



# Микробиология бруцеллёза и туляремии

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ №10**  
**Частная микробиология**  
**Для студентов ОмГМА**

# Микробиология бруцеллёза

- Бруцеллёз – острое или хроническое антропозоонозное инфекционное заболевание, относится к ООИ II группы патогенности; характеризуется интоксикацией, преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, нервной, сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и других органов, аллергизацией организма, затяжным течением, приводящим, как правило, к инвалидизации.
- Возбудители бруцеллёза – бруцеллы *открыты в 1886 г. Д.Брюсом.*

# Эпидемиология

- Бруцеллёз распространён на всех континентах.
- Резервуар в природе – с/х и домашние животные (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, реже олени, лошади, собаки, кошки).
- Источник - больные с/х и домашние животные
- Больной человек не заразен и является биологическим тупиком.
- Восприимчивость у человека к возбудителю высока. Пути передачи и механизмы передачи – различные, чаще:
  - фекально-орально,
  - пищевым путём,
  - контактно.
- Заболеваемость бруцеллёзом спорадическая или в виде вспышек.
- Инкубационный период от 1-3 недель до нескольких месяцев.
- Возбудители бруцеллёза – бруцеллы, относятся к Роду *Brucella*

# Классификация

■ Род *Brucella*, который включает в себя

■ виды:

- *B.melitensis* (бруцелла распространена среди мелкого рогатого скота, вызывает наиболее тяжелые поражения у человека). Имеет – 3 биовара.
- *B.abortus* (возбудитель бруцеллёза у крупного рогатого скота; в основном - хронический бруцеллез). Имеет – 9 биоваров.
- *B.suis* (возбудитель бруцеллёза свиней). Включает 4 биоваров
- *B.canis* (собаки)
- *B.neotomae* ( олени, грызуны)
- *B.ovis* (овцы)

Для человека наибольшее значение имеют *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*.

# Морфология

- Бруцеллы – мелкие грамотрицательные микробы шаровидной, овальной и палочковидной формы.
- Неподвижные
- Спор не образуют
- Могут образовывать нежную капсулу под действием специфического бактериофага или при выращивании на среде с 10% иммунной сывороткой.
- Устойчивы в окружающей среде: от 45 до 60 дней (молоко и др.); в замороженном мясе – более 5 месяцев; в воде, почве – 5 и 3 месяцев соответственно.
- Малоустойчивы к высокой температуре: при кипячении гибнут моментально; при 60° С через 30 минут.
- Чувствительны к большинству антибиотиков и дезинфектантов.

# B. abortus



# Культуральные свойства.

- **Аэробы**
- **На простых средах не растут**
- **Растут замедленно, посе́вы инкубируют не менее 3 недель.**
- **Рост бруцелл на жидких средах сопровождается равномерным помутнением сред.**
- **Бруцеллы требовательны к питательным средам.**
- **Лучше растут на сложных обогащенных средах с добавлением крови или сыворотки крови, глюкозы, глицерина (сывороточно-декстрозный и кровяной агары): печеночный агар Хеддельсона, 5% кровяной агар, мясопептонный бульон.**
- **На 5% КА гемолиз не дают.**
- **Пигмента не образуют.**
- **Температурный оптимум 37 ° С.**
- **Оптимум pH=6,6-7,4**
- **Колонии возбудителя на плотных питательных средах растут:**
  - **в S- форме мелкие, выпуклые, гладкие, с перламутровым оттенком, голубовато-серые, полупрозрачные, могут лизироваться бруцеллёзным бактериофагом;**
  - **при диссоциации образуют шероховатые R- формы колоний;**
  - **наблюдаются диссоциации от S к R – формам.**

# Рост *V. melitensis*

- На 5% КА  
гемолиз  
не образуют



# Биохимическая активность очень низкая

- Бруцеллы образуют ферменты:
  - Уреазу +,
  - Фосфатазу +,
  - Каталазу +;
- ферментируют углеводы в зависимости от видовой принадлежности: галактозу, рибозу, глюкозу, ксилозу, арабинозу
- при дифференциации на виды и биотипы используют дополнительные признаки, в т.ч. способность расти на средах, в присутствии красителей, обладающих бактериостатическим действием на отдельные виды бруцелл: основной фуксин, тионин, сафранин;
- выделяют сероводород;
- окисляют различные аминокислоты в зависимости от видовой принадлежности (аргинин, лизин), аланин, аспаргин, глютаминовую кислоту;
- редуцируют нитраты в нитриты;
- реакция VP – отрицательная;
- некоторые виды требуют для роста  $\text{CO}_2$

# Антигенная структура

- Бруцеллы имеют общий соматический **OAg** *родоспецифический антиген*, поэтому бруцеллы разных видов дают перекрестную агглютинацию и капсульный **K Ag**.
- Два главных поверхностных антигена:
  - **A** (преобладает у *B.abortus*)
  - **M** (преобладает у *B.melitensis*) встречаются в различных количественных соотношениях у различных видов бруцелл. Для их идентификации используют антисыворотки.
- Бруцеллы имеют поверхностный **L Ag** - антиген (сходен с Vi - антигенами сальмонелл).
- Шероховатые формы содержат специфический **R Ag** - антиген, для его идентификации используют специфические антисыворотки, применяемые при серотипировании. (Колонии *B.canis*, *B.ovis* и *B.suis* 5 биотипа всегда имеют R- формы).
- Многие антигенные фракции бруцелл обладают выраженным алергизирующим действием.
- У бруцелл имеются перекрестнореагирующие антигены с возбудителем туляремии, *Bordetella bronchiseptica* и *Y.enterocolitica* серотипа 09.

