2, 3 и 4 мл разведенного диагностикума, затем в том же порядке добавляют 3, 2 и 1 мл карболизированного физиологического раствора, в последнюю пробирку ничего не добавляют. После взбалтывания содержимого берут по 0,5 мл антигена каждой концентрации и 0,5 мл карболизированного физиологического раствора. Таким образом получают 4 пробирки стандарта мутности с различной степенью просветления (75% — 3 —, 50% — 2 — и 25% — 1 — и отсутствие просветления), которые вместе с опытными пробирками помещают в термостат при  $t^{\circ} 37^{\circ}$  на 24 часа, после чего производят учет реакции. Для единой системы учета в настоящее время рекомендуют выражение титров сывороток в международных единицах антител (МЕ). Диагностическим титром исследуемой сыворотки считается 50% агглютинации (2+).



○ Перечисление титра сыворотки на международные единицы производят следующим образом. Стандартизированный диагностикум со стандартной противобруцеллезной агглютинирующей сывороткой, содержащей 1000 МЕ антител в 1 мл, дает 50% агглютинации в разведении этой сыворотки 1 : 500. Следовательно, титры исследуемой сыворотки 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 и т. д. с применением стандартизированного диагностикума указывают на то, что в 1 мл исследуемой сыворотки содержится 100, 200, 400 и т. д. международных единиц антител. Таким образом, перечисление титра исследуемой сыворотки на международные единицы производят путем его удвоения. При диагностической оценке результатов реакции агглютинации рекомендуется следующая схема: титр сыворотки 1 : 50 (100 МЕ) — результат сомнительный, 1 : 100 (200 МЕ) — слабо положительный, 1 : 200 (400 МЕ) — положительный, 1 : 200 и выше (800 МЕ) — резко положительный.

# Аллергическая проба Бюрне

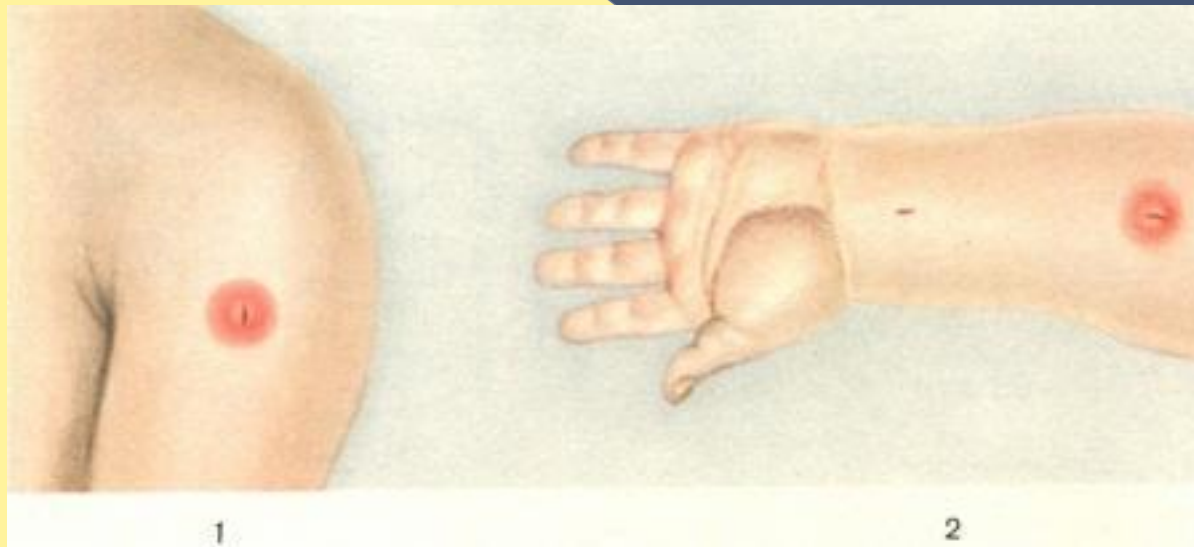
- Аллергическая кожная проба (Бюрне) нашла широкое применение. Проба вполне специфична и отличается весьма высокой чувствительностью. Определяет способность организма, зараженного бруцеллезом, специфически отвечать местной реакцией кожи на внутрикожное введение бруцеллина — фильтра 3-недельного роста бульонной культуры бруцелл любого типа. Реакция становится положительной на 3—4-й неделе от начала болезни, но бывают случаи и более раннего появления. В дальнейшем она сохраняется с большим постоянством на протяжении очень длительного периода (иногда до нескольких лет), даже после полного клинического выздоровления.
- Нередко диагноз бруцеллеза ставится только на основании положительной реакции Бюрне при отрицательных серологических данных. В этих случаях необходим особенно тщательный дифференциально-диагностический подход к вопросу, чтобы исключить всевозможные заболевания с аналогичной клинической картиной.
- В эпидемических очагах реакция Бюрне может быть положительной у людей, никогда не болевших клинически выраженным бруцеллезом. Положительный результат реакции Бюрне еще не является доказательством активного бруцеллеза и в то же время не исключает другого заболевания.

