

Возбудители зоонозных инфекций

Возбудители чумы,
сибирской язвы,
бруцеллеза и туляремии



Особо опасные инфекции (ООИ)



- Чума, холера, желтая лихорадка, сибирская язва, бруцеллез, туляремия, полиомиелит, геморрагические лихорадки, сыпные и возвратные тифы, малярия.
Это острые инфекционные болезни человека, способные к внезапному появлению, быстрому распространению, характеризующиеся тяжелым течением и высокой летальностью.



Зоонозные инфекции

- Источник – животное
- Природно-очаговые заболевания (эпизоотии)
- Множественность путей передачи
- Не передаются от человека человеку
- Преимущественно тяжелое течение у человека, высокая летальность
- Диагностика строго в специализированных лабораториях ООИ.

Возбудитель чумы *Yersinia pestis* (палочка Китазато)



Семейство Enterobacteriaceae

Род *Yersinia*

Виды:

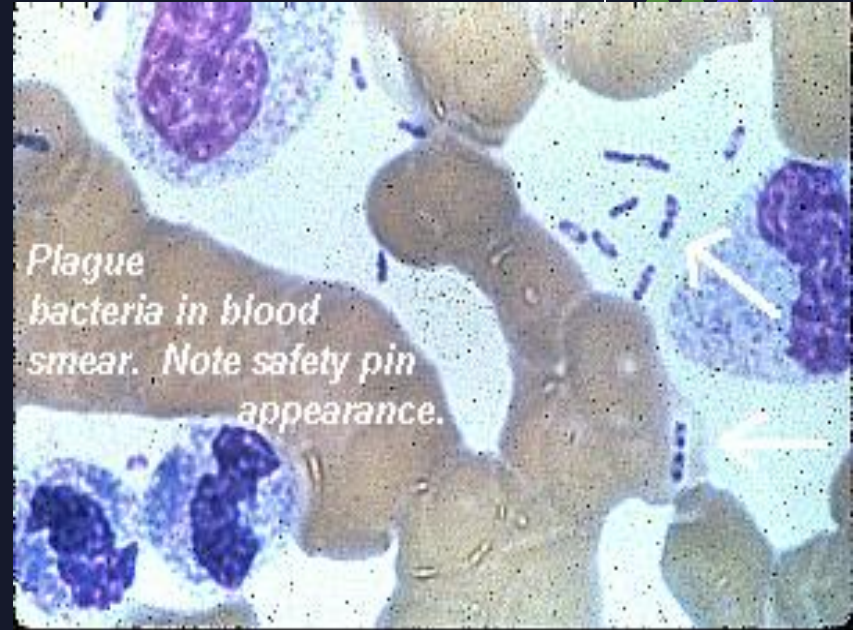
pestis – возбудитель чумы

pseudotuberculosis – в-ль псевдотуберкулеза

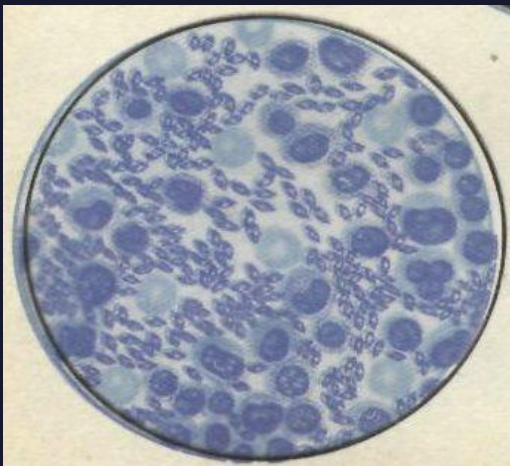
enterocolitica – в-ль кишечного иерсиниоза

Морфологические свойства *Y.pestis*

- Короткие грамотрицательные палочки овоидной формы
- Биполярно окрашиваются (по Леффлеру или Романовскому-Гимзе)
- Неподвижные, имеют нежную капсулу
- Спор не образуют



Y. pestis в мазке крови.



Y.pestis, окраска по Леффлеру (метиленовым синим)