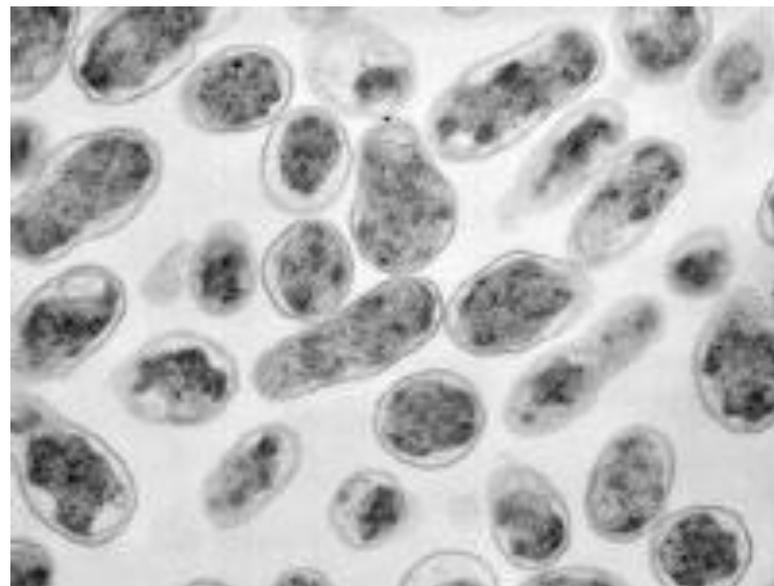
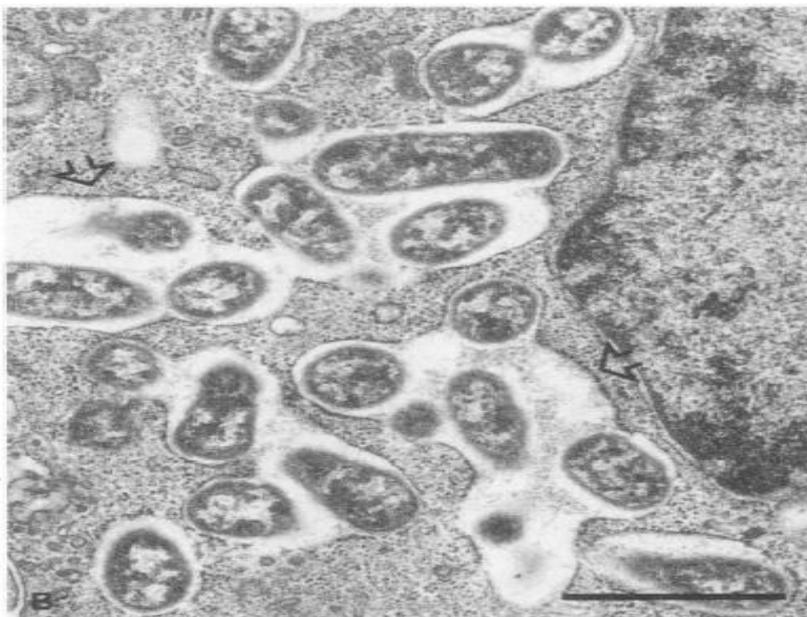
# Факторы патогенности

- Бруцеллы – факультативные внутриклеточные паразиты млекопитающих.
- Обладают высокой инвазивной способностью.
- Патогенность бруцелл связана с наличием:
  - *эндотоксина;*
  - *ферментов: гиалуронидазы, уреазу,*  
*- фосфатазу, каталазу;*
  - наличием *низкомолекулярных продуктов,* способствующих подавлению фагоцитоза и окислительного взрыва в макрофагах;
  - наличием *аллергизирующих субстанций.*

# Патогенез бруцеллёза

- По лимфатическим путям бруцеллы попадают в регионарные лимфоузлы, где размножаются в макрофагах, частично подвергаются внутриклеточному уничтожению.
- Продукты жизнедеятельности бруцелл ингибируют фагосомо - лизосомальное слияние. Морфологически в лимфоузлах формируется "первичный бруцеллезный комплекс" с формированием гранулем Новицкого с преобладанием крупных эпителиоидных клеток. Из разрушенных макрофагов в лимфоузлах бруцеллы попадают в кровь, распространяются по организму и поражают лимфатическую систему, печень, селезенку, нарушаются функции опорно-двигательного аппарата, нервной и половой систем.
- Болезнь может иметь длительное хроническое течение (по сути - хронический сепсис).
- В патогенезе бруцеллеза имеет значение цикличность процессов, связанных с повторными проникновениями бруцелл в кровь из очагов с развитием местной воспалительной и общей реакций, на формирование которых существенное влияние оказывает специфическая сенсibilизация (реакция ГЗТ).
- Существенное значение в патогенезе, кроме аллергической перестройки и интоксикации, имеет преимущественное вовлечение в инфекционный процесс тех или иных органов и тканей.

# Патогенез бруцеллёза. Внутриклеточное расположение возбудителя.



# Иммунитет

- Клеточно-гуморальный
- Нестерильный и относительный
- Возможна реинфекция

## Лечение

- I. Антибиотики широкого спектра действия со стрептомицином при наличии бактериемии (При хроническом бруцеллёзе А/б не эффективны из-за внутриклеточного расположения бактериальных клеток).
- II. Специфическая иммунотерапия:
  - 1) убитой лечебной бруцеллезной вакциной ( 5-7 в/в вливаний в нарастающих дозах 1-2 раза в неделю);
  - 2) бруцеллином (в/м по 2 раза в неделю);
  - 3) При острых и рецидивирующих формах назначают бруцеллезный иммуноглобулин.

## Специфическая профилактика

- Вакцинация по э/показаниям живой бруцеллезной ослабленной вакциной ЖБВ П.А.Вершиловой из штамма ВА-19А из *B. abortus* и создающую перекрёстный иммунитет против других видов бруцелл. Разработана химическая бруцеллезная вакцина, которая отличается от живой вакцины более низкой реактогенностью.

## Неспецифическая профилактика

- Санитарно-ветеринарные мероприятия

# • Лабораторная диагностика бруцеллёза

## ❖ Материал для исследования:

Кровь, пунктат, красного костного мозга испражнения, молоко-молочные продукты, кусочки органов.

