

ТУЛЯРЕМИЯ – острое инфекционное природноочаговое заболевание, передающееся человеку от грызунов при прямом контакте и с помощью различных членистоногих, чаще всего кровососущих двукрылых и клещей.

Название болезни и видовой эпитет возбудителя произошло от провинции Калифорнии Туляре, где исследователями Мак Коем и Чепиным микроб впервые был выделен от сусликов (1912).

Название рода происходит от фамилии Е. Френсиса, исследователя туляремии.

Классификация возбудителя туляремии

Сем: не определено

Род: *Francisella*

Вид: *Francisella tularensis*

МОРФОЛОГИЯ:

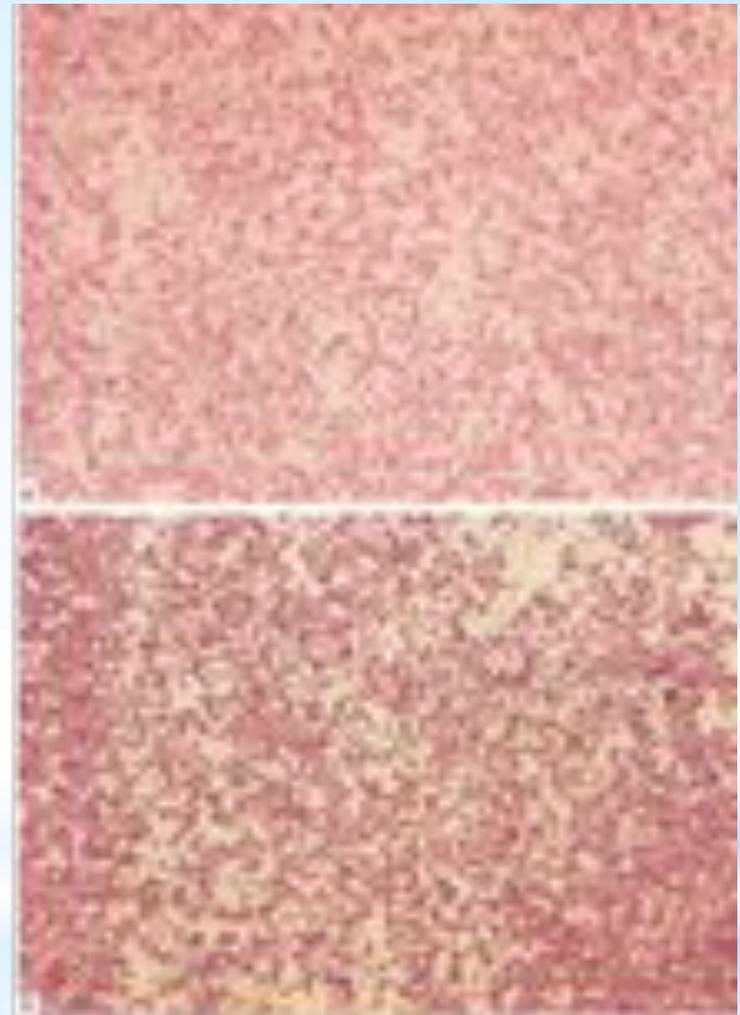
Грам (-) мелкие полиморфные палочки (от кокковидных форм до нитевидных), неподвижные, покрытые слизистым веществом. спор нет, неподвижны, в организме нежная капсула).

Рис. **Микроскопическая картина клеток возбудителя туляремии в окрашенных мазках культур, выращенных в течение 72 ч на FГ -агаре.**

а - штамм Schu; **б** - штамм 503. Окраска по Граму. Перед изготовлением мазка слизь удалена. x1150.

Характерна **вариабельность формы, размеров и тинкториальных свойств** микробов.

Они могут иметь форму **кокков, прямых или изогнутых палочек, мелких зерен, раздугых шаров и иных гетероморфных форм, окрашенных** **вариабельно**. Склонны к образованию агрегатов.



**Рис. Прижизненная
микроскопическая картина и
ультраструктура туляремийных
микробов, развившихся в брюшной
полости морской свинки через 12 ч
после заражения.**

Штамм Schu. Иммобилизация клеток
агаровым гелем, аностральный
контраст (а). Фрагменты ультратонких
срезов (б-г). x1350 (а); x50 000 (б, г);
x30 000 (в).

Микробная популяция образована
прямыми или изогнутыми палочками,
кокками, сферопластами и ге-
тероморфными формами (а).
Внешняя мембрана клеточной стенки
асимметричная (б-г). На начальном
этапе фагоцитоза микробы
прикрепляются к плазмолемме
фагоцита (б). В цитоплазме
погибшего фагоцита клетки *F.*
tulagensis могут располагаться вне
фагосом (г).

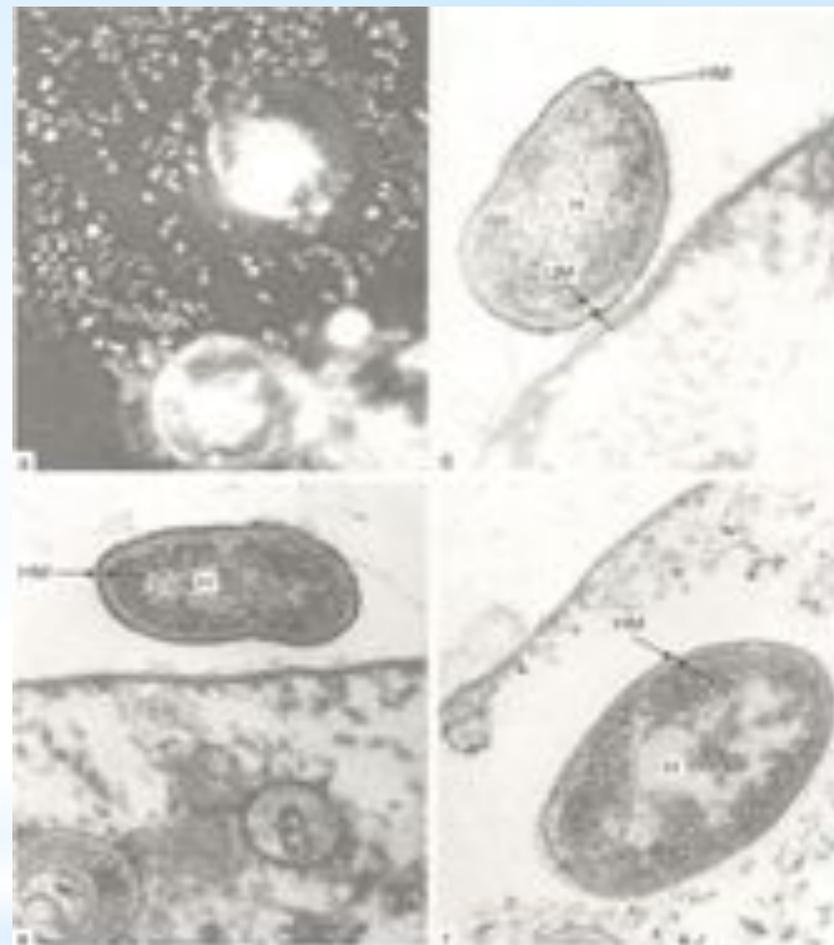


Рис. Морфологические особенности живых микробов различных штаммов возбудителя туляремии, выращенных в течение 24 ч в оптимизированной жидкой питательной среде. Имобилизация микробов желатиновым гелем. Аноптальный контраст. x1350.

*а - штамм Schu; б - штамм 503.

Микробы штамма 503 имеют преимущественно шаровидную форму, а штамма Schu - цилиндрическую.

В культурах обоих штаммов большинство составляют живые клетки с тонкой оболочкой и протоплазмой, такой же по цвету, как фон поля зрения, или слегка темнее его, мертвые клетки выглядят светлыми.

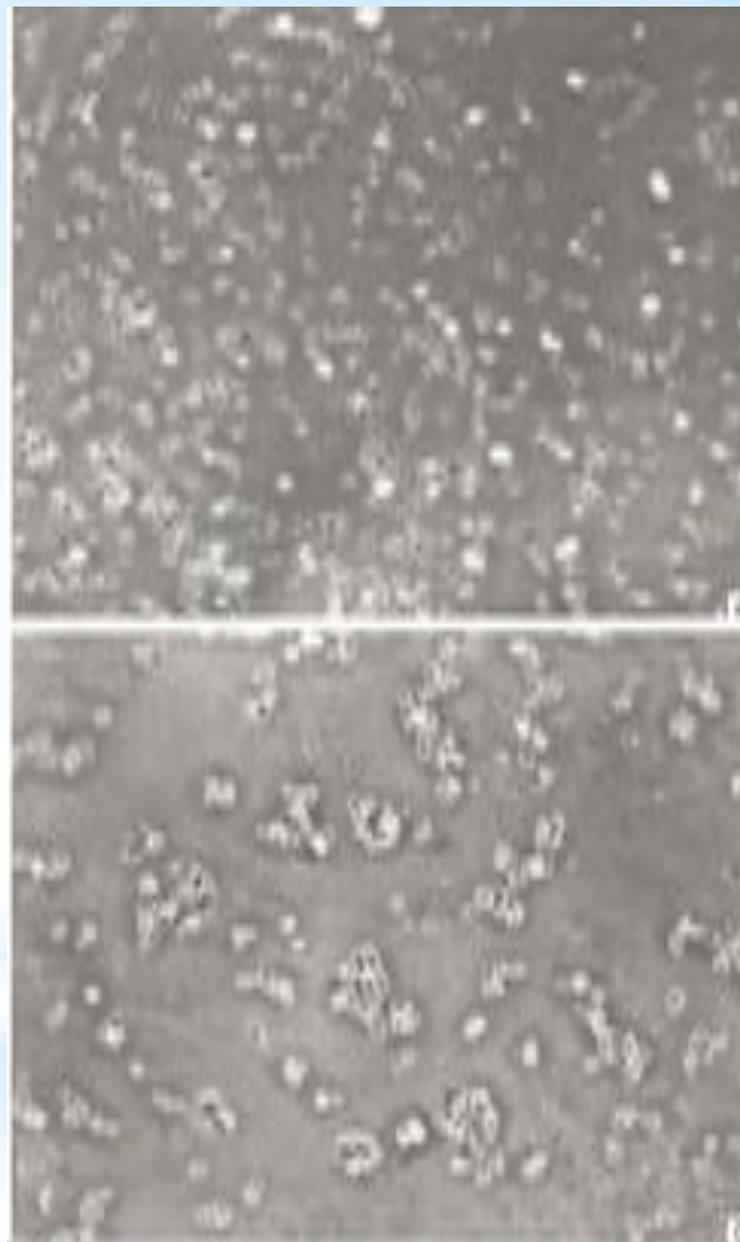


Рис. Изменения прижизненных морфологических свойств туляремийных микробов в зависимости от особенностей состава питательных сред.