Культуральные свойства



- Факультативный анаэроб
- Оптимальная температура его роста 28°C
- Растет на простых питательных средах
- Колонии – «кружевной платочек»

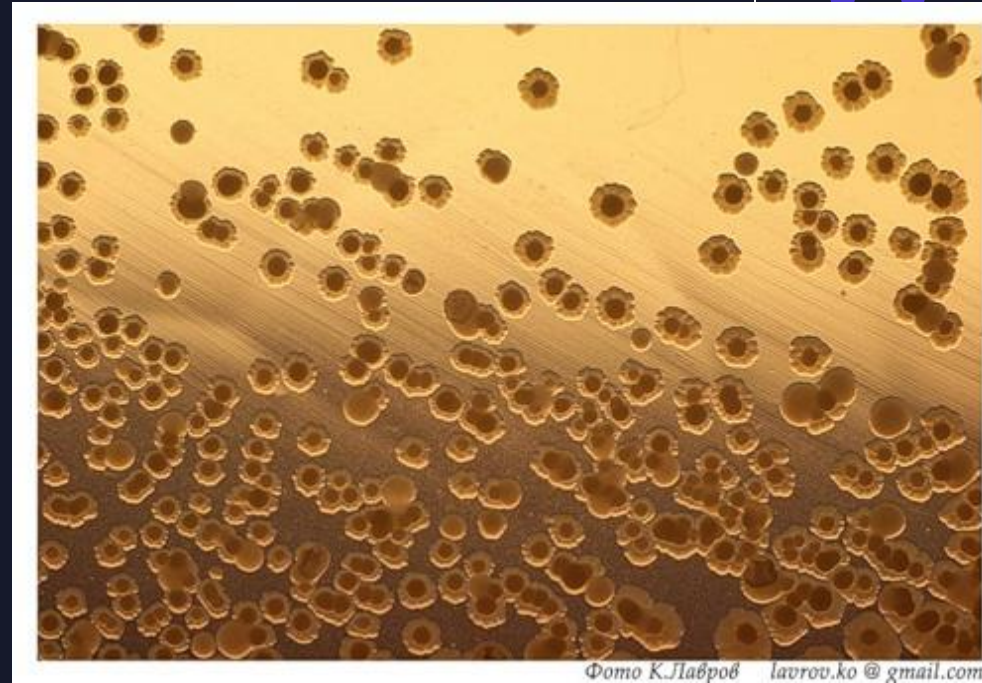


Фото К.Лавров lavrov.ko@gmail.com



Факторы патогенности *Y.pestis*

- *Адгезии* – пили, структуры наружной мембраны
- *Инвазивные* – фибринолизин, нейраминидаза, пестицин, аминопептидаза
- *Антифагоцитарные* – капсула, рН6-антиген, V- и W-антигены, супероксиддисмутаза
- *Токсины*
 - – эндотоксин (высвобождается при гибели клетки),
 - - Экзотоксин «мышинный токсин» (белковой природы, с типичной АВ-структурой; блокирует функции клеточных митохондрий печени и сердца, а также вызывает образование тромбов)



Эпидемиология чумы

Основные источники инфекции –

1) Грызуны, пути передачи:

- – трансмиссивный через укусы инфицированных блох
- - контактный
- - алиментарный

2) Люди, больные легочной формой чумы, путь передачи:

- - воздушно-капельный

Эпидемиология чумы



Патогенез



- Клиническая картина и патогенез зависят от входных ворот инфекции;
- После адгезии возбудитель очень быстро размножается;
- бактерии в большом количестве вырабатывают факторы проницаемости (нейраминидаза, фибринолизин, пестицин), антифагины, подавляющие фагоцитоз (F1, HMWPs, V/W-Ar, PH6-Ag), что способствует быстрому и массивному лимфогенному и гематогенному диссеминированию прежде всего в органы мононуклеарно-фагоцитарной системы с её последующей активизацией.
- Массивная антигенемия, выброс медиаторов воспаления, в том числе и шокогенных цитокинов, ведёт к развитию микроциркуляторных нарушений, ДВС-синдрома с последующим исходом в инфекционно-токсический шок.