Методы лабораторного исследования:

1. бактериоскопический
2. бактериологический
3. биологический
4. экспресс-метод
5. серологический
6. аллергологический.

5 и 6 методы проводятся в базовых лабораториях, остальные в специальных лабораториях ООИ.

# • Лабораторная диагностика бруцеллёза

## ■ Серологический метод

■ В сыворотке больных накапливаются агглютинирующие (вначале IgM, затем IgG), неполные блокирующие (IgA и IgG) и опсонические (IgG) антитела.

■ Для их выявления с диагностической целью используют:

- реакцию Райта DS титр = 1:200 (развёрнутая агглютинация) – положительная спустя 1-2 нед после начала заболевания, сохраняется на долгие годы.
- реакция Хеддельсона (пластинчатая агглютинация) – для ускоренной серодиагностики с неразведённой сывороткой больного и концентрированным Ag-диагностикумом, окрашенным метиленовым синим.

Стекло 9x12см : на 5 квадратов, куда вносят микропипетками ингредиенты, после их перемешивания палочкой, стекло прогревают над горелкой до 37 гр С – 2 мин. При + результате = хлопья синего цвета. Реакция положительная при наличии агг-ции на «++» в дозах сыворотки 0,02-0,01 мл.

# • Лабораторная диагностика бруцеллёза

## ■ Серологический метод

### Постановка пластиночной РА Хеддельсона

Ингредиенты	1 квадрат	2 квадрат	3 квадрат	4 квадрат	5 квадрат
Сыворотка (мл)	0,04	0,02	001	0,02	-
Диагностикум (мл)	0,03	0,03	0,03	-	0,03
Изотонический р-р NaCl (мл)	-	-	-	0,03	0,03

# • Лабораторная диагностика бруцеллёза

- РПГА,
- РИФ
- ИФА,
- Реакция Кумбса, определения неполных антител
- Опсонофагоцитарную реакцию.
- В поздние сроки – РА, РНГА, РСК

□ При массовых обследованиях реакцию Хеддельсона проводят в сочетании с кожно-аллергической пробой Бюрне.

□ **Проба Бюрне** (её ставят с 15-20 дня).

На ладонную поверхность предплечья в/к вводят 0,1 мл бруцеллина. При ГЗТ через 6-8 час появляется гиперемия кожи и болезненная отёчность. Учёт реакции через 24 час. ( недостаток – положительна у больных, переболевших и у вакцинированных)

Реакцию Хеддельсона не заменяет пробу Бюрне.

- В ранние сроки определяют IgM, в более поздние – IgG.
- **Экспресс-методы: ПЦР**

# Проба Бюрне

- Кожно – аллергические пробы.

Для диагностики распространенных форм немедленной аллергии применяют скарификационные и prick – тесты кожного тестирования. При выявлении ГЗТ используют внутрикожный тест с аллергенами микробов (с туберкулином, бруцеллином, токсоплазмином и др.). Реакция оценивается через 24-48 часов.

Таблица 2.2. Оценка скарификационных кожных тестов

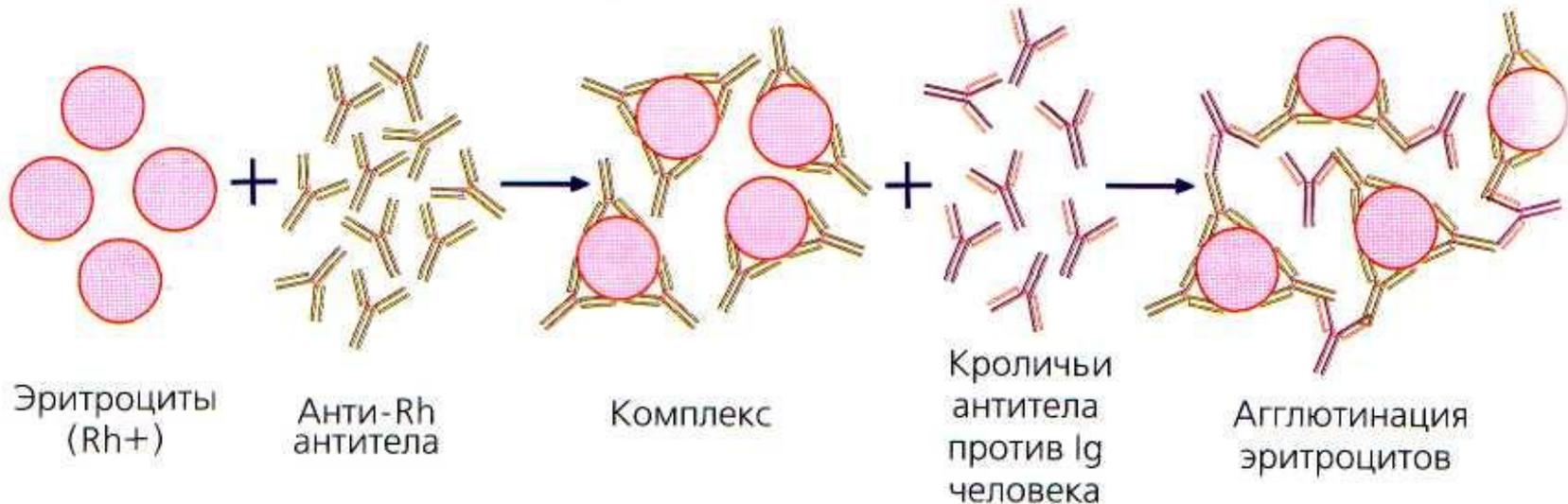
Реакция	Условные обозначения	Характеристика реакции
Отрицательная	–	Отсутствие реакции – волдыря и гиперемии, соответствие контролю
Слабоположительная	+	Гиперемия и папула (волдырь) диаметром 2–3 мм
Положительная	++	Гиперемия и папула (волдырь) диаметром 4–5 мм
Резко положительная	+++	Гиперемия и папула (волдырь) диаметром 6–10 мм с псевдоподиями
Очень резко положительная	++++	Яркая гиперемия и папула (волдырь) диаметром более 10 мм с псевдоподиями; лимфангиит



Компоненты кожного теста

# Реакция Кумбса

- **Реакция Кумбса** - непрямая реакция агглютинации для определения антирезусных (неполных) антител . У некоторых больных обнаруживают антирезусные антитела, которые являются неполными, одновалентными. Они специфически взаимодействуют с резус-положительными эритроцитами (Rh + ), но не вызывают их агглютинации. Для этого в систему «антирезусные антитела + резус- положительные эритроциты» добавляют антиглобулиновую сыворотку (антитела против иммуноглобулинов человека), что вызывает агглютинацию эритроцитов .