Штамм Schu.

Иммобилизация клеток агаровым гелем. Аноптральный контраст. x1350. Выращивание в течение 48 ч: а - на Ff агаре

формируются полиморфные культуры; б - в оптимизированной жидкой питательной среде образуются культуры с довольно однородным клеточным составом; в - в некачественной жидкой питательной среде (отсутствие цистеина) происходит гетероморфный рост.

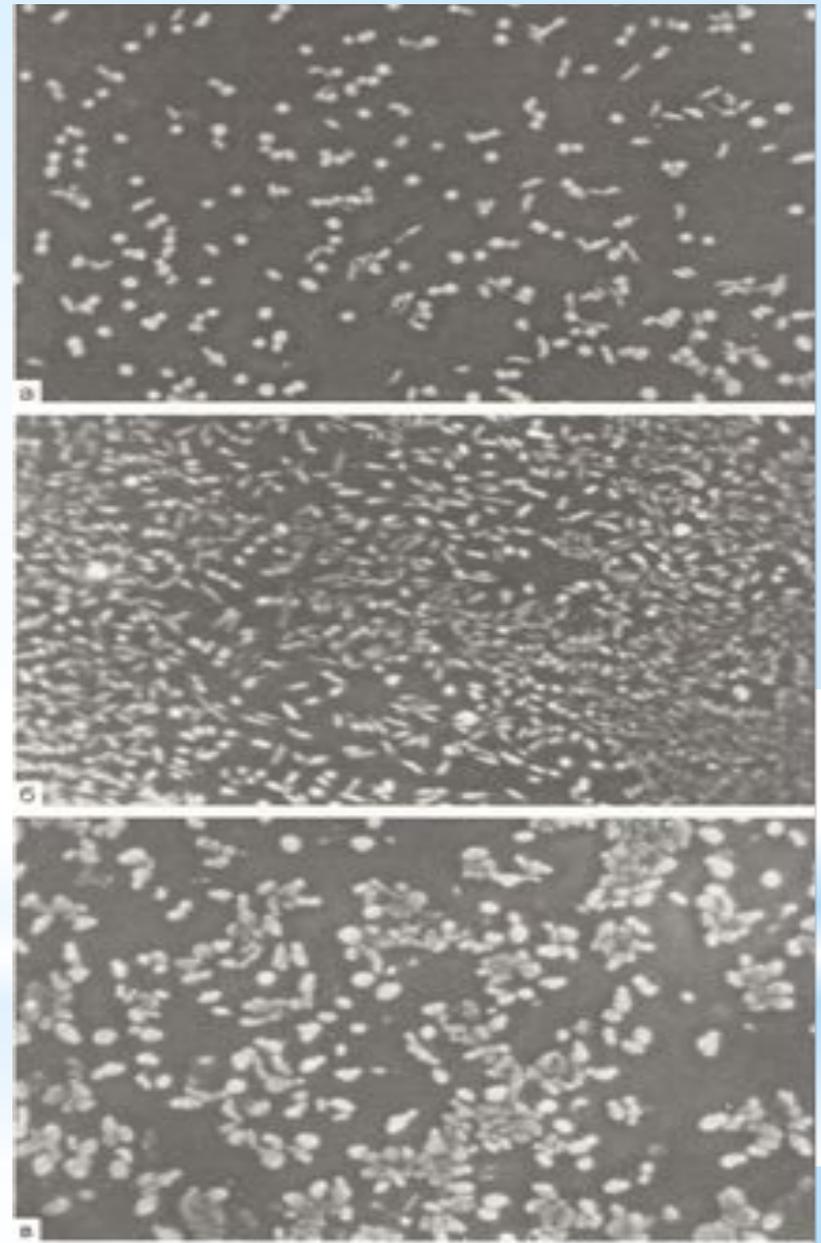
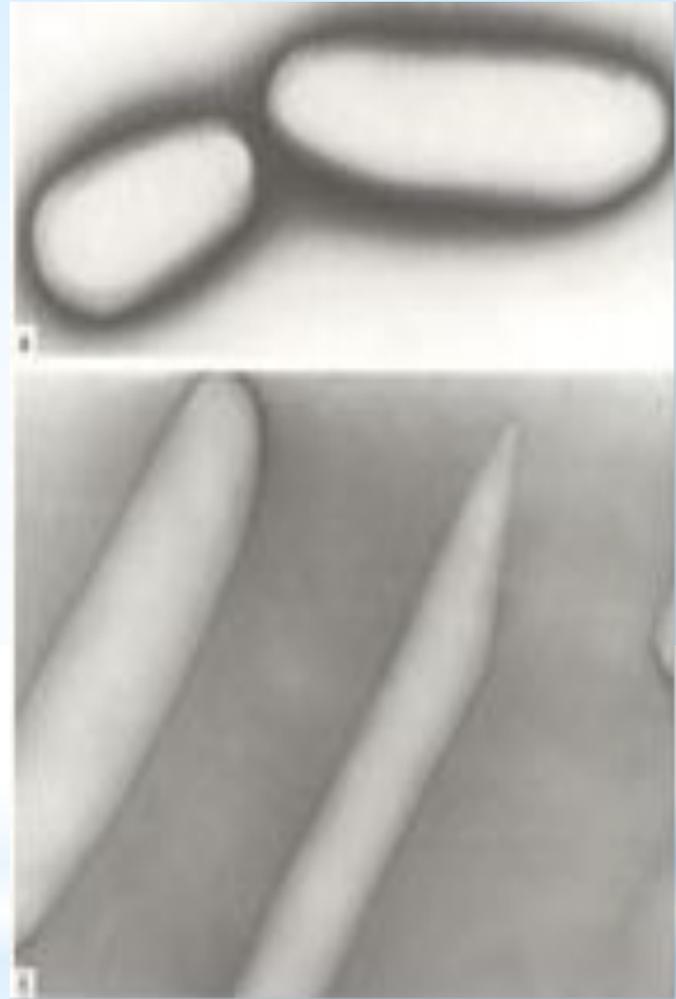


Рис. Морфология туляреимийных микробов бульонных культур, выращенных в оптимизированной жидкой питательной среде в течение 24 ч. а - штамм Schu; б - штамм 503. Контрастирование уранилацетатом. x15 000.

Форма микробов цилиндрическая, полюса овальные или сферические, иногда заостренные.

Поверхность клеток гладкая (а, б). Часть клеток имеет жгутикоподобные отростки (в).



**Рис. Морфология туляреимийных
микробов агаровых культур, выра-
щенных в течение 72 ч.**

Штамм Schu. Контрастирование
уранилацетатом. x15 000.

а - большинство составляют кокки и
овоиды; б - нерепко образование
гетероморфных форм; в - некоторые
кокки имеют структурные
повреждения и выглядят
сморщенными.



Рис. Субмикроскопическое строение туляреимийных микробов, выращенных в течение 18 ч в оптимизированной жидкой питательной среде.

Штамм Schu. x80 000 (а, в); x60 000 (б, г, д).

а-в - клеточная стенка с гладкой наружной мембраной и без базальной мембраны, гранулярный компонент расположен на периферии, нуклеоид отличается обширными размерами;

г, д - единичные вакуоли и гранулы.

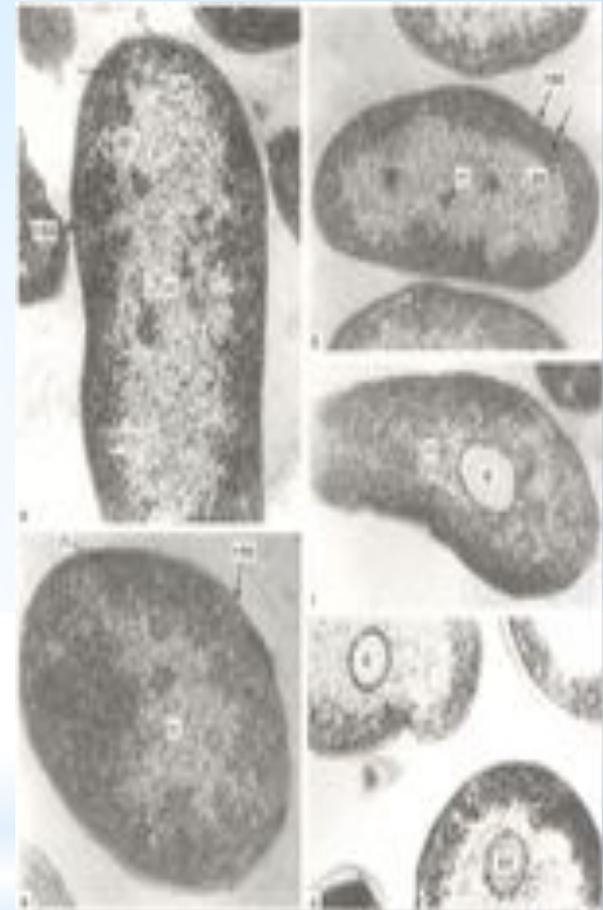


Рис. Способы образования перетяжек у туляремийных микробов.

Штамм Schu. Контрастирование уранилацетатом. x20 000.

а, б - образование перетяжки равномерное;

в, г - одностороннее;

д - соединение делящихся клеток «МОСТИКОМ».