Микробиологическая диагностика чумы



- Исследуемый материал: пунктат из бубонов и карбункулов, отделяемое язв, мокрота и слизь из ротоглотки, кровь
- Методы лабораторной диагностики:
- Экспресс-метод –иммунофлуоресцентный прямой
- Микроскопический (бактериоскопический)
- Бактериологический
- Серологический (ИФА, РНГА, РСК с парными сыворотками)
- Биологический
- Молекулярно-генетический (ПЦР)

Иммунофлуоресцентный метод



МБД чумы



- Работа с живой культурой проводится в специализированных режимных лабораториях для работы с возбудителями особо опасных инфекций





Бактериологический метод

**Идентификация проводится
по следующим свойствам:**

- морфологическим**
- культуральным**
- биохимическим**
- серологическим**
- чувствительности к
чумному бактериофагу**
- патогенности для
животным**

Серологические реакции в диагностике чумы



- Применяют для выявления антигенов *Y.pestis* в исследуемом материале используют реакции - ИФА, РНАТ, РОНГА, ИФА, МИФ.
- Антитела в сыворотке крови выявляют в РНГА и ИФА для установления ретроспективного диагноза, а также при обследовании грызунов и природных очагах чумы

Молекулярно-генетический метод - ПЦР



- Результат ПЦР получают через 5-6 часов.
- При положительном результате – наличии специфической ДНК чумного микроба – подтверждает предварительный диагноз чумы.
- Окончательное подтверждение чумной этиологии болезни делается только при выделении чистой культуры *Y.pestis* и ее идентификации.

Специфическая профилактика и лечение



- Вакцина чумная (Vaccine plague) - вакцина чумная живая сухая представляет собой взвесь живых бактерий вакцинного штамма чумного микроба EV
- Лечение: антибиотики, чумной бактериофаг, иммуноглобулин

Возбудитель сибирской язвы

Bacillus anthracis



Семейство Bacillaceae

Род *Bacillus*

Условно-патогенный вид:

B. anthracoides

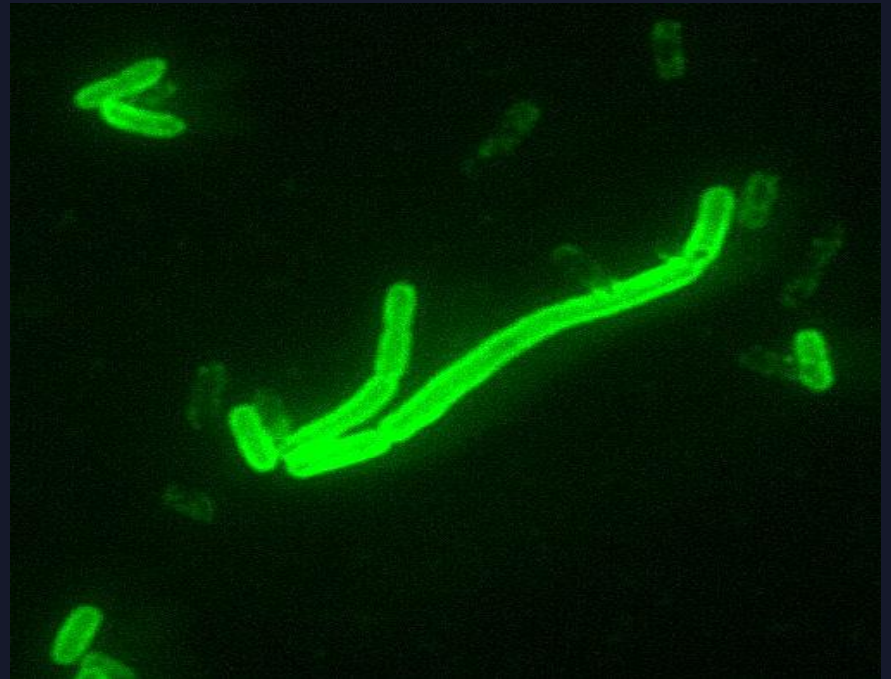
Непатогенные виды:

B. subtilis, *B. cereus* и др.

Морфологические свойства *B.anthraxis*



- Крупные неподвижные грамположительные палочки, располагаются цепочками.
- Во внешней среде образуют центрально расположенную эндоспору.
- В организме образуют полипептидную капсулу.