# Лабораторная диагностика бруцеллёза

## Серологические методы:

на Ag – РА, РНГА, (РПГА);  
на At- Райта (РА), Хеддельсона, реакция Кумбса, РСК, опсонофагоцитарная реакция

**Гр-кокко  
бацилл**  
БГ

Кровь сеют  
на  
гемокультуру  
в 50 мл Печ  
б-на  
ев  
ны  
е  
кур  
ин  
ые  
эм  
бр  
ис  
ны

## Экспресс-методы:

- РИФ
- ИФА
- ПЦР
- Латекс-агглютинация
- Ко-агглютинация
- РТП – Реакция термпреципитации по Асколи для выявления соматического антигена

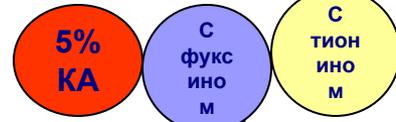
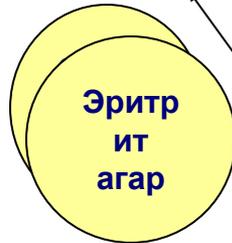
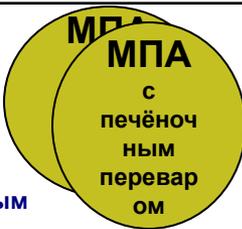
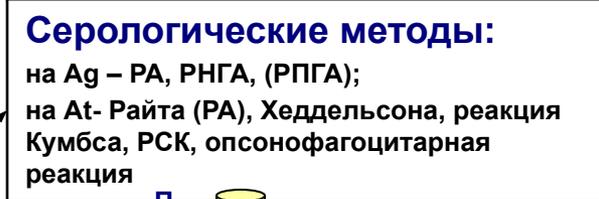
## Аллергический метод: Проба Бюрне

**Биопроба:** На белых мышах, морских свинках. Осадок мочи и молоко п/к.

Через 20-30 дней берут кровь для РА (развёрнутая и пластинчатая). Забивают животных, делают посевы крови из сердца, взвесь внутренних органов и лимфоузлов (или мазки-отпечатки из органов погибших животных).

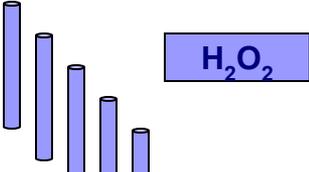
На питательные среды

**Бактериологический метод:**  
37° С от 4-5 дней до 30 дней  
Посев по 2 чашки без и с + 10% CO<sub>2</sub>  
Рост в виде R, S – форм



**Ферментативн  
ая активность  
низкая:**

- гемолиз (-)
- фосфатаза (+)
- Уреаза (+)
- Каталаза (+):



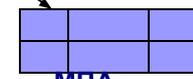
**Биохимическая  
активность:**

- глюкоза (+-),
- Арабиноза (+-),
- галактоза (+-),
- рибоза (+-)
- Ксилоза (+-),
- восстанавливают нитраты в нитриты (+)
- VP (-).
- сероводород (+)

Чистая культура



На предметные стёкла



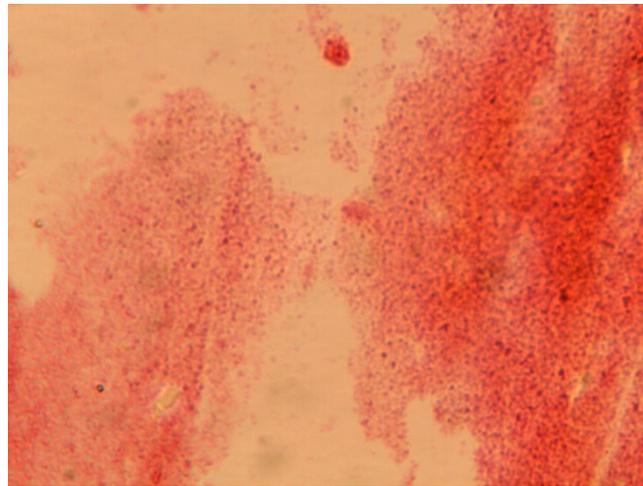
L-формы



РИФ,  
ПЦР,  
ИФА,



# Микробиология туляремии



# ◆ Туляремия

- - это острое или хроническое системное природно-очаговое заболевание человека и животных, которое характеризуется лихорадкой, интоксикацией и поражением лимфотических узлов.
- Возбудитель *Francisella tularensis*
- Род *Francisella*

# *Francisella tularensis*

- Возбудитель открыт в 1911 г. Г.Мак-Коем и Х.Чепином.
- Детально изучен Э.Френсисом.
- Семейство *Brucellaceae*
- Род *Francisella*
  
- Выделяют **3 подвида** туляремийного возбудителя по вирулентности для кроликов и биохимическим особенностям, а также географическому распространению (*эколого-географические расы*):
  - Голарктический** (Европа, Азия и Северная Америка) – умеренно патогенный для домашних кроликов, который делится на **биовары**:
    - 1) Японский (Японские острова);
    - 2) эритромициночувствительный и чувствительный к антибиотикам-макролидам ( Европа, Азия, Северная Америка);
    - 3) эритромицинустойчивый (Восточная Европа и Западная Сибирь).
  