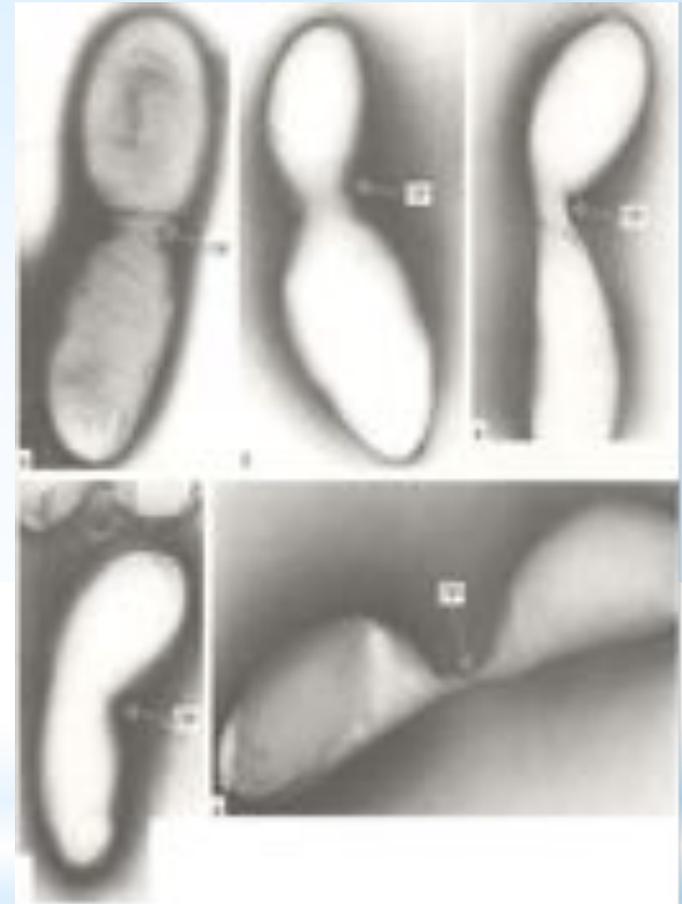


Рис. **Ультраструктура** делящихся клеток *F. tularensis*.

Условия выращивания - см. рис. 3.7.
Штамм Schu. x40 000.

а - снижение электронно-оптической плотности цитоплазмы в зоне деления;

б - образование перетяжки в результате врастания цитоплазматической мембраны и клеточной стенки; в - формирование новых полюсов.

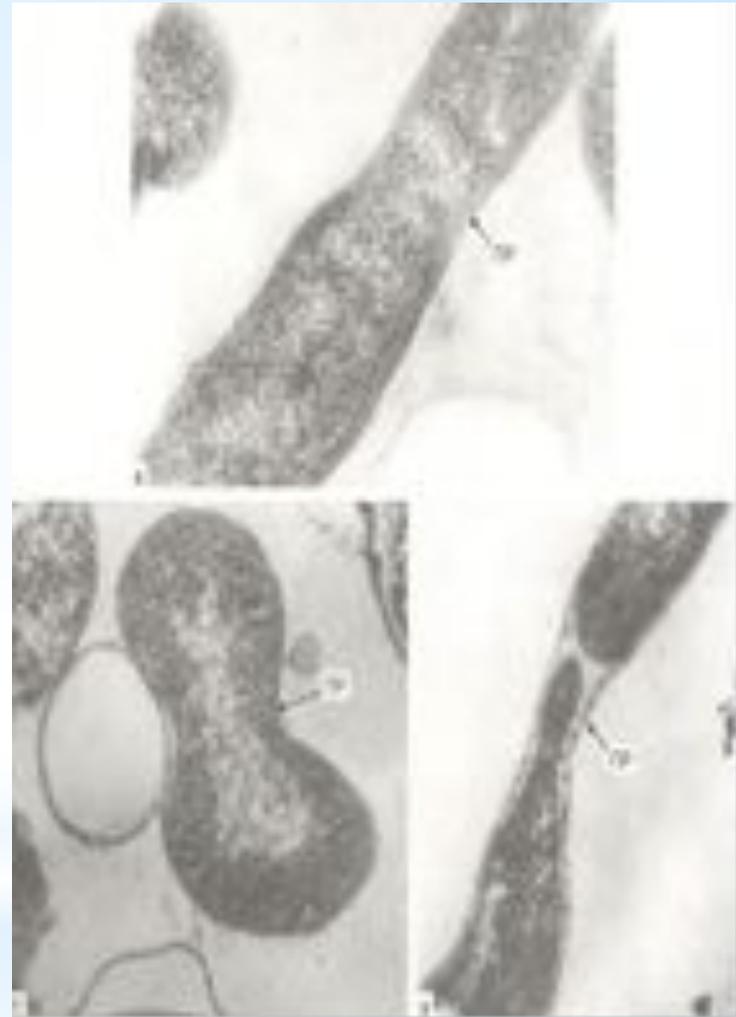


Рис. **Ультраструктура**
почкующихся клеток F.
tularensis, выращенных на Ff -
агаре в течение 72 ч.

Штамм Schu. x40 000 (а); x60
000 (б, в).

а - образование почки в
результате асимметричного
деления;

б - почкование
внутриклеточное;

в - внутривакуолярное

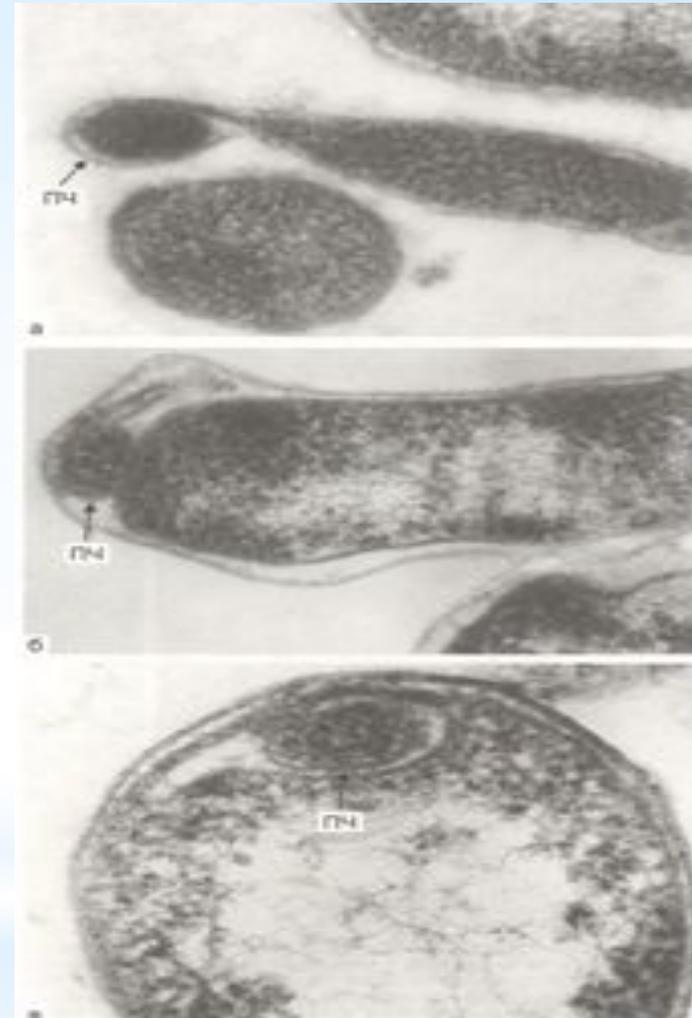


Рис. **Морфология клеток *F. tularensis* со жгутикоподобными отростками** в культурах, выращенных в течение 48 ч в жидкой питательной среде без аэрации.

Штамм Schu. Контрастирование уранилацетатом. $\times 10\ 000$ (а, г); $\times 15\ 000$ (б); $\times 20\ 000$ (в).

Отростки, отходящие от микробов *F. tularensis*, значительно толще истинных жгутиков бактерий и могут соединять клетки между собой (г). Внутри отростка уранилацетат не проникает (а-в).

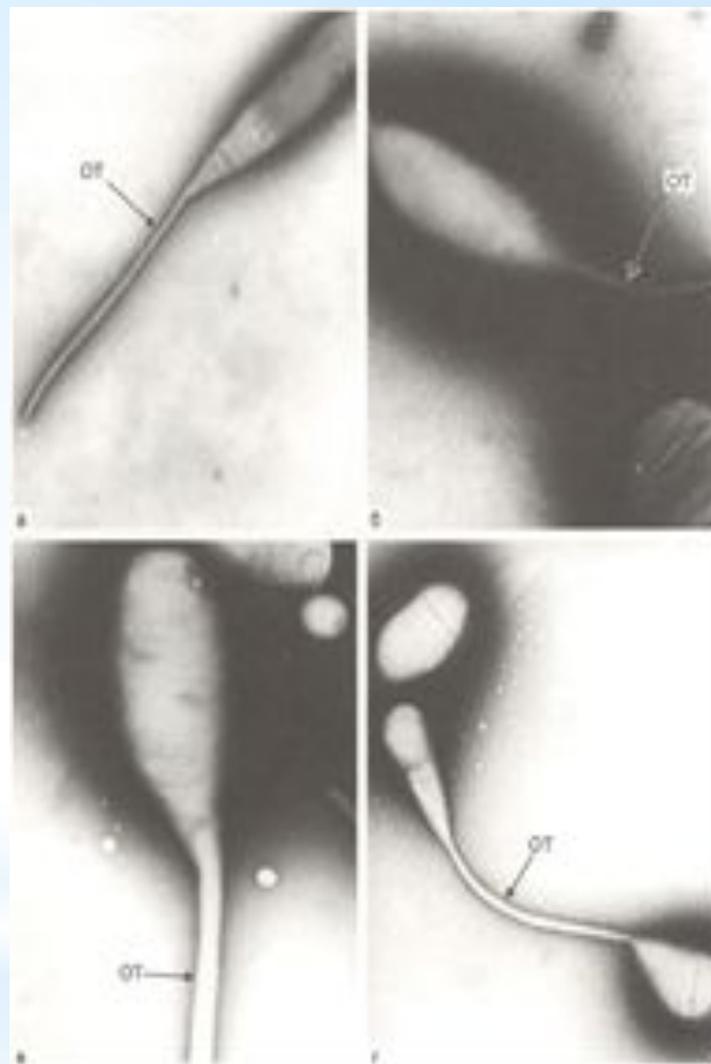
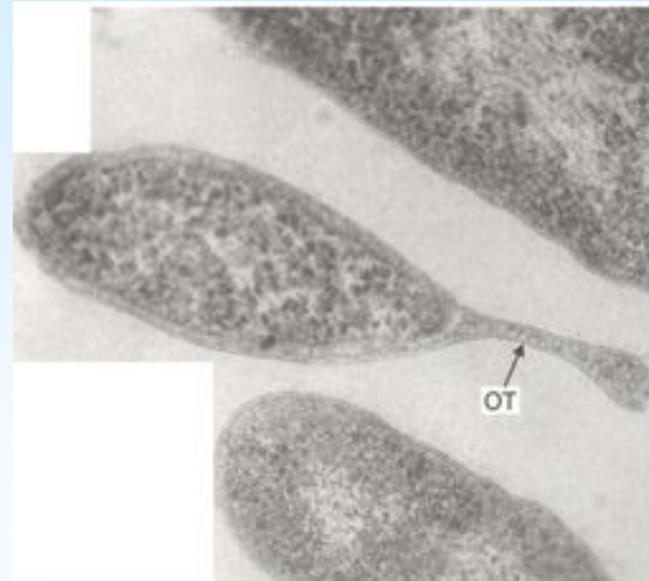


Рис. Ультраструктура клеток *F. tularensis* со жгутикоподобными структурами.