Споры *B.anthraxis* - окраска простым методом и по Ожешки

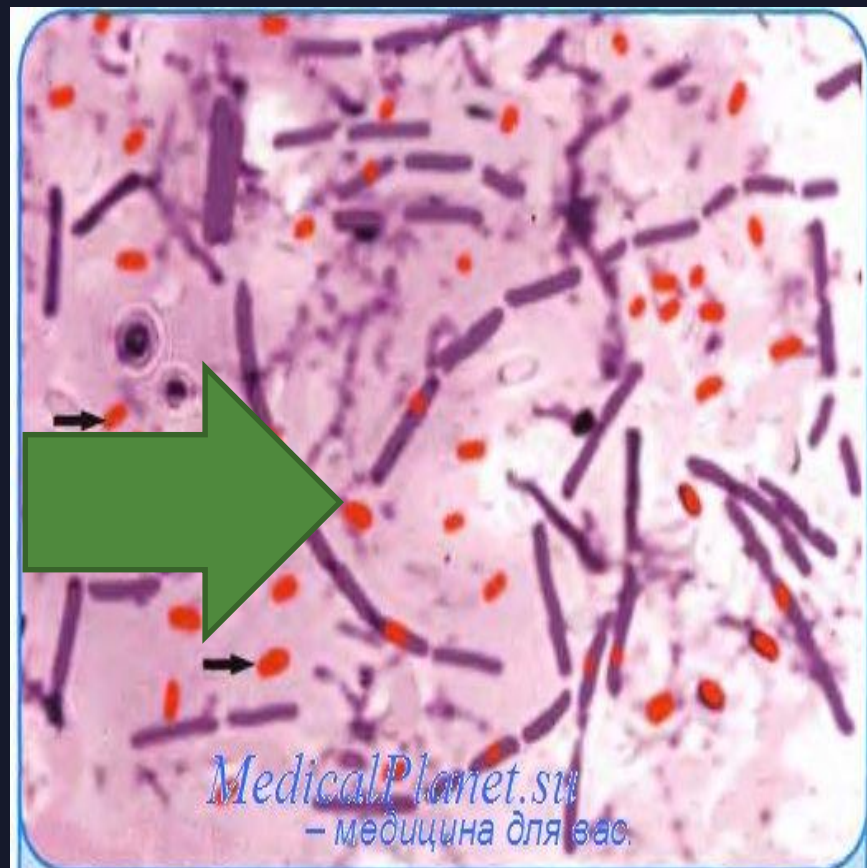


Рис. 3.74. Споры *B. anthracis*, окраска по Аujeszке

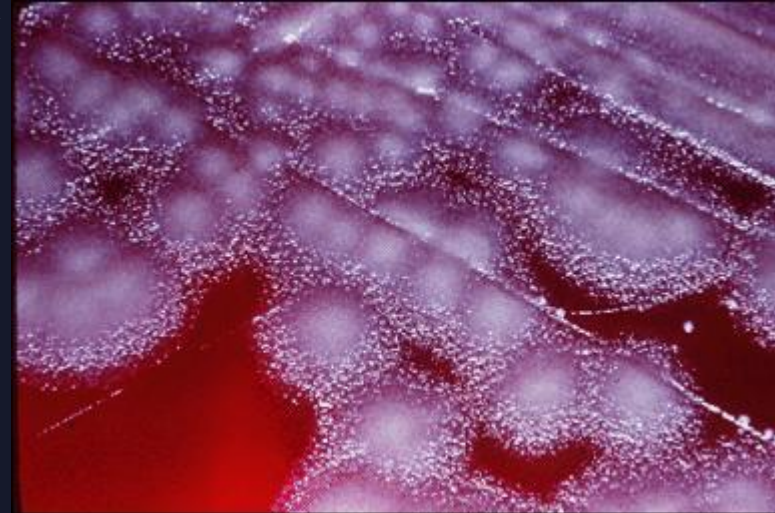
Диагностика в органах (окраска по Граму) - видна капсула