  - Среднеазиатский** (долина рек Средней Азии) – умеренно патогенный для домашних кроликов;
  
  - Неарктический** или американский (Северная Америка) - высокопатогенный для домашних кроликов.

# Эпидемиология

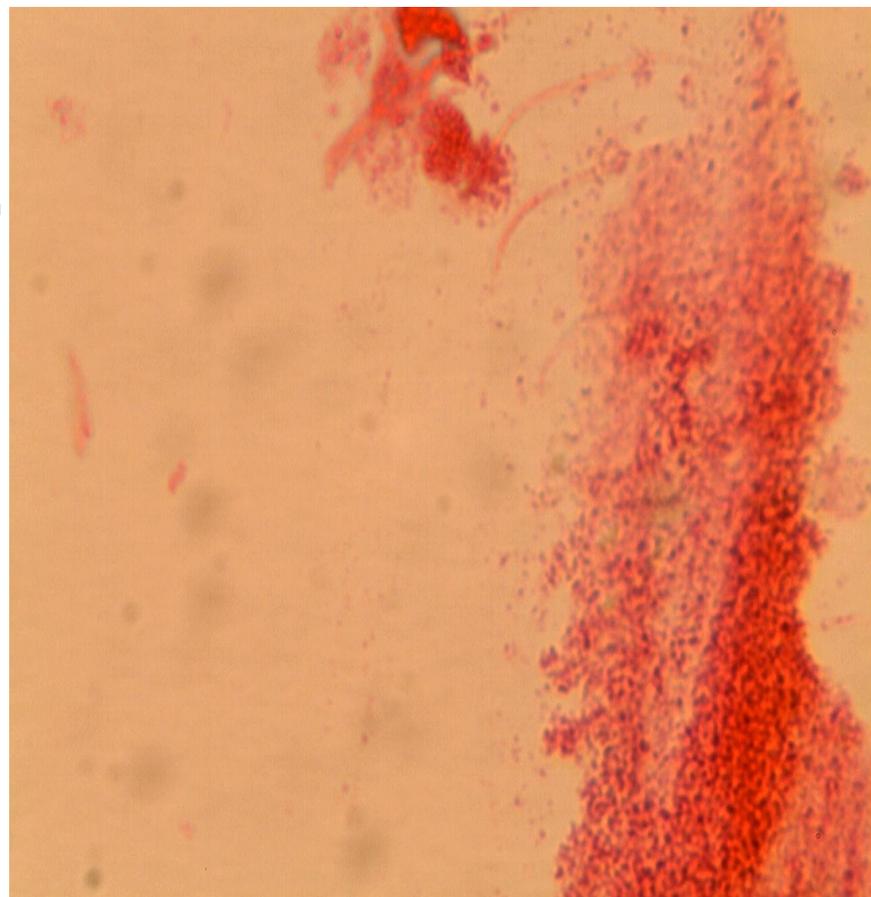
- Основной вид - *F.tularensis* - возбудитель *туляремии* - природноочаговой инфекции.
- **Резервуар** - многие виды преимущественно мелких диких позвоночных животных (представителей четырех основных семейств - мышевидных, заячьих, беличьих и тушканчиковых).
- На территории России основными **носителями** являются мышевидные грызуны - водяные крысы, ондатры, различные виды полевок.
- Могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот.
- Помимо *F. tularensis* к этому роду относится *F. novicida*, патогенность которой для человека не доказана.

# Эпидемиология

- На территории России выделено 7 основных *ландшафтных типов природных очагов* туляремии: пойменно-болотный, луго - полевой, степной, лесной, предгорно-ручьевой, тундровый и тугайный (пойменно-пустынный) со своими основными хозяевами возбудителя и эколого-эпидемиологическими особенностями.
- Человек очень чувствителен к туляремийному микробу, **минимальная инфицирующая доза - одна микробная клетка.**
- Животные по чувствительности к этому микроорганизму разделены на четыре группы.
- Особое значение в условиях Западной Сибири имеют водяные крысы и ондатры.
- Заражение человека может происходить путем **контакта** с грызунами или инфицированными ими предметами, **алиментарным** путем (инфицированные грызунами вода и пищевые продукты), **воздушно - пылевым путем (аэрозольно)**, **трансмиссивно** (иксодовые клещи и другие кровососы).
- Н.Г.Олсуфьев выделяет две экологические формы возбудителя - “сухопутную”, характеризующуюся передачей через иксодовых клещей (все три подвида), и “водную”, связанную с околводными видами грызунов и другими организмами - гидробионтами, с преимущественной передачей через воду и укусы комаров (голарктический подвид).

# Морфология

- Франциселлы - мелкие кокковидные или эллипсоидные полиморфные палочки,
- неподвижные,
- грамтрицательные,
- не образующие спор.