Штамм Schu. x40 000 (а, б, в).

а - отростки являются продолжением клеточной стенки, образованы двумя параллельно уложенными трехслойными мембранами;

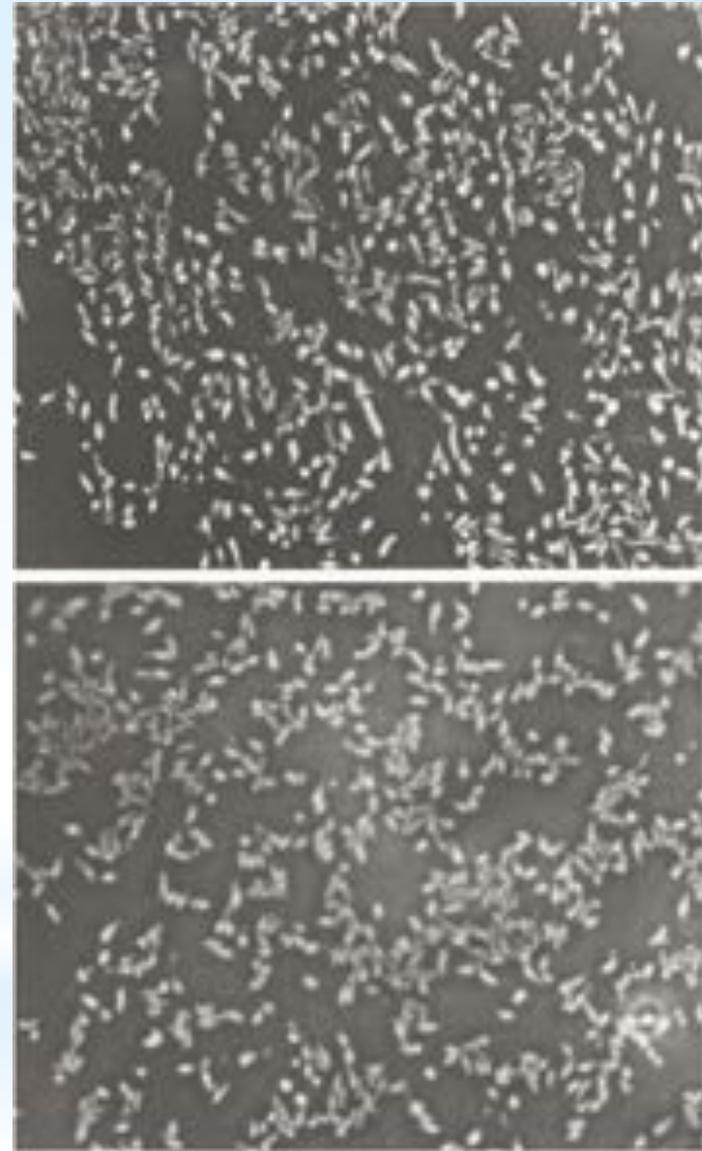
б - соединение отростком делящихся клеток; в - соединение почки с материнской клеткой.



**Рис. Прижизненная
микроскопическая картина
клеток *F. tularensis* со
жгутикоподобными структурами.**

Штамм Schu. Иммобилизация
клеток агаровым гелем.
Аноптральный контраст. x1350.

**Жгутикоподобные
структуры выявляются
на пределе
разрешающей
способности светового
микроскопа. Они могут
соединять клетки или
заканчиваться
гранулами.**



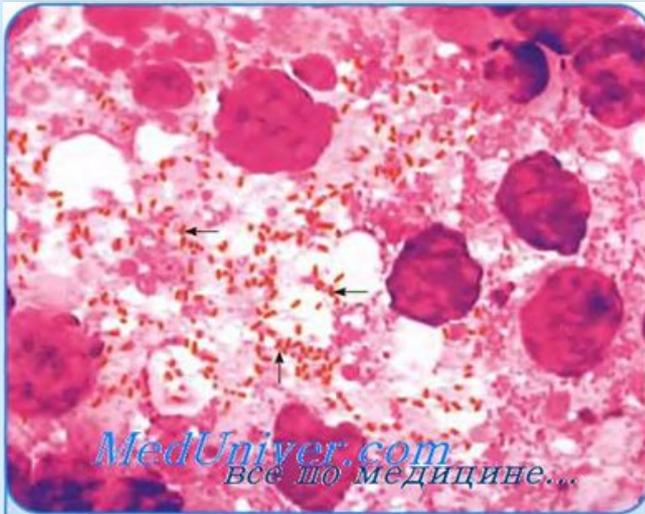
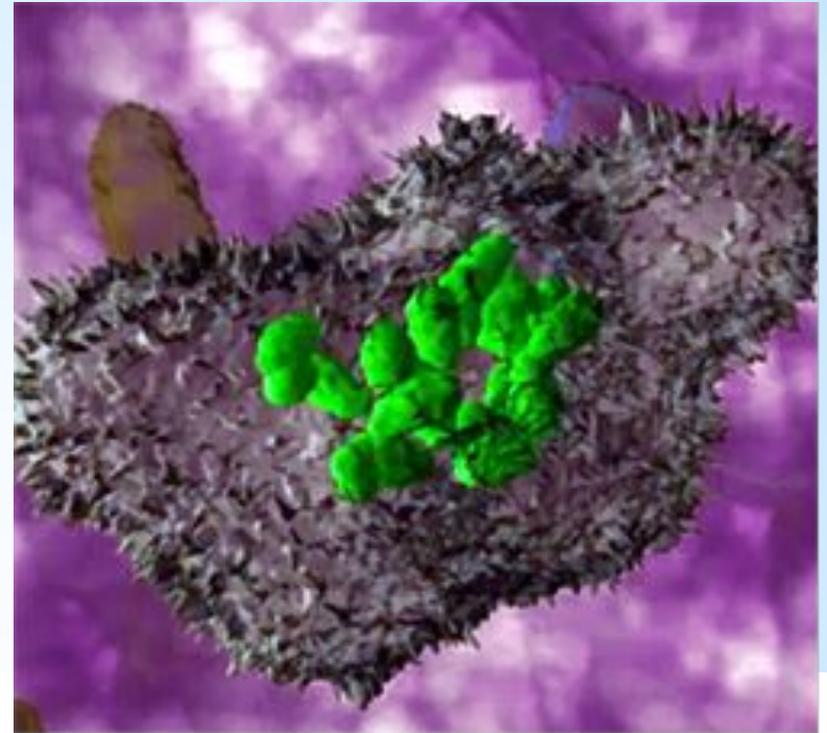
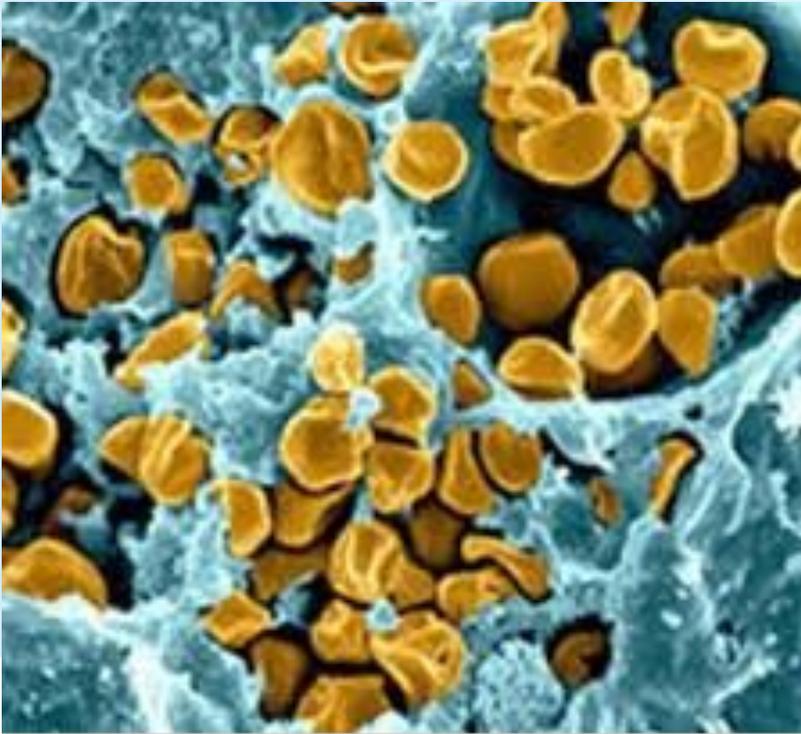


Рис. 3.62. *F. tularensis* в отпечатке из селезенки (указано стрелками), окраска по Романовскому—Гимзе. Франциселлы — мелкие палочковидные (0,2–0,7 x 0,7–1,7 мкм) грамотрицательные бактерии; полиморфны, не имеют пилей, окружены тонкой капсулой. Требовательны к факторам роста, инкубация минимум 3 дня. Неподвижны. Содержат O- и Vi-антигены. Obligатные аэробы

Francisella tularensis — мелкая грамотрицательная палочка, обладающая полиморфизмом.

Является возбудителем туляремии.

Микроб отнесён ко II группе патогенности.



Внедрение туляремии в макрофаг

АНТИГЕНЫ:

2-ag:

1) O-соматически й
(нуклеопротеид)

2).Vi-ag-оболочечный,
поверхностный (липиды,
белки)

С утратой Vi-ag- теряет
патогенность

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ:

мало выражена, блx
свойства

нестабильны ,
оксидазоотрицательны,

продуцируют H_2S ;
расщепляют

глюкозу, мальтозу,
маннозу; некоторые

штаммы расщепляют
глицерин с обр. К без
газа.