Биологические свойства

- Вегетативные формы относительно малоустойчивы, споры резистентны к высоким и низким температурам, действию дезинфектантов
- Факультативный аэроб
- Нетребовательны к питательным средам, на средах с сывороткой образует колонии «голова медузы»
- Вирулентные (капсулированные) штаммы образуют R-колонии, авирулентные – S-колонии



Колонии *Bacillus anthracis*

Антигены



1. Группоспецифический полисахаридный термостабильный антиген, связанный с клеточной стенкой (выявляется в реакции коольцепреципитации по Асколи)
2. Видоспецифический капсульный термолабильный антиген
3. Протективный антиген сибиреязвенного токсина

Факторы патогенности *B.anthraxis*



- Капсула – обладает адгезивными и антифагоцитарными свойствами
- Комплексный токсин - состоит из протективного антигена, некротического и отечного факторов



Механизмы передачи

- Контактный – при уходе за больным животным, убое, разделке туши, кулинарной обработке мяса, работой с сырьем животного происхождения
- Аэрозольный - при контакте с инфицированной почвой, животноводческим сырьем (шерстью, мехом, шкурами)
- Энтеральный – через молоко, молочные продукты, мясо и мясные продукты
- Трансмиссивный – через слепней и мух-жигалок, в ротовом аппарате которых возбудитель может сохраняться до 5 дней
- *От человека человеку сибирская язва не передается*

Патогенез



- Возбудитель проникает в организм человека через кожу, слизистые оболочки дыхательных путей и, реже – через слизистую оболочку ЖКТ
- Инкубационный период – от нескольких часов до 3-4 суток, но может составить 8-14 суток
- В месте внедрения микроба развивается сибиреязвенный карбункул - очаг серозно-геморрагического воспаления с некрозом, отеком окружающих тканей и регионарным лимфаденитом.
- У большинства людей патологический процесс остается локализованным в месте внедрения возбудителя.
- Генерализованная форма болезни чаще возникает при аэрогенном механизме заражения, когда споры возбудителя попадают на слизистые оболочки трахеи, бронхов, альвеол.
- Отсюда возбудитель заносится в регионарные лимфоузлы, что приводит к их деструкции.
- Из лимфоузлов возбудитель легко проникает в кровь, что дает начал о генерализации патологического процесса.
- Алиментарный путь заражения также приводит к генерализованному течению заболевания.
- Клинические формы зависят от входных ворот возбудителя – кожная, легочная, кишечная формы



Кожная форма – сибиреязвенный карбункул



Иммунитет



- После перенесенной сибирской язвы развивается стойкий антимикробный и антитоксический иммунитет

Лабораторная диагностика сибирской язвы



- Материал для исследования зависит от клинической формы заболевания: отделяемое везикул, карбункулов, язв, струпы, кровь, мокрота, испражнения, пунктат лимфоузлов и др.
- Применяемые методы исследования:
 - - бактериоскопический
 - - бактериологический
 - - серологический
 - - биологический
 - - ПЦР
 - - кожно-аллергический

МБД сибирской язвы проводится в специализированных режимных лабораториях



- **Бактериоскопический метод** — готовят мазки, окрашивают по Граму — видны крупные грамположительные палочки, окруженные капсулой палочки,