# Факторы патогенности

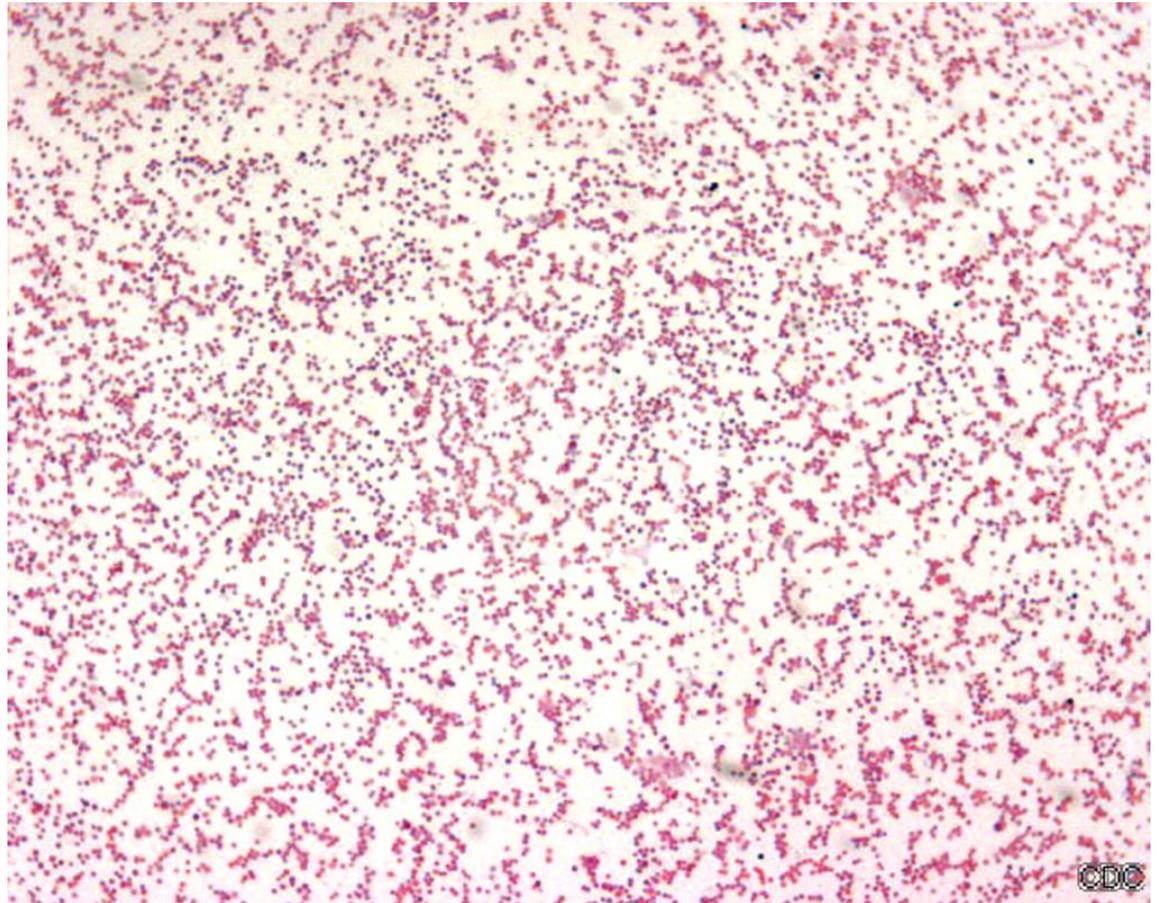
- Возбудитель туляремии является внутриклеточным паразитом.

Вирулентность обусловлена:

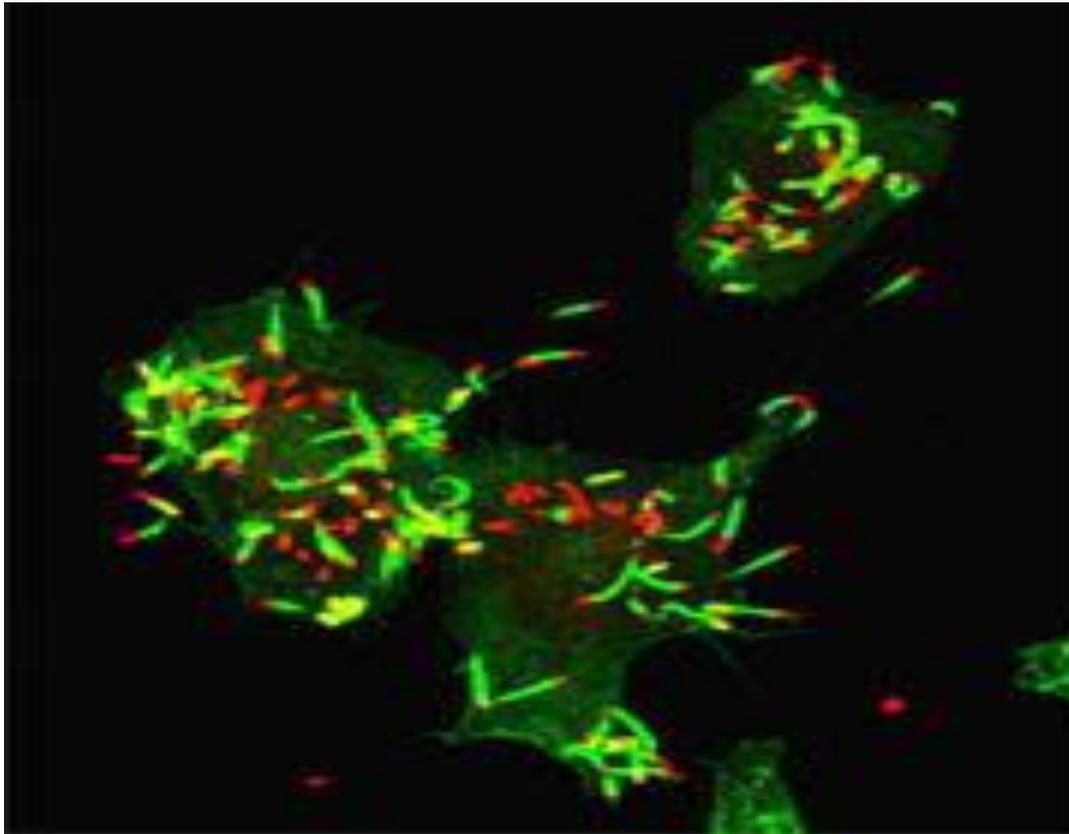
- - капсулой, угнетающей фагоцитоз;
- - нейраминидазой, способствующей адгезии;
- - эндотоксином (интоксикация);
- - аллергенными свойствами клеточной стенки;
- - способностью размножаться в фагоцитах и подавлять их киллерный эффект;
- - наличием рецепторов к Fc-фрагменту IgG, подавлять активность систем комплемента и макрофагов.