*-РАСТУТ НА СРЕДАХ СОДЕРЖАЩИХ ЯИЧНЫЙ ЖЕЛТОК, КРОВЬ, НА СРЕДЕ ФРЕНСИСА (ЦИСТИН, ГЛЮКОЗА, ДЕФЕБРИНИРОВАННАЯ КРОВЬ КРОЛИКА) СРЕДА ЕМЕЛЬЯНОВОЙ (кровяно-дрожжевой агар с глюкозой и цистином)

*-КОЛОНИИ БЕЛЫЕ С ГОЛУБОВАТЫМ ОТТЕНКОМ,

* КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
ТУЛЯРЕМИЙ:

* ГЛАДКИЕ, БЛЕСТЯЩИЕ

*-НА ЖИДКИХ средах РАСТУТ ПЛОХО

Рис. Морфология МИКроколоний туляреимийных микробов, выращенных в течение 48 ч на FГ - агаре.

а, б - вирулентные штаммы Schu и 503 соответственно;

в - вакцинный штамм 15.

Микрофотосъемка в проходящем свете. х56.

Микроколонию по форме напоминают полусферы с ровными краями и гладкой поверхностью. На вершине их могут быть округлые зоны центрального роста. Поверхность микроколоний нередко покрыта компонентами питательной среды.

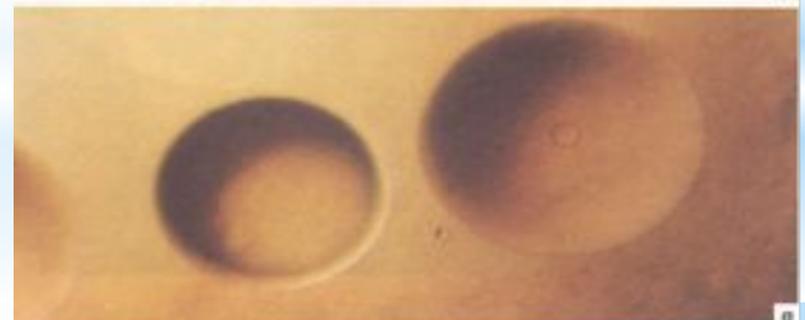
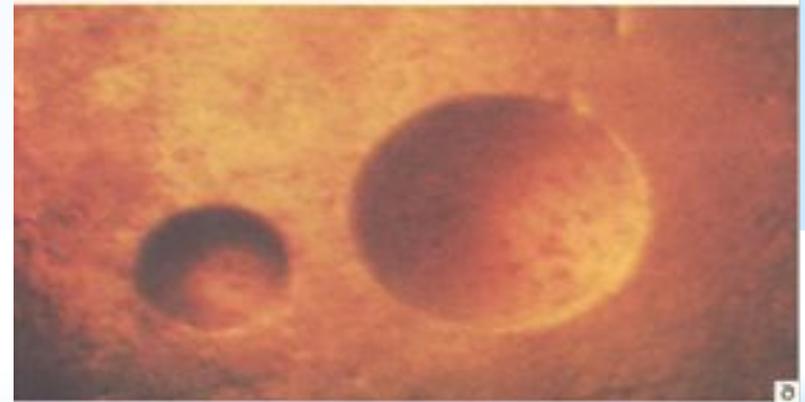
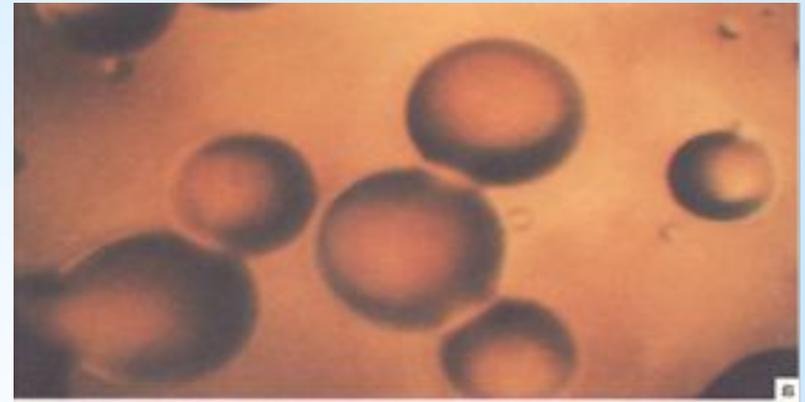


Рис. Морфология колоний туляреимийных микробов, выращенных в течение 96 ч на FГ - агаре.

а - вирулентный штамм 170;

б - вакцинный штамм 15.

Фотосъемка в падающем свете.

Колонии беловатые, выпуклые, круглые с ровными краями и гладкой блестящей поверхностью, нередко отличаются вариабельностью размеров,

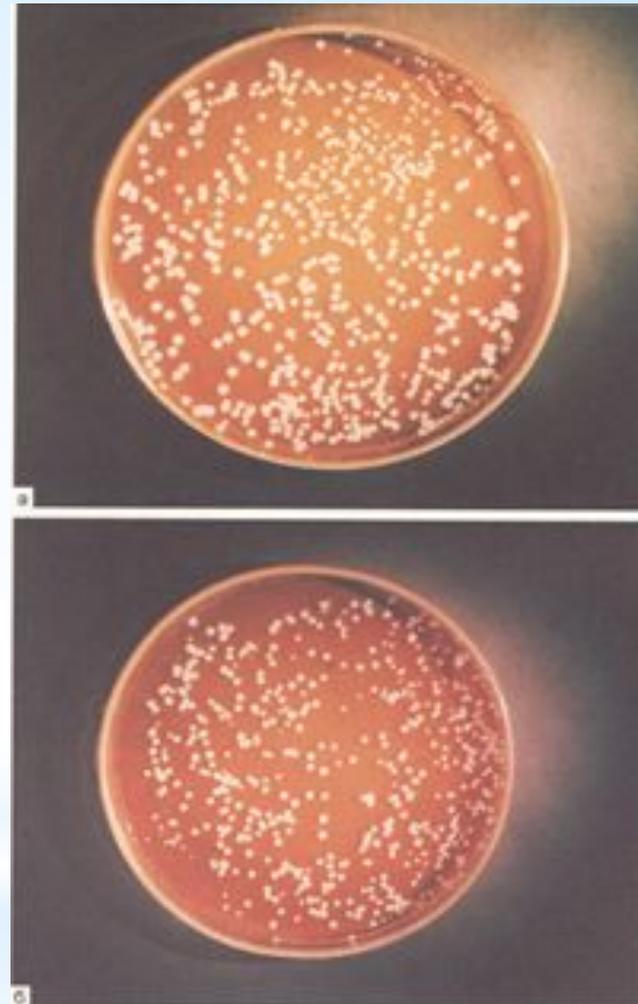
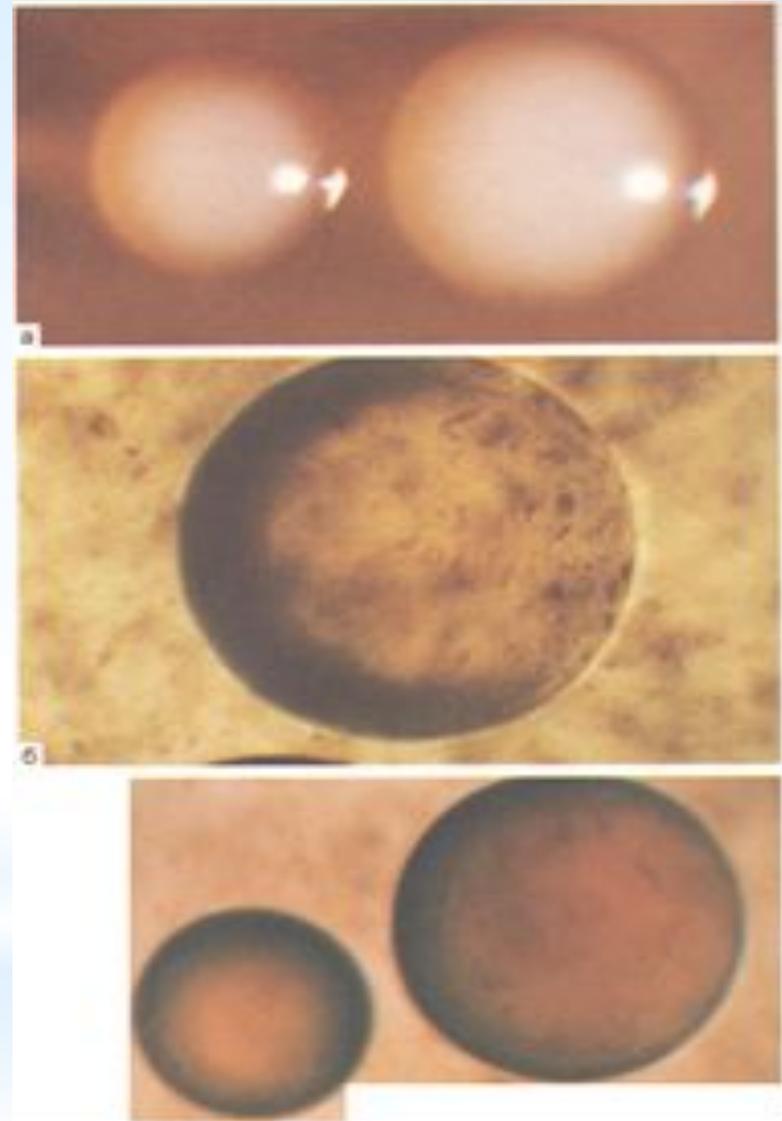


Рис. Морфологические особенности колоний клеток возбудителя туляремии при микроскопическом исследовании.

а, б - штамм Schu; **в** - штамм 503.
Микрофотосъемка в падающем (а) и проходящем (б, в) свете. х13.

В падающем свете колонии в форме белых полусфер с ровными краями и гладкой зеркальной поверхностью (а).