Бактериологический метод

Посев и выделение
чистой культуры
проводят на МПА или
кровяном агаре

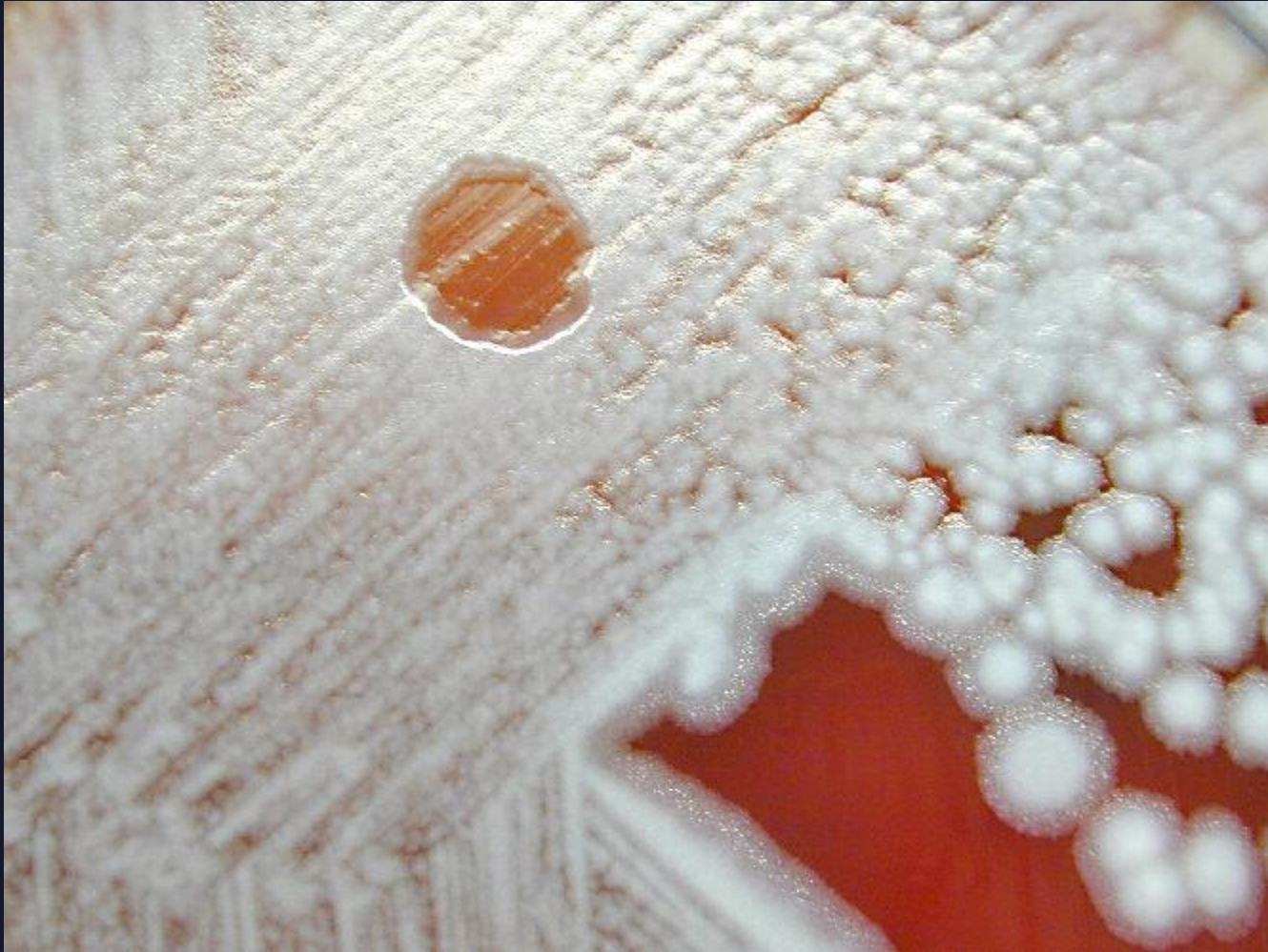


Идентификация чистой культуры *B.anthraxis*



- Изучают следующие свойства:
- - морфологические
- - культуральные
- - биохимические
- - тест «жемчужного ожерелья» (рост на МПА с пенициллином – утрата клеточной стенки приводит к образованию цепочки «бусин»)
- - чувствительность к сибиреязвенному бактериофагу
- - вирулентность для мышей, морских свинок, кроликов

- Лизис *Bacillus anthracis* литическим фагом гамма (видно стерильное пятно=негативная колония фага)