○ Для постановки реакции Бюрне бруцеллин в дозе 0,1 мл вводят строго внутрикожно в среднюю треть ладонной поверхности предплечья. Через 6—12 часов на месте инъекции появляется отек и покраснение, которые достигают максимального развития через 24 и 48 часов, после чего постепенно угасают. Однако необходимо помнить, что в редких случаях внутрикожная проба становится положительной к 72 часам — это так называемые поздние реакции. При оценке реакции принимают во внимание главным образом воспалительный болезненный отек; гиперемия кожи на месте инъекции без отека диагностического значения не имеет. Отсутствие болезненности и изменение цвета кожи, обычно сопровождающих отек, не исключает положительной оценки пробы.

○ Обычно в практике интенсивность реакции учитывается соответственно рекомендации Б. П. Первушина (1947) следующим образом: 1) отрицательная реакция (—) — полное отсутствие местных изменений; 2) сомнительная реакция ( $\pm$ ) — наличие асимметрии кожной складки по сравнению с контрольной; 3) слабо положительная (+) — наличие слабо выраженного отека и красноты диаметром 2—3 см; 4) положительная реакция (++) — наличие отека диаметром 4—5 см, иногда с аденитом; 5) резко положительная (+++) — при отеке 6—8 см с аденитом.

- Степень интенсивности внутрикожной аллергической реакции в основном зависит от индивидуальной чувствительности организма.
- Реакция на введение бруцеллина обычно ограничивается только местными явлениями, общая реакция, как правило, отсутствует, но в редких случаях у высокосенсибилизированных лиц местная реакция сопровождается лимфангитом, иногда повышением температуры, головной болью, общим недомоганием.
- Интенсивность кожной реакции в течение бруцеллеза варьирует в широких пределах. Время угасания кожной сверхчувствительности к бруцеллину может быть обусловлено и такими факторами, как интеркуррентное заболевание, интоксикация, охлаждение и т. д. Н. Д. Беклемишев (1965) наблюдал десенсибилизацию под влиянием солнечных ванн, физиопроцедур.
- Динамичность реакции Бюрне, по данным Б. П. Первушина (1962), отражает иммунологическое состояние организма, и сохранение ее в течение длительного времени свидетельствует о высокой резистентности организма к суперинфекции. Нами аллергическая проба Бюрне была проведена в стационаре у 265 детей. Полученные результаты представлены в табл. 6, причем сомнительные результаты объединены с отрицательными, слабо положительные — с положительными.

- Из приведенных данных видно, что положительные результаты реакции Бюрне могут наблюдаться при всех формах бруцеллеза, но с наибольшей частотой они встречаются при хронических формах бруцеллеза.
- Необходимо иметь в виду, что реакция Бюрне становится положительной и после вакцинации живой бруцеллезной вакциной. Она появляется через 1 — 1,5 месяца после вакцинации, бывает ясно выраженной в период от 2—3 до 12—13 месяцев, после чего начинает угасать.



# Бруцеллин

- (brucellinum) фильтрат 30-дневной бульонной культуры трех типов бруцелл, применяемый в качестве аллергена для диагностики и специфического лечения бруцеллеза.
- Brucellinum
- **Состав и форма выпуска**
- **Бруцеллин** — ампулы по 1 мл, по 10 ампул в упаковке.
- **Лечебные свойства**
- Диагностическое средство.
- **Показания к применению**
- Бруцеллин применяется для диагностики бруцеллеза у людей и выявления иммунологической перестройки организма после вакцинации.
- **Правила применения**
- Бруцеллин вводят внутрикожно в дозе 0,1 мл в ладонную поверхность предплечья.
- **Рецепт на Бруцеллин**
- Rp.: Brucellini 1,0 D. t. d. N 10 in amp. S.

# Специфическая профилактика бруцеллеза

- В настоящее время на основании клинико-лабораторных исследований в настоящее время вакцинация рекомендуется только в очагах **бруцеллеза**, вызванного *Br.melitensis*, т.е. в очагах козье-овечьего типа живая **противобруцеллезная** вакцина, приготовленная из штамма ВА-19.
- Вакцина вводится подкожно в область наружной поверхности верхней трети плеча, объем 0,75 мл. Ревакцинация - 10-12 месяцев. Хотя вакцинация ведет к резкому снижению заболеваемости среди привитых, она не обеспечивает полного предупреждения заболевания.
- Так, из общего числа заболевших острым и подострым **бруцеллезом** 45% составляют лица, привитые **противобруцеллеза** в оптимальные сроки.



# Чума

- Чума́ (лат. *pestis* — зараза) — острое природно-очаговое инфекционное заболевание группы карантинных инфекций, протекающее с исключительно тяжёлым общим состоянием, лихорадкой, поражением лимфоузлов, лёгких и других внутренних органов, часто с развитием сепсиса. Заболевание характеризуется высокой летальностью и крайне высокой заразностью.
- В природных очагах источниками и резервуарами возбудителя инфекции являются грызуны — сурки, суслики и песчанки, мышевидные грызуны, крысы (серая и черная), реже домовые мыши, а также зайцеобразные, кошки и верблюды. Переносчики возбудителя инфекции — блохи различных видов[1].
- Возбудителем является чумная палочка (лат. *Yersinia pestis*), открытая в июне 1894 года французом Александром Иерсеном.
- Инкубационный период длится от нескольких часов до 3—6 дней. Наиболее распространённые формы чумы — бубонная и лёгочная. Смертность при бубонной форме чумы достигала 95 %, при лёгочной — 98-99 %. В настоящее время при правильном лечении смертность составляет 5-10 %[2]
- Известные эпидемии чумы, унёсшие миллионы жизней, оставили глубокий след в истории всего человечества.



# Виды чумы

- **чума бубонная** (р. bubonica) — клиническая форма Ч., развивающаяся при проникновении возбудителя через кожу и характеризующаяся образованием резко болезненных бубонов, высокой лихорадкой и выраженной интоксикацией.
- **чума вторично-септическая** (р. secundarioseptica) — клиническая форма Ч., развивающаяся при гематогенной генерализации процесса из первичного аффекта (бубона), наличие которого отличает данную форму от первично-септической Ч.
- **чума кожно-бубонная** (р. cutaneoobubonica) — клиническая форма Ч., сходная с бубонной Ч., но отличающаяся от нее образованием пустул, язв или карбункулов на коже в месте проникновения возбудителя.

- **Чума легочная вторичная** (р. *pulmonalis secundaria*) — клиническая форма Ч., возникающая в результате гематогенного заноса возбудителя в легкие из первичного аффекта (бубона), характеризующаяся крайней тяжестью течения с развитием геморрагической пневмонии; представляет высокую опасность в эпидемиологическом отношении.
- **Чума легочная первичная** (р. *pulmonalis primaria*) — клиническая форма Ч., возникающая при аспирационном пути заражения, характеризующаяся крайней тяжестью течения, быстрым развитием геморрагической пневмонии с резкой интоксикацией; представляет высокую опасность в эпидемиологическом отношении.
- **Чума первично-септическая** (р. *primarioseptica*) — клиническая форма Ч., развивающаяся при массивном заражении и малой сопротивляемости организма, характеризующаяся быстрой гематогенной генерализацией инфекции без местных явлений, тяжелой интоксикацией, выраженным геморрагическим синдромом, расстройствами ц. н. с. и сердечно-сосудистой системы.

# Морфология возбудителя чумы

- Чума относится к особо опасным инфекциям и является типичным зоонозом с природной очаговостью. Грызуны (суслики, сурки, мыши, крысы) являются резервуаром инфекции в природе и передают ее один другому главным образом через блох. От больных грызунов, также через блох, может заразиться человек, что ведет в дальнейшем к вспышкам чумы среди людей.

Морфология. Возбудитель - *Yersinia pestis* относится к роду иерсиния, семейству энтеробактерий. Представляет собой неподвижную, закругленную на конце овоидную палочку размерами (1,5-2) на (0,5-0,7) мкм. Описан полиморфизм возбудителей чумы с появлением удлиненных зернистых, нитевидных и фильтрующихся форм.

Возбудитель чумы не образует спор, имеет капсулу, грамотрицателен, легко окрашивается анилиновыми красителями (более интенсивно на концах - биполярное окрашивание). В мазках из бульона бактерии чумы располагаются цепочками различной длины обычно с хорошо выраженной биполярностью. На агаре с 3 % поваренной соли можно обнаружить причудливые формы.

Микроб чумы при культивировании на искусственных питательных средах в условиях повышенной температуры (37 °C) образует капсулы. Капсула лучше образуется на влажных и слегка кислых питательных средах. Жгутики отсутствуют.

# Культуральные свойства

- возбудитель чумы факультативный анаэроб. Хорошо растет на обычных жидких и питательных средах (мясопептонный агар, бульон) при температуре 25-30 °С. Для стимуляции роста микроба чумы целесообразно прибавлять в питательную среду сульфит натрия, гемолизированную кровь, которые синтезируют дыхательные ферменты. На агаровых пластинах рост микроба чумы уже через 24 часа заметен в виде нежного сероватого налета.

Колонии на агаре соответствуют R форме (вирулентные); начало развития колонии обнаруживается в виде появления очень маленьких рыхлых глыбок и затем плоских слоистых образований с неровными краями, напоминающих кружевной платочек серовато-белого с голубоватым оттенком цвета. Колониям присущ полиморфизм.

На бульоне культура растет в виде хлопьев, взвешенных, в совершенно прозрачной жидкости с рыхлым осадком на дне. Возбудители чумы восстанавливают нитриты в нитраты, ферментируют с образованием пленки глюкозу, левулезу, мальтозу, галактозу, арабинозу, ксилозу и маннит, продуцируют дегидразы и уреазы. Желатин не разжижают, индол и сероводород не образуют.

# Устойчивость возбудителя чумы

- вне организма к воздействию факторов среды неравнозначна. Понижение температуры увеличивает сроки выживания бактерий, на пищевых продуктах и предметах обихода они сохраняются до 3 мес, в гное бубонов - 40 дней, в крови и мокроте - 1 мес и более. При температуре 55 °С они погибают через 10-15 мин, при 100 °С - спустя несколько секунд. Обычные дезинфекционные средства в рабочих концентрациях (сулема 1 : 1000, 3-5 % раствор лизола, 3 % раствор карболовой кислоты, 10 % раствор известкового молока), антибиотики (стрептомицин, тетрациклин, левомицетин) оказывают губительное действие на палочку чумы. Бактерии чумы образуют эндо- и экзотоксин, содержат до 20 антигенов.

# Антигенная структура возбудителя чумы.

Чумная палочка содержит О-антиген (эндотоксин), похожий на антиген многих грамотрицательных бактерий, токсичный для животных и человека. Липополисахаридно-белковые комплексы О-антигена классифицируют на основе химических и антигенных характеристик на «гладкие» (S) и «шероховатые» (R); последние — общие для *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*. Также выделяют разнообразные (до конца не исследованные) антигены, роль которых как факторов вирулентности неясна. Фракция 1 (F1-антиген чумы) представлена поверхностным пликотепеиновым антигеном (капсульным антигеном). Она предохраняет бактерии от поглощения фагоцитами и, не оказывая токсического действия, проявляет иммуногенные свойства. Активатор плазминогена чумы — протеаза, активирующая лизис фибриновых сгустков, препятствующих диссеминированию возбудителя, и инактивирующая C3b и C5a компоненты комплемента. V/W (Vi)-антиген чумы состоит из белка (V-фракции) и липотепеина (W-фракции). Он проявляет антифагоцитарные свойства и способствует внутриклеточному размножению бактерий. Штаммы, содержащие только V/W-Ag, вирулентны для мышей. Мышиный токсин чумы — антагонист адренергических рецепторов, представлен белковоподобным веществом, локализованным внутриклеточно; LD50 для мышей менее 1 мг (также токсичен для крыс), вызывает шок и смерть лабораторных животных. Бактериоциногенез. Возбудитель чумы выделяет бактериоцины (пестинины), обладающие иммуногенными свойствами.

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

- **Бактериологическое исследование**
- посевы исследуемого материала производят на агар добавлением стимуляторов роста (кровь, сульфит натрия). При исследовании материала, обильно загрязненного посторонней микрофлорой (загнившие трупы, мокрота) к агару добавляют генциановый фиолетовый 1 : 100 000. В случаях подозрения на наличие бактериофага посевы обрабатывают антифаговой сывороткой. Инкубацию посевов проводят при 28 °С. В положительных случаях через 12 ч появляются колонии в виде характерных "кружевных платочков".

# Когда чистая культура выделена путем прямого посева она подлежит идентификации на основании следующих данных

- внешний вид колонии на агаре;
- характерный рост на бульоне;
- типичная морфология микробов в мазках и отрицательная окраска по Граму;
- типичная патологоанатомическая у лабораторных животных при заражении их чистой культурой;
- агглютинация со специфической сывороткой;
- отношение к специфическому бактериофагу



# Лабораторная диагностика Чумы

- Серологические реакции в практике нашли широкое применение. Они используются при подозрительных на чуму заболеваниях для ретроспективного диагноза, при обследовании природных источников чумы. С этой целью применяют иммуноферментную агглютинацию, реакцию пассивной гемагглютинации, реакции непрямой агглютинации. Экспресс-методом является люминесцентно-серологический, позволяющий обнаружить возбудителя в исследуемом материале через 2 ч.

# Туляремия

- инфекционная болезнь, характеризующаяся воспалительными изменениями в области ворот инфекции, регионарным лимфаденитом, лихорадкой, симптомами общей интоксикации и склонностью к затяжному течению. Относится к зоонозам с природной очаговостью.

# ЭТИОЛОГИЯ

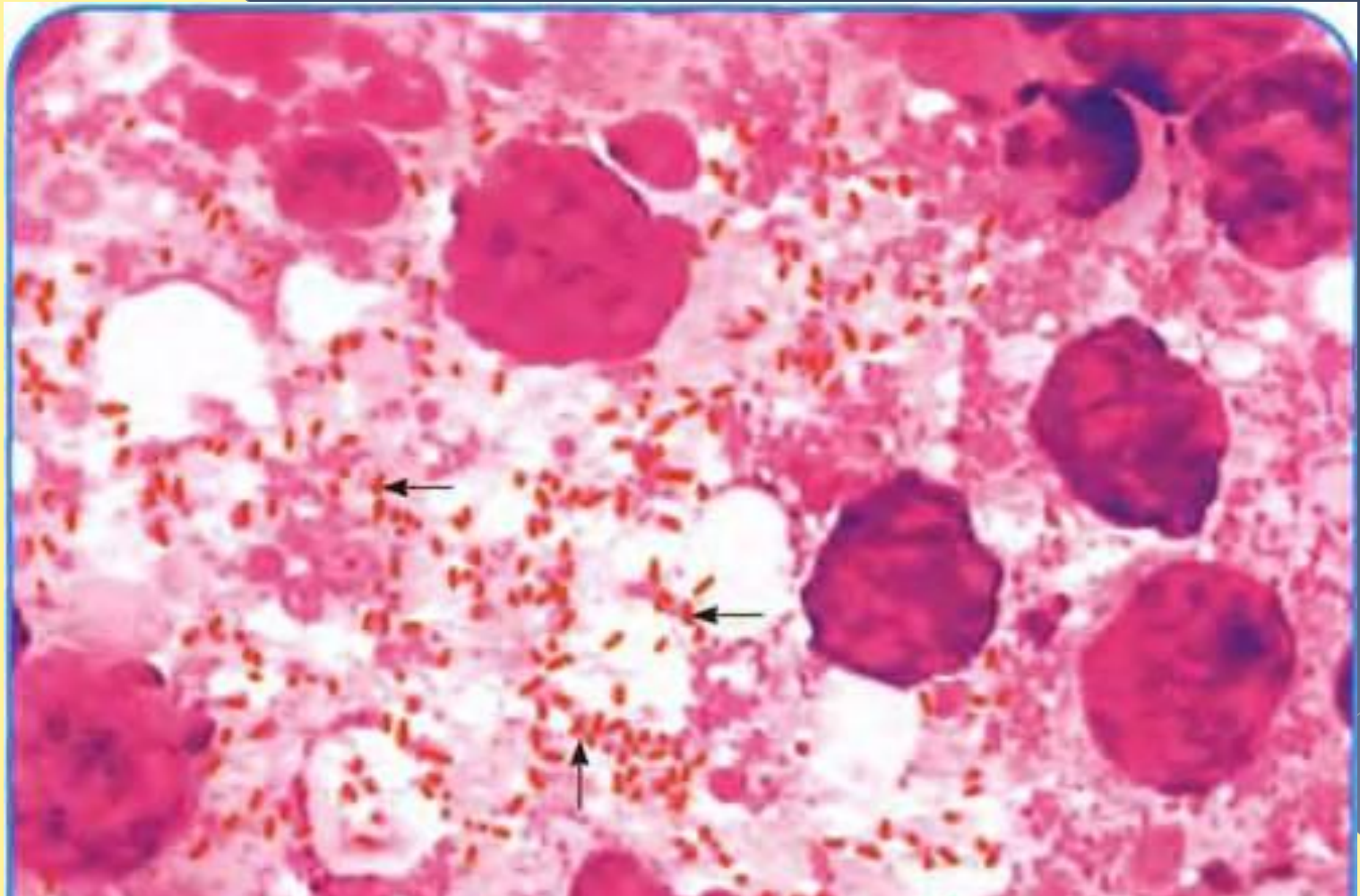
- Возбудитель - *Francisella tularensis* - представляет собой мелкие коккоподобные палочки (0,3-0,5 мкм), неподвижные, грамотрицательные, плохо растущие на питательных средах (необходимы специальные обогащенные среды). В серологических реакциях перекрестно реагируют с бруцеллами и иерсиниями. Выделяют два типа возбудителя. Тип А вызывает более тяжелые формы болезни у человека и патогенен для кроликов. Встречается только в Северной Америке. Рассматривается как вероятное бактериологическое оружие. Тип В встречается в Северной Америке, Европе и Азии. Он вызывает более легкие заболевания человека, не ферментирует глицерин и цитруллин и не патогенен для кроликов (при инфицировании возбудителем типа А кролики погибают при введении даже 1 микробной клетки, типа В - 1 млрд клеток). Возбудитель устойчив во внешней среде. В воде сохраняется до 3 мес, в зерне, соломе - до 6 мес, в органах павших животных - 2-3 мес, в шкурках - до 40 дней. Возбудители чувствительны к стрептомицину, левомицетину, тетрациклину. По отношению к эритромицину на территории нашей страны циркулирует два варианта - устойчивый и чувствительный.

# Патогенез

- Воротами инфекции чаще являются микротравмы кожи. Для развития болезни при внедрении в кожу или аспирационным путем достаточно 10-50 жизнеспособных микроорганизмов, а при алиментарном инфицировании нужно свыше  $10^8$  микробных клеток. На месте внедрения развивается воспалительный процесс, происходит массивное размножение микробов, затем они проникают в регионарные лимфатические узлы, вызывая воспаление. Здесь микробы размножаются, частично гибнут, выделяя эндотоксин, который поступает в кровь и вызывает явления общей интоксикации. При попадании микробов в кровь происходит гематогенная диссеминация в различные органы и ткани. Возникает множественное увеличение лимфатических узлов, могут развиваться гранулемы в разных органах (печень, селезенка, легкие). Гранулематозный процесс особенно выражен в регионарных лимфатических узлах, здесь образуются участки некроза. Большое количество гранулем обнаруживается в селезенке, печени. По клеточному составу туляремийные гранулемы напоминают туберкулезные. Перенесенное заболевание оставляет после себя стойкий иммунитет.

# Культуральные свойства франциселл.

- Франциселлы — строгие аэробы; оптимальная температура 36-37 °С. Бактерии требовательны к составу питательных сред; для их культивирования применяют сложные среды с добавлением экстрактов тканей, крови и антибиотиков, подавляющих рост других микроорганизмов. На твёрдых средах образуют очень мелкие колонии в виде капелек беловатого цвета с голубоватым оттенком. Колонии вирулентных штаммов по морфологии и биологическим свойствам соответствуют S-диссоциатам. В жидких средах размножаются хуже и только у поверхности среды, что связано с аэрофильностью бактерий. Источник:





# Биохимические свойства франциселл

- Франциселлы ферментируют углеводы с образованием кислоты, регистрируемым снижением pH. Каталаза-положительны; индол не образуют, восстанавливают (обесцвечивают) красители — метиленовый синий, малахитовый зелёный и др. В соответствии с распространённостью и биохимическими особенностями выделяют следующие подвиды.
- • Подвид *tularensis*. Ферментирует глицерин, содержит цитруллинуреидазу. Тип франциселл распространён в Северной Америке; высокопатогенен для человека.
- • Подвид *holarctica*. Не ферментирует глицерин, не содержит цитруллинуреидазу. Возбудитель регистрируют в Европе и Азии. Умеренно патогенен для домашних кроликов и человека. Вариант *jaronka* выделяют в Японии; бактерии ферментирует глицерин.
- • Подвид *mediasiatica* вызывает заболевания в Средней Азии в дельтах рек Или и Аму-Дарьи. Бактерии ферментируют глицерин. Содержат цитруллинуреидазу. Умеренно патогенны для домашних кроликов и человека.

# Диагностика туляремии

**Микробиологическая диагностика.** *Серологический метод:* реакция агглютинации, РНГА с сывороткой больного. *Биологическая проба* на белых мышах, для последующего выделения возбудителя на свернутой желточной, желточно-агаровой среде. *Кожно-аллергическая проба* с тулярином.

**Специфическая профилактика.** Живая вакцина из штамма 15 (Эльберта и Гайского): иммунизируют население эндемичных районов и сотрудников специализированных лабораторий.



# Сибирская язва

- Сибирская язва (карбункул злокачественный, антракс) — острая зоонозная инфекция, характеризуется серозно-геморрагическим воспалением кожи, лимфатических узлов, внутренних органов и тяжелой интоксикацией.

- Возбудитель сибирской язвы — бацилла антрацис (*Bacillus anthracis*). Она представляет собой крупную спорообразующую грамположительную палочку размером 5—10 × 1—1,5 мкм. Бациллы сибирской язвы хорошо растут на мясопептонных средах, содержат капсульный и соматический антигены и способны выделять экзотоксин, представляющий собой белковый комплекс, состоящий из вызывающего отёк — повышение концентрации ЦАМФ, протективного — взаимодействует с мембранами клеток, опосредует активность др. компонентов — и летального - цитотоксический эффект, отёк лёгких — компонентов. Капсула — антифагоцитарная активность.

# Биохимические свойства сибирской язвы

- Сибирская язва образует кислоту без газа на средах с глюкозой, фруктозой, мальтозой и декстрином. Гидролизует крахмал; образует ацетон и лецитиназу. В отличие от сапрофитов, палочки сибирской язвы лишены фосфатазы и не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде. Молоко свёртывают за 3-5 сут. Сгусток медленно пептонизируется и разжижается с выделением аммиака, а также (в связи с окислением тирозина) окрашивается в бурый цвет.

# Культуральные свойства *Bacillus anthracis*.

- *Bacillus anthracis* хорошо растёт на обычных питательных средах. Температурный оптимум 35-37 °С; оптимум рН 7,0. В жидких средах растёт в виде ватных хлопьев, не вызывая помутнения среды. При посеве уколом в желатину даёт характерный рост в виде «перевернутой ёлочки» (рис. 13-4). Позднее верхний слой желатины разжижается, образуя воронку. На твёрдых средах сибирская язва образует шероховатые, неровные, серовато-белые, волокнистые R-колонии диаметром 2-3 мм. При малом увеличении колонии напоминают «голову Медузы» или «львиную гриву» (рис. 13-5); характерный вид колониям придают переплетающиеся цепочки бактерий сибирской язвы.

# Антигенная структура bacillus anthracis.

Выделяют три группы основных антигена ( Ag ) bacillus anthracis, две из них (капсульные Ag и токсин) кодируются плазмидами. Отсутствие одной или обеих групп делает бактерии авирулентными. Капсульные антигены ( Ag ) сибирской язвы представлены пол и пептидами, соединёнными с молекулами D-глутаминовой кислоты, что отличает их от прочих капсульных антигенов ( Ag ) сибирской язвы. По антигенным свойствам выделяют один серовар. Ат к капсульным Ag не защищают от развития заболевания. Соматические антигены ( Ag ) сибирской язвы представлены полисахаридами клеточной стенки. Ат к соматическим антигенам ( ag ) не защищают от развития заболевания. Токсин состоит из трёх термолабильных компонентов и включает протективный Ag (взаимодействует с мембранами клеток и опосредует проявление активности других компонентов); летальный фактор {проявляет цитотоксический эффект и вызывает отёк лёгких) и отёчный фактор (вызывает развитие отёков различных тканей). По отдельности компоненты не способны проявлять токсическое действие. Компоненты токсина представлены белками или липопroteинами; их молекулы серологически отличимы и иммуногенны.

# Патогенность возбудителя сибирской язвы

- Патогенность *Bacillus anthracis* прямо зависит от капсуло- и токсинообразования; штаммы, не проявляющие подобных свойства, обычно авирулентны. Капсула защищает возбудителя сибирской язвы от действия вне- и внутриклеточных продуктов фагоцитов и препятствует поглощению бактерий. Токсин возбудителя сибирской язвы опосредует проявление признаков и симптомов сибирской язвы. Аккумуляция токсина сибирской язвы в тканях и его воздействие на ЦНС приводят к летальному исходу на фоне лёгочной недостаточности и гипоксии.



# Микробиологическая диагностика сибирской язвы.

**Микробиологическая диагностика.** *Бактериоскопический метод* — мазки из патологического материала окрашивают по Граму и для выявления капсул — по Романовскому—Гимзе или раствором метиленового синего (синька Мансона). *Бактериологический метод* с выделением чистой культуры на МПА и МПБ, кровяном агаре. Ставят тесты «жемчужного ожерелья», чувствительность к фагу. *Биологическая проба* на морских свинках и мышах. *Кожно-аллергическая проба* с антраксином. Реакция термореципитации по Асколи при определении сибиреязвенного гаптена в загнившем материале.

**Специфическая профилактика.** Живая сибиреязвенная вакцина СТИ (санитарно-технический институт). Иммунизацию групп риска проводят по эпидемиологическим показаниям. Для экстренной профилактики возможно использование сибиреязвенного иммуноглобулина.

**Конец**