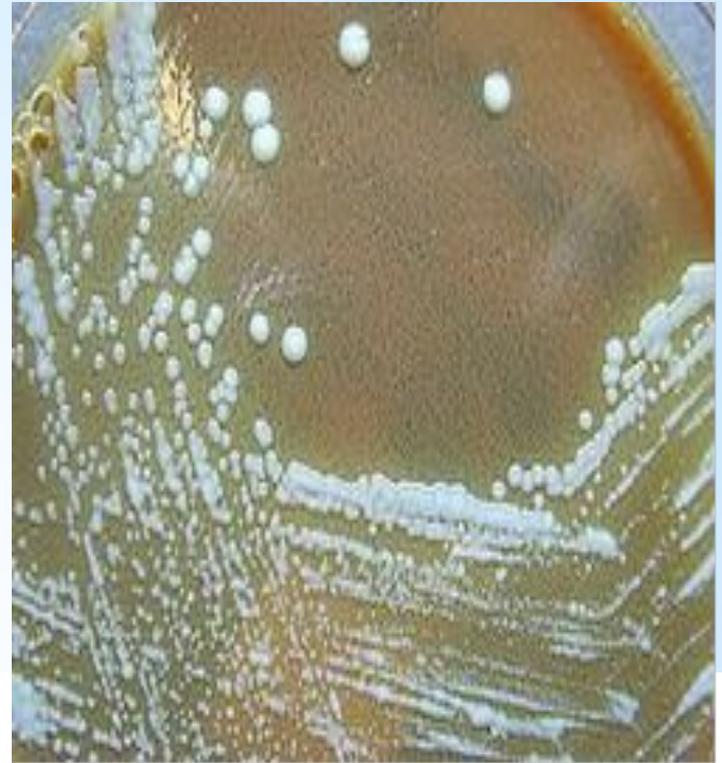
В проходящем свете они зеленовато-коричневые и светло-коричневые в форме уплощенных полусфер или с небольшим конусовидным центром. Края их ровные, поверхность гладкая, может быть покрыта нерастворимыми компонентами питательной среды (б, в).



Хемоорганогетеротроф,
факультативный анаэроб.

На простых питательных средах не растёт, необходимы среды, содержащие витамины, яичный желток, кровь, экстракты органов и тканей животных, для роста необходим цистеин. Разлагает глюкозу, мальтозу, часть штаммов разлагает маннозу и левулёзу, глицерин (с кислотообразованием).

На агаризованных средах образует мелкие, каплевидные беловатые колонии.



Культуральные свойства

ПАТОГЕННОСТЬ:-1.

ЭНДОТОКСИН

2. *Высокая инвазивность*

3. **ВИРУЛЕНТНОСТЬ** за счет Vi-аg.

4. **ФЕРМЕНТЫ**

ПАТОГЕННОСТИ:

гиалуронидаза, каталаза, аспарагиназа.

5. **Микрокапсула**

6. **Адгезины**

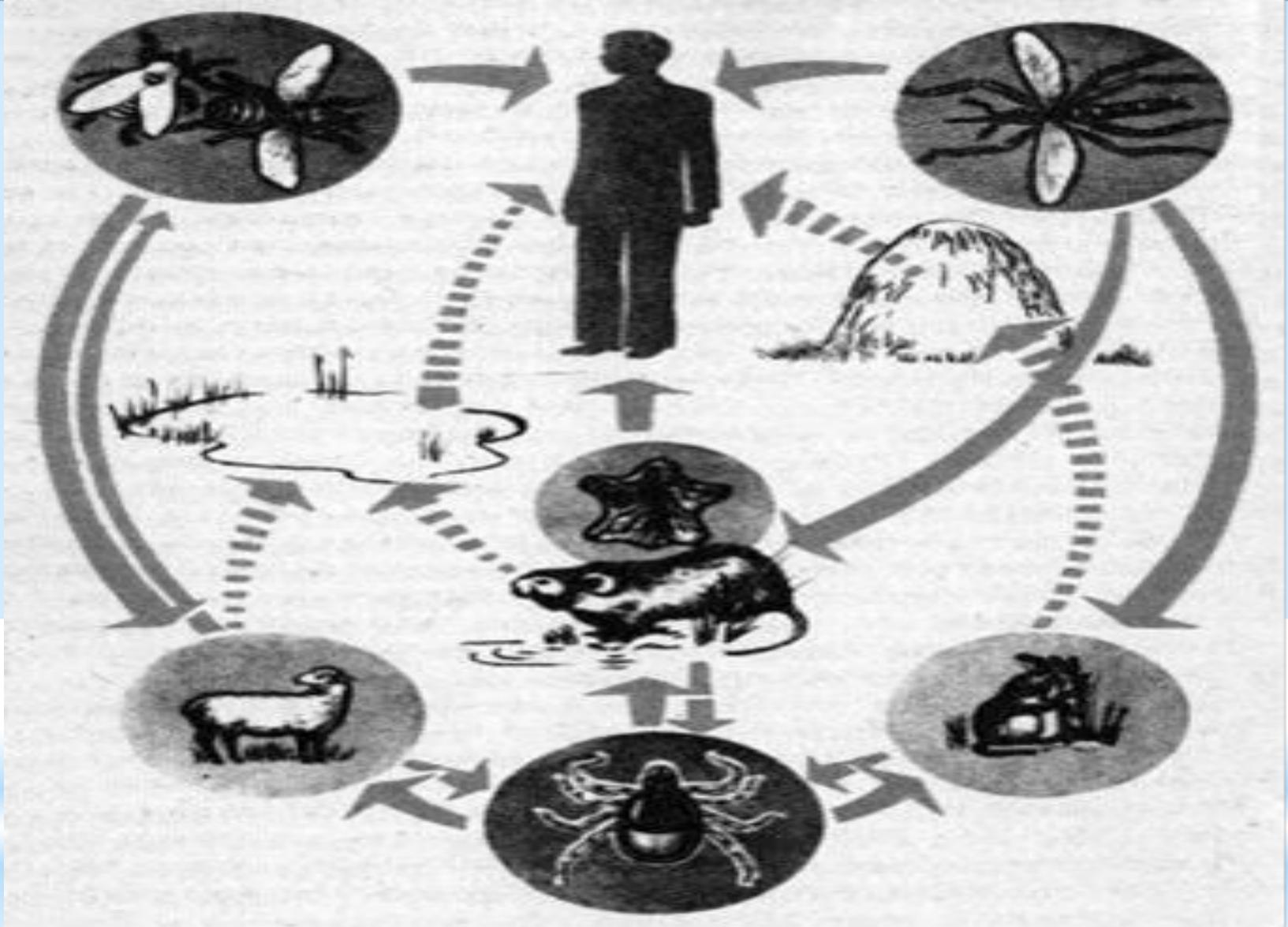
7. **Белки наружной мембраны**

Резервуары инфекции:

Грызуны, зайцы, водяные крысы, ондатры

Переносчики возбудителя туляремии:

Клещи, блохи. Слепни. Комары.



Циркуляция возбудителя туляремии в природе

Пути заражения:

Может проникать через
неповрежденную кожу

Заражение-

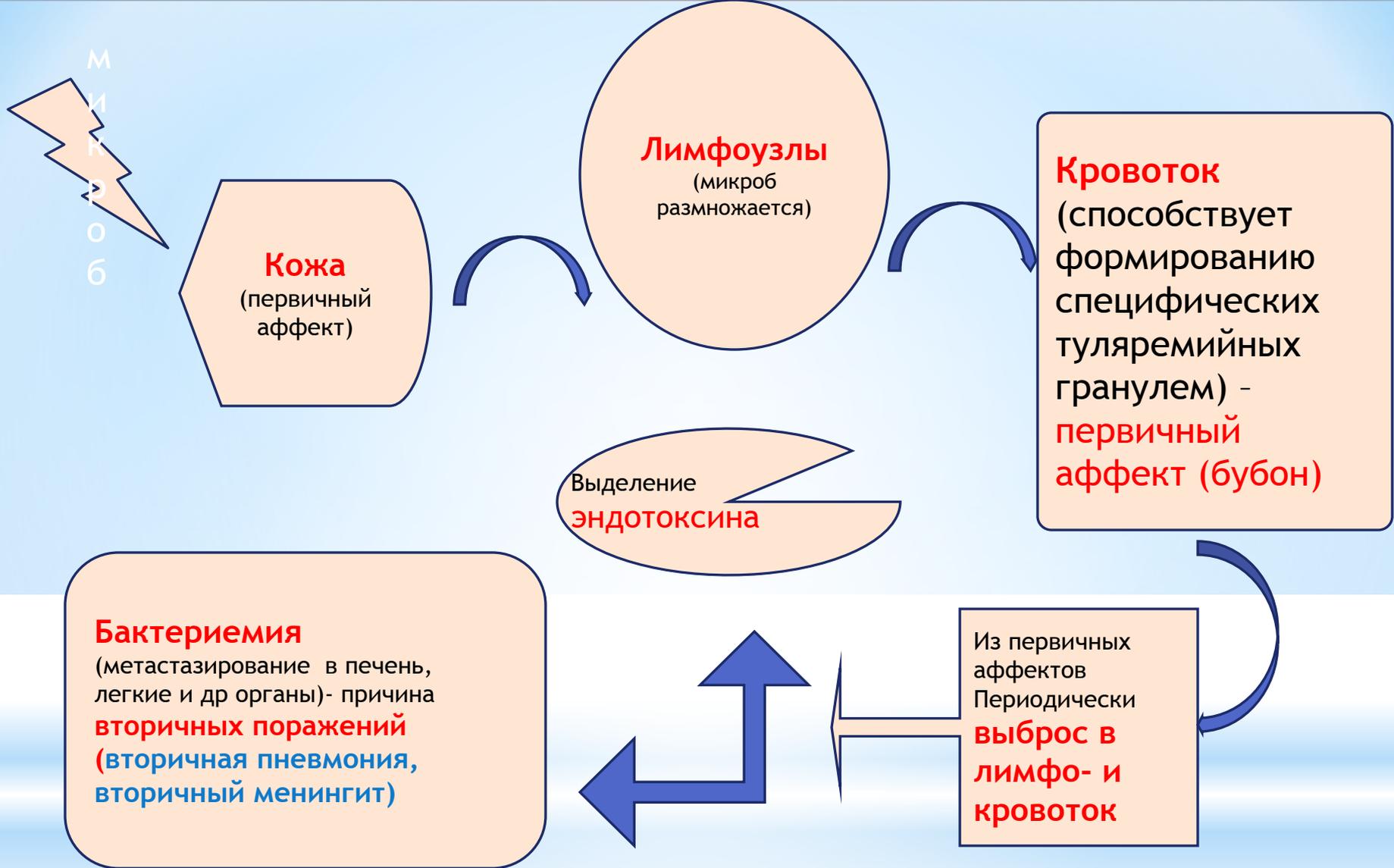
1) при *прямом контакте* с больными животными (Через прямой контакт, через повреждения на коже)