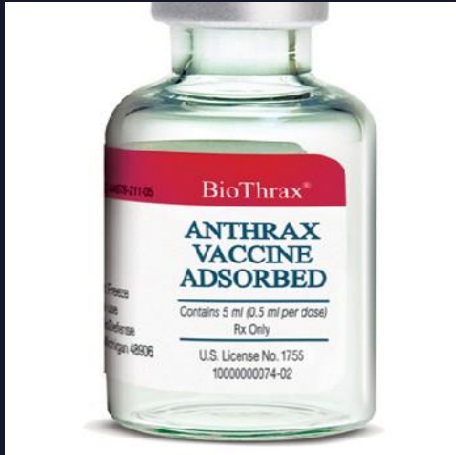


Серологический метод диагностики



- Выявление сибиреязвенного антигена непосредственно в патологическом материале с помощью РОНГА, ИФА, МИФ, реакции термопреципитации по Асколи
- Специфические антитела в испытуемых сыворотках выявляют для ретроспективной диагностики (при кожной форме заболевания) в РНГА, ИФА

Специфическая профилактика и лечение



- *Специфическое лечение* проводят противосибирезывенным иммуноглобулином
- Антибиотикотерапию проводят препаратами пенициллиновой группы, тетрациклином, аминогликозидами, ципрофлоксацином
- Для *активной профилактики* сибирской язвы применяются:
 - - Вакцина живая СТИ, представляющая собой споры бескапсульного штамма *B.anthraxis*
 - - Вакцина комбинированная, в состав ее входит живая вакцина СТИ и протективный антиген *B.anthraxis*



Возбудители бруцеллеза (мальтийской лихорадки)



Семейство Brucellaceae

Род Brucella

Виды:

- melitensis – мелкий рогатый скот (Д. Брюс, 1887)
- abortus – крупный рогатый скот (Б. Банг – палочка Банга)
- suis - свиньи
- canis – собаки, лисы, волки, песцы
- neotomae - грызуны
- ovis - овцы
- rangiferi - олени

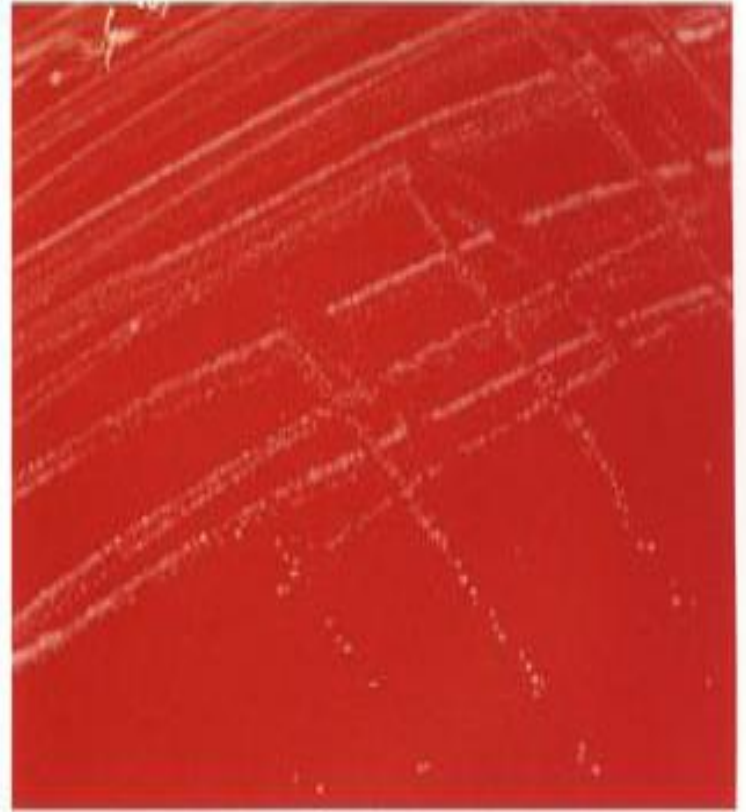
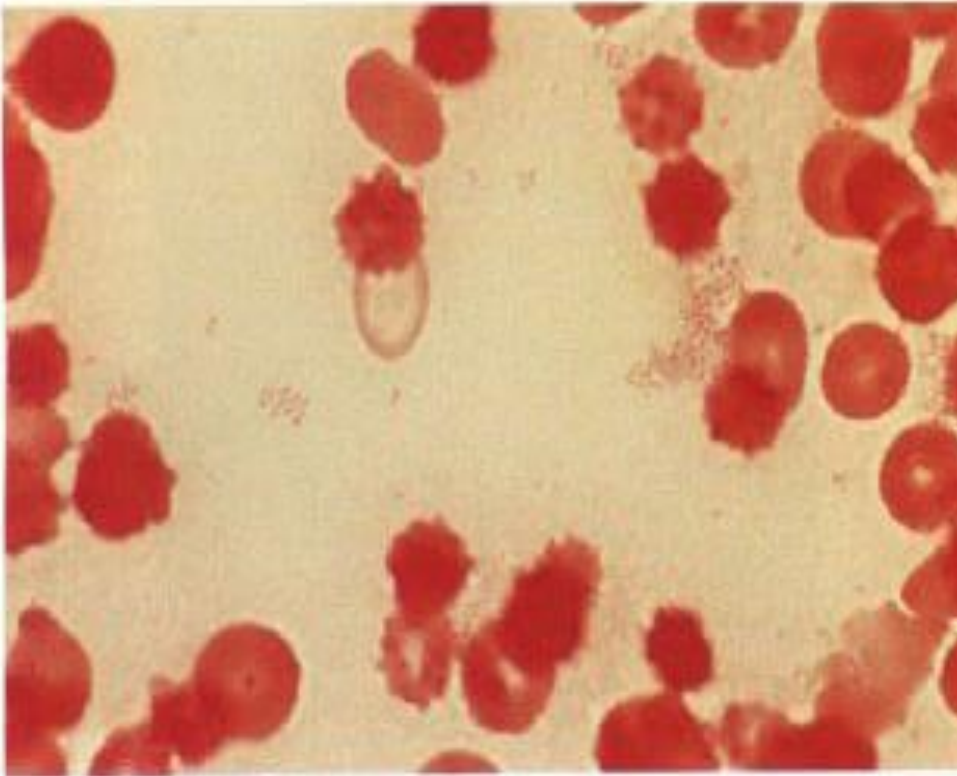