# *Francisella tularensis*

- Грам «-» палочки овоидной формы



# *Francisella tularensis* PИΦ



# Культуральные свойства.

- Строгие аэробы или факультативные анаэробы,
- оптимум температуры около +37-38<sup>0</sup>С,
- рН - близкая к нейтральной 6,8-7,4.
- Культивируются на агаровых и желточных средах сложного состава с добавлением цистеина, глюкозы, крови (Мак-Коя, Чепина, Френсиса, Анциферова, Емельяновой, )
- Рост медленный.
- Образуют мелкие колонии, напоминающие капельки росы, круглые с ровным краем, выпуклые, блестящие, с голубоватым отливом или молочно-белого цвета.
- Хорошо культивируются в желточном мешке куриного эмбриона.
- При культивировании на искусственных питательных средах происходит аттенуация бактерий и превращение их из вирулентной S-формы в авирулентную и неиммуногенную R-форму.
- Вакцинные штаммы – SR-формы.

# *Francisella tularensis*



# Биохимическая активность

- Слабо ферментируют до кислоты без газа некоторые углеводы:  
глюкозу,  
мальтозу,  
левулёзу,  
маннозу,
- **Образуют сероводород.**
- *Подвиды* туляремийного микроба отличаются по биохимическим особенностям:  
**голарктический** - не ферментирует **глицерин, цитруллин**;  
**неарктический** - ферментирует глицерин, не ферментирует цитруллин;  
**среднеазиатский** - ферментирует глицерин и цитруллин,

# Антигенная структура

- *F.tularensis* в S (вирулентной) форме имеет два основных антигенных комплекса - O антиген (обнаруживает сходство с O - антигенами бруцелл) и Vi (капсульный) антиген.
- Диссоциация S  $\square$  R приводит к утрате капсулы, вирулентности и иммуногенности.

# Клиника и патогенез туляремии



# Клиника и патогенез туляремии

- Франциселлы проникают в организм через кожу и слизистые глаз, рта, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта.
  - Выделяют следующие стадии в патогенезе туляремии (Г.П.Руднев (1970)) :
    - 1. Внедрения и первичной адаптации возбудителя.
    - 2. Лимфогенного заноса.
    - 3. Первичных регионарно - очаговых (туляремийный бубон) и общих реакций.
    - 4. Гематогенных метастазов и генерализации.
    - 5. Вторичной полиочаговости.
    - 6. Реактивно - аллергических изменений.
    - 7. Обратного метаморфоза и выздоровления.
- В ряде случаев процесс может ограничиваться первыми тремя фазами.

# Клиника и патогенез туляремии

■ Основные клинические формы туляремии:

- язвенно-бубонная (ульцерогландулярная),
- глазо-бубонная (окулогландулярная),
- легочная,
- абдоминальная,
- генерализованная, другие формы (в т.ч. ангинозно-гландулярная),
- неуточненная

*(международная статистическая классификация болезней, 10 пересмотр. ВОЗ, 1995).*

# Лабораторная диагностика туляремии

- **Биологический материал** для исследования определяется формой болезни:

кровь,

пунктат из бубона,

соскоб из язвы,

отделяемое с конъюнктивы,

налёт из зева, мокрота и т.д,

- **Материал из ООС:**

вода,

пищевые продукты

# Лабораторная диагностика туляремии

- Исследования проводят в режимных лабораториях.
- Методы диагностики туляремии у человека :
  - 1. Бактериологический метод** имеет дополнительное значение и не всегда эффективны, что определяется биологическими особенностями возбудителя и особенностями инфекции у человека (малая концентрация возбудителя в органах и тканях).

Чистую культуру бактериологическим методом выделяют после накопления её на восприимчивых животных - биологический метод.
  - 2. Биологический метод** более эффективный метод диагностики. Заражают белых мышей п/к, морских свинок – в/б или заражают 12 дневные куриные эмбрионы.

Животные погибают на 3-6 день, могут позже до 14 дней. Животных вскрывают, наблюдают патологоанатомические изменения с некрозом. Выделяют чистую культуру из органов делая мазки-отпечатки на плотные питательные среды (желточная, глюкозоцистеиновый кровяной агар, среда Емельянова и др.).

# Лабораторная диагностика туляремии

- 3. Бактериоскопический метод.** Окраска по Граму, мазков-отпечатков органов - по Романовского-Гимзе (внутриклеточное расположение бактерий с нежной капсулой).
- 4. Серологический метод:** РА, РПГА, РСК на холоде, РИФ, РНАТ. Обязательно исследование парных сывороток крови
- 5. Аллергические пробы (Аллергодиагностика)-** накожный и внутрикожный способы введения тулярина : для ранней диагностики туляремии – с 5 дня от начала болезни. Учёт через 24-36-48 часов. Положительный результат – инфильтрат не менее 5 мм.  
У больных накожные и внутрикожные туляриновые пробы не рекомендуются в связи с возможностью ухудшения состояния больного. Могут применяться методы аллергодиагностики in vitro - реакция лейкоцитолиза, РТМЛ и др.
- 6. Экспресс-методы:** ИФА, ПЦР, Латекс-агглютинация, Ко-агглютинация

# Лабораторная диагностика туляремии

**Культуру идентифицируют по совокупности следующих признаков:**

- морфология клеток и грамотрицательная окраска;
- рост на желточной среде и специальных средах
- отсутствие роста - на простых мясо - пептонных средах;
- специфическое свечение в реакции иммунофлюоресценции (МФА);
- агглютинация культуры туляремийной сывороткой;
- способность вызывать гибель белых мышей и морских свинок с характерными патологоанатомическими изменениями в органах и выделением чистой культуры.

# Лечение

- Для лечения применяют антибиотики стрептомицинового и тетрациклинового ряда.
- В случаях затяжного течения проводят комбинированную антибиотикотерапию и вакцинотерапию с применением убитой лечебной вакцины.

## Специфическая профилактика.

- На неблагополучных по туляремии территориях применяют живую туляремийную вакцину, полученную Б.Я. Эльбертом и Н.А.Гайским из штамма №15.

**Иммунитет прочный, длительный**, проверяется с помощью пробы с тулярином. С помощью этой пробы отбирают контингенты на вакцинацию по эпидпоказаниям и ревакцинацию лицам группы риска.

## ■ Неспецифическая профилактика

Как при природно-очаговых зоонозах и направлена на борьбу с грызунами

# Лабораторная диагностика туляремии

**Серологические методы:**  
 на Ag - РА на стекле (сыворотка разв.1:25),  
 на Ат: РА (1:100), РПГА, РСК, Кровяно-капельная проба (1:100), РНАТ  
 Через 20-30 дней берут кровь для РА.

**Гр-палочк**  
и

**Биопроба:** На белых мышах (п/к) или морских свинок (вн/брюшинно). Животные погибают на 3-6 сутки



Забивают животных, делают посевы крови из сердца, взвесь внутренних органов и лимфоузлов (или мазки-отпечатки из органов погибших животных).



Посев мазками-отпечатками на среды желточные, с цистеином, глюкозой, с кровью и с антибиотиками

**37° С - 24 час до 10 суток**

**S-вирулентная R-авирулентная формы**

**Ферментативная активность:**  
 глутаминаза (+)  
 аспарагиназа (+)  
 дезаминаза (+)  
 трансаминаза (+)

Каталазная активность (+):



**Биохимическая активность низкая:**

глюкоза (+),  
 мальтоза (+),  
 манноза (+-)  
 левулёза (+-)  
 маннит (-)  
 сероводород (+),  
 редукция метиленового синего (+),

мазки-отпечатки окраска по Романовском у-Гимзе

**Мак-Коя**

по Граму

Чистая культура

**Чув к А/б**

**МПА**

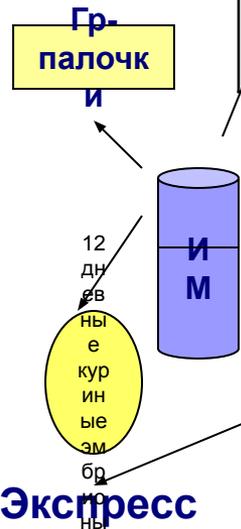
Отсутствие роста

**РИФ, ПЦР, ИФА,**

**Экспресс-методы:**

- РИФ
- ИФА
- ПЦР
- Латекс-агглютинация
- Ко-агглютинация

**Аллергический метод:**  
 Проба с тулярином

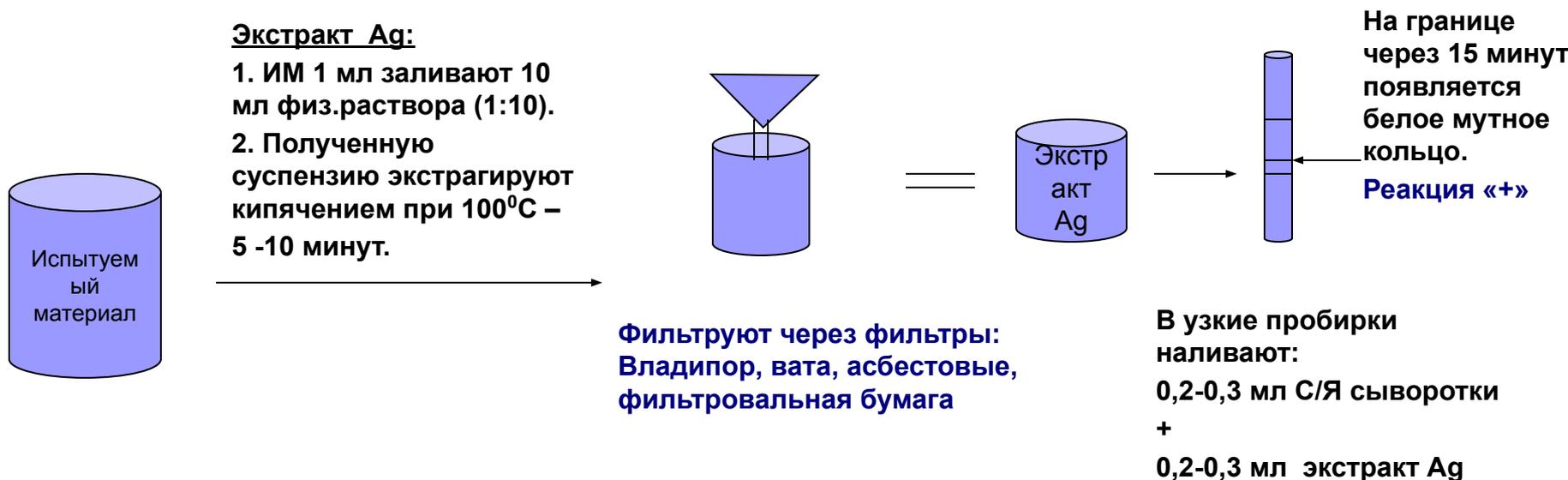


# РТП – Реакция термопреципитации по Асколи

- Реакция используется для обнаружения сибиреязвенного Ag.
- РТП используется при наличии струпов, несвежего материала, шкур, павших животных.
- Материалы для исследования:
  1. Преципитирующая сибиреязвенная сыворотка
  2. Ag из испытуемого материала
  3. Сибиреязвенный бактериальный Ag для контроля

# РТП – Реакция термореципитации по Асколи

## ■ Схема постановки.



Параллельно ставятся контроли «+» и «-»:

1. Преципитирующая сыворотка + экстракт из материала больного животного – «+» К
2. Преципитирующая сыворотка + экстракт из материала здорового животного – «-» К
3. Преципитирующая сыворотка + физ.раствор – «-»
4. Нормальная сыворотка + исследуемый экстракт – «-»