2) фекально-оральным

3) воздушно-капельным (Вдыханием зараженными растительными материалами)

4) трансмиссивным путем (Укуса зараженным насекомым)





Патогенез туляремии

**При
воздушно-
капельным**

(Вдыхание
зараженными
растительными
материалами)

**первичная
пневмония**
(легочная
туляремия)

**При
фекально-
оральным**

(алиментарном)
пути)
заражения -
вода и пища

**Генерализо-
ванная**
(септическая)
форма
туляремии

При этих формах отсутствует
первичный очаг и они
характеризуются высокой
летальностью

Патогенез туляремии

Клинические формы туляремии:

Ульцерогландулярная (по старой классификации- Язвенно - бубонная; синоним кожно-бубонная)

Окулогландулярная (глазобубонная; офтальмическая)

Торакальная (легочная туляремия)

Абдоминальная (ж/к туляремия)

Генерализованная

Ангинозно - glandулярная

Неуточненная

Клиническое проявление , сближающее туляремию с чумой:

Образование бубонов в месте входных ворот

Ульцерогландулярная

возникает если внедрение микробов произошло через кожу. Чаще развивается при заражении от укуса насекомого. Увеличиваются ближайшие лимфатические узлы (в виде бубонов), позже в процесс могут вовлекаются и удаленные узлы.

Помимо бубона в месте укуса может появляться неглубокая язва с приподнятыми краями, покрытая на дне темной корочкой.

Окулогландулярная— при проникновении возбудителя через конъюнктиву.

Характерны эрозии и язвы конъюнктивы с отделением желтого гноя, бубоны близлежащих лимфоузлов.

Ангинозно - glandулярная

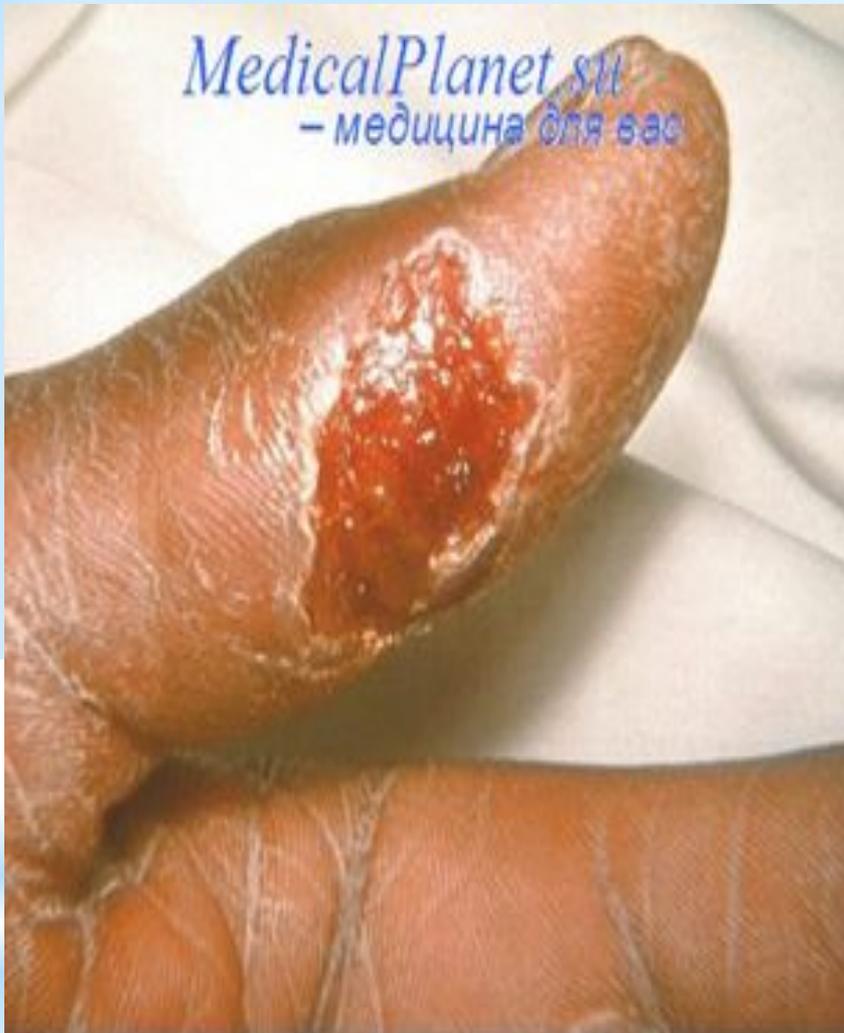
— при употреблении инфицированной воды и пищи. Протекает в виде тяжелой ангины с некрозом миндалин, бубонами в подчелюстной, шейной и околоушной областях.

Абдоминальная форма развивается вследствие поражения лимфатических сосудов брыжейки. Проявляется сильными болями в животе, тошнотой, рвотой, иногда - диареей.

Торакальная возникает при вдыхании возбудителя. Могут поражаться лимфоузлы трахеи, бронхов и средостения (более легкий вариант), или развивается очаговая пневмония (протекает довольно тяжело и имеет склонность к развитию осложнений).

Генерализованная форма напоминает тяжелый сепсис. Выражены симптомы интоксикации: тяжелая лихорадка, слабость, озноб, головная боль. Могут возникнуть спутанность сознания, бред, галлюцинации. Возможно появление стойкой сыпи по всему телу, бубонов различных локализаций, пневмонии. Эта форма может осложняться инфекционно-токсическим шоком.





**Больной ангинозно-бубонной
формой туляремии: справа
видны увеличенные
подчелюстные
лимфатические узлы**



Больной бубонной формой туляремии: в левой подмышечной впадине видны увеличенные лимфатические узлы



Туляремия. Тропические микозы



Поражение лимфоузлов при туляремии.

Фото с сайта

5minuteconsult.com

ИММУНИТЕТ (туляремия) :

стойкий, длительный,
тканевой и гуморальный;

накапливаются

*агглютинины, преципитины-
проба с тулярином.*

Ведущий механизм
иммунитета при туляремии-
клеточный, ГЗТ

Специф.

профилактика:

Сухая (живая) вакцина

Гайского-Эльберта

(иммунитет 5-6 лет) вводится
по эпид.показаниям

ЛЕЧЕНИЕ: стрептомицин,
тетрациклин,
хлорамфеникол.

Основной принцип диагностики туляремии.

Обнаружение
специфических
изменений в
организме

Бактериологический метод
диагностики практически
не применяется

для диагностики
туляремии из-за
сложности выделения ЧК
возбудителя от человека.
ЧК выделяется только
посредством биологической
пробы на мышах или
морских свинках с
последующим высевом на
селективные среды

Содержимое бубона

(гландулярная и
ульцeroогландулярная форма)

Отделяемое слизистой оболочки глаз

(окулогландулярная форма)

Мокрота (легочная форма)

Кровь (генерализованная
форма)

Испражнения абдоминальная
форма)

При расследовании
случаев заболеваний
туляремией:

Вода для питья и
колодезная;

Солома; фураж; и др.
объекты
контактировавшие с
грызунами

*** Материал для исследования**

Способы отбора материала для исследования на туляремию

Материал	Способ отбора клинического материала
Пунктат бубона	Кожу вокруг бубона осторожно обрабатывают ватным или марлевым тампоном, смоченным 70 % спиртом. Затем стерильным шприцем с толстой иглой содержимое бубона забирают и переносят в стерильную пробирку с 1-1,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. При очень вязком содержимом в бубон вводят 0,1 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида, после чего материал отсасывают шприцем
Отделяемое слизистой оболочки глаз	Собирают стерильным тампоном
Мокрота	Собирают в стерильные широкогорлые банки
Испражнения	Тоже
Кровь	Забирают стерильным шприцем 2-3 мл в стерильную пробирку Способы отбора материала из объектов окружающей среды
Вода	Пробы воды берут из различных водоемов: ручьев, прудов, болот, колодцев. Из каждой точки желательно брать 2 пробы. Пробы берут в затененном месте, на глубине 10-20 см от поверхности стоячей или слабопроточной воды. Желательно отбирать пробы в местах обитания зверьков (у кормовых столиков, нор или хаток). Воду в количестве 100- 200 мл отбирают в стерильные флаконы емкостью 200- 250 мл
Зерно, солома, фураж и другие субстраты	С данных объектов делают смывы изотоническим раствором натрия хлорида. Для этого 5-10 г исследуемого субстрата помещают в стерильный сосуд, заливают двойным количеством изотонического раствора натрия хлорида и тщательно встряхивают

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА туляремии:



1) **Биологический**-заражение
животных

2) **Аллергический**-проба с
тулярином

3) **Серологический**-РПГА,
кровяно-капельная

инфекция(ускоренная
диагностика)-кровь из

пальца+дист.

вода+туляремийный
диагностикум.

4) **экспресс- метод**- РИФ

Аллергически метод
является методом
ранней диагностики.

**Виды аллергических
проб:**

- Внутрикожная
- Накожная

Для в/к пробы используют
тулярин (аллерген
туляремийный)

Состав тулярина:

Антигены (белки) убитых
туляремийных
микроорганизмов.

(+) проба может быть у
привитых и
реконвалесцентов и
больных

Для внутрикожной пробы применяют внутрикожный тулярин - взвесь туляремийных бактерий вакцинного штамма, убитых нагреванием при 70 °C в течение 1 ч. В 1 мл препарата содержится 500 млн убитых бактерий.

Препарат предназначен **в первую очередь для диагностики туляремии**. Тулярин в количестве 0,1 мл вводят стерильным шприцем строго внутрь кожи левого предплечья (на границе верхней и средней трети). Учет реакции производят через 24-48 ч путем осмотра и пальпации участка кожи на месте введения тулярина.

Реакцию считают положительной при наличии инфильтрата и гиперемии диаметром не менее 0,5 см. Изменения кожи в виде гиперемии без инфильтрата, исчезающие через 48 ч, расценивают как отрицательный результат.