- Род объединяет мелкие неподвижные палочки или коккобациллы, обладающие значительным полиморфизмом. Аэробы, оптимум температуры около +37° С, рН - 6,6- 7,4. Факультативные внутриклеточные паразиты, хорошо окрашиваемые анилиновыми красителями.

Культуральные свойства.



- Лучше растут на обогащенных средах сложного состава с добавлением крови или сыворотки крови, глюкозы, глицерина. Используют печеночный агар Хеддльсона, кровяной агар, мясо - пептонный бульон. Колонии возбудителя в S- форме мелкие, выпуклые, гладкие, с перламутровым оттенком, при диссоциации образуют шероховатые R- формы колоний.
- Характерен медленный рост бруцелл в первых генерациях - колонии образуются через 2-4 недели. Рост бруцелл на жидких средах сопровождается равномерным помутнением сред.



Эпидемиология



- Бруцеллез - зооноз преимущественно сельскохозяйственных и домашних животных. Человек инфицируется от животных или при контакте с инфицированным сырьем животного происхождения. Бруцеллез может носить профессиональный характер (уход за инфицированными животными) или быть связан с употреблением недостаточно термически обработанных молочных или мясных продуктов.



- Возбудитель может внедряться в организм человека через поврежденную кожу, слизистые дыхательных путей (аэрогенно) и желудочно - кишечного тракта (алиментарным путем), при заносе возбудителя на конъюнктиву глаза. Пути заражения - контактный, алиментарный и аспирационный. Бруцеллы обладают относительно высокой устойчивостью во внешней среде.

Факторы вирулентности



- Патогенность бруцелл связана с наличием *эндотоксина, гиалуронидазы и других ферментов, наличием низкомолекулярных продуктов, способствующих подавлению фагоцитоза и окислительного взрыва в макрофагах, наличием аллергизирующих субстанций.*



Патогенез бруцеллеза

- 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 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 бруцеллез). 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).
- Большое значение в патогенезе, кроме аллергической перестройки и интоксикации, имеет преимущественное вовлечение в инфекционный процесс тех или иных органов и тканей.

Лабораторная диагностика



- осуществляется с использованием бактериологических методов, биопробы, серологических реакций, аллергической пробы Бюрне