*** Внутрикожная проба с тулярином.**

Для кожной пробы применяют кожный тулярин - взвесь туляремийных бактерий вакцинного штамма, убитых нагреванием при 70 оС в течение 1 ч. В 1 мл препарата содержится 10 млрд убитых бактерий.

Препарат предназначен в первую очередь для определения иммунитета у привитых против туляремии лиц или для анамнестического обследования.

Глазной пипеткой наносят каплю тулярина на обработанную спиртом и эфиром кожу наружной поверхности левого плеча в его средней трети. Через каплю стерильным скарификатором делают две параллельные насечки длиной 8-10 мм до появления росинок крови, расстояние между насечками 5 мм. Затем плоской стороной скарификатора в течение 1 мин тулярин тщательно втирают в насечки.

Учет реакции производят через 48-72 ч. Реакцию считают положительной при величине реагирующего участка кожи не менее 0,5 см и наличии вдоль насечек ясного покраснения и небольшой отечности (валик).

Кожная проба с тулярином

Реакция лейкоцитоллиза (РЛ). Аллергические методы диагностики *in vivo* (накожная и внутрикожная туляриновые пробы) просты в исполнении и до настоящего времени используются на практике.

Вместе с тем введение даже убитого антигенного препарата небезразлично для организма обследуемого.

В связи с этим заслуживает внимания эффективный метод выявления и оценки гиперчувствительности методом *in vitro* с помощью альтерации лейкоцитов - **реакции лейкоцитоллиза.**

РЛ основана на учете разрушения лейкоцитов сенсibilизированного организма под влиянием специфического аллергена (антигена), регистрируемого методом *in vitro*.

Реакция лизиса лейкоцитов становится положительной уже в первые дни после вакцинации или заболевания (3-4-й день), удерживается в течение многих лет (у переболевших - до 40 лет). На 7-15-й день после вакцинации показатели лизиса лейкоцитов составляют в среднем 49-50 %, затем постепенно снижаются, но даже через 1-5 лет после вакцинации остаются на достаточно высоком уровне (30-31 %).

РЛ обладает строгой специфичностью, дает возможность количественного учета степени сенсibilизации организма, позволяет получить ответ через несколько часов после взятия крови, осуществляется *in vitro*, т. е. без введения в организм специфического аллергена.

Реакция лейкоцитоллиза (РЛ).

РНГА является наиболее чувствительным методом серологической диагностики и используется как для ранней, так и для ретроспективной диагностики, а также для определения иммунологического состояния привитых.

Сыворотку разводят от 1:100 до 1:10000. Антигеном служит туляремийный эритроцитарный диагностикум.

Диагностическим является титр 1:100 и выше (через 1-1,5 мес титр РНГА может достигать 1:10000). Позднее титр снижается до 1:100 и сохраняется долго.

Реакция агглютинации (с 10-15-го дня болезни). Из локтевой вены берут 2-3 мл крови в стерильную пробирку. Полученную сыворотку разводят от 1:50 до 1:1600. Диагностическим титром является положительный результат

в разведении сыворотки от 1:100 и выше. Реакцию наблюдают в динамике.

Нарастание титра достигает 1 :400-1 :800, затем снижается до 1: 10-1 :50 через 6-12 мес и сохраняется на протяжении нескольких лет.

Антигеном служит туляремийный диагностикум - убитая формалином взвесь туляремийных бактерий, содержащая в 1 мл 25 млрд микробных тел

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОБА является самым чувствительным способом обнаружения

туляремийных бактерий в любом исследуемом материале, в том числе и при исследовании материала от больных людей, так как животные (белые мыши, морские свинки) заболевают туляремией со смертельным исходом при подкожном введении единичных бактерий. Однако нужно иметь в виду, что при обследовании больных людей даже биологический метод не всегда надежен, так как не любой образец клинического материала содержит жизнеспособные туляремийные бактерии.

Патологический материал (пунктат из бубона, отделяемое кожной язвы, конъюнктивы глаз, миндалин или мокроту) **смешивают с** небольшим количеством изотонического **раствора натрия хлорида** (0,3-0,5 мл) и **вводят подкожно белой мыши (0,5 мл) или внутрибрюшинно морской свинке** (1- 2 мл). Кровь для исследования (3-5 мл) берут из локтевой вены, разводят пополам изотоническим раствором натрия хлорида и вводят подкожно белым мышам (по 0,5-1 мл) или внутрибрюшинно морским свинкам (5- 7 мл). **Сроки гибели биопробных животных зависят от степени инфицированности патологического материала и составляют 4-9 сут и более (до 15) для белых мышей и 6-15 сут (до 20) для морских свинок.**

Павших животных вскрывают, оценивают патоморфологические изменения в месте заражения (увеличение и гиперемия лимфатических узлов), а также в печени и селезенке. Из органов (регионарные лимфатические узлы, селезенка, легкие, печень, кровь) **готовят мазки-отпечатки** для бактериоскопии с окраской по Романовскому- Гимзе и люминесцирующей туляремийной сывороткой.

Культуру туляремийных бактерий от биопробных животных выделяют посевом органов на **специальные питательные среды**. Для серологического исследования кусочки органов (селезенка, печень) измельчают ножницами в чашке Петри, суспендируют в изотоническом растворе натрия хлорида с 4 % формалином и после экспозиции (в течение 1 ч) используют для постановки реакций (РНАт).

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОБА

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД является эффективным тестом экспресс -диагностики туляремии, позволяющим выявлять как живые, так и нежизнеспособные бактерии по свечению в них специфического антигена.

В основе метода лежит РИФ с люминесцирующими туляремиными иммуноглобулинами. В качестве материала для исследования в РИФ могут использоваться пунктат бубона, отделяемое слизистой оболочки глаз, кожной язвы, смывы с зева, миндалин и др.

Положительным результатом считается флюоресценция, оцениваемая на ++++ или +++ при достаточном количестве (3-5 клеток в нескольких полях зрения микроскопа) специфически флюоресцирующих бактерий туляремии.

При оценке исследуемого препарата необходимо учитывать не только интенсивность специфического свечения, но и обращать особое внимание на характерную морфологию бактерий и учитывать расположение клеток относительно друг друга.

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД диагностики туляремии малоэффективен и имеет дополнительное значение, что определяется особенностями течения инфекции у человека - низкой обсемененностью органов и тканей возбудителем.

Посев материала проводят на специальные питательные среды, применяемые для культивирования туляремийного микроба. Наиболее чувствительными и доступными являются свернутая желточная среда, желточно - агаровая среда, различные варианты агаровых сред, содержащих цистеин, глюкозу, кровь, другие факторы роста, а также специальные среды промышленного изготовления для культивирования туляремийного микроба (FT-агар).

Скорость появления роста культуры зависит от количества микробов в исследуемом материале: при посеве слабо инфицированного материала рост отдельных колоний возможен в отдаленные сроки, поэтому посевам следует выдерживать в термостате при 37 °C не менее 10 сут.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

- * морфология клеток и грамотрицательная их окраска в мазках;
- * характер роста на желточной среде или специальных средах;
- * отсутствие роста на простых мясопептонных средах;
- * агглютинация туляремийной сывороткой;
- * наличие специфического свечения в реакции иммунофлюоресценции;

* способность вызывать гибель белых мышей и морских свинок при их заражении испытуемой культурой с характерными для туляремии патологоанатомическими изменениями в органах и выделением чистой культуры возбудителя.

* Специфичность выделенной культуры может быть подтверждена также с помощью РИФ

Совокупность признаков, на основании которых осуществляют идентификацию свежевыведенной туляремийной культуры:

Антигенную
специфичность
выделенной
культуры проверяют
с помощью РА с
лошадиной
туляремийной
агглютинирующей
сывороткой
(коммерческой).

ПЦР также в
ряде случаев
используется
для детекции
ДНК
возбудителя
туляремии в
различных
объектах.

ТУЛЯРЕМИЯ

Экспресс-метод

ПЦР

РИФ

ИФА, РНГА

Пунктат из бубона (глангулярная и улце-роглангулярная форма), отделяемое язв, слизи оболочки глаз, кровь (генерализованная форма), мокрота (легочная форма), слизь, из зева, секционный материал, испражнения (абдоминальная форма) и др.

Посев на FT- агар с селективными добавками и /или желточную среду (Мак-Коя)

Биологический метод

Белые мыши до 15 сут,
морские свинки до 20 сут

РНГА, ИФА, РИ

Окраска по Граму,
Романовскому Гимзе

Посев на FT- агар с селективными добавками и /или желточную среду (Мак-Коя), 37 °С до 10 суток

чистая культура

Сыворотка крови

Окраска по Граму,
РИФ, РНАТ

ПЦР

Антибиотикограмма

РА, РНГА, ИФА

Серологический метод

Сыворотка крови

РНГА, ИФА

Метод выявления гиперчувствительности

Проба с тулярином



Включите видео и отдохните!

(CASE STUDY - изучаемое дело)

Girl with a pet rabbit has several skin ulcers and painful, swollen, draining lymph nodes.

(TRIGGER WORDS - ключевые слова)

Intracellular Rabbit

Ulcer

Tularemia

(ESSENTIAL FACTS - основные факты)

Control requires cell-mediated immunity because bacteria grow intracellularly. Only 10 organisms through wound or 50 by inhalation are required for infection. Considered a potential bioterror agent.

Francisella tularensis:
(Gram-Negative Intracellular)

(STRUCTURE - строение) (-)

Very small gram-negative coccobacilli

(Lab ID – лабораторное подтверждение)

Requires cysteine for growth (like *Legionella*)

(VIRULENCE FACTORS – факторы вирулентности)

Capsule, intracellular growth, inhibition of phagolysosome fusion

(DISEASES - заболевания)

Tularemia of different places depending on route of infection: ulceroglandular (skin from scratch or tick bite), oculoglandular, glandular, typhoidal-systemic, oropharyngeal, pneumonic

(EPIDEMIOLOGY - эпидемиология)

Wild mammals, domestic animals (rabblts), and hlood-sucking insect reservoirs. Hunters, pet owners, lab personnel at risk.

(PREVENTION - профилактика) Protective clothing

(TREATMENT - лечение)_Streptomycin

Thank you for the work labor!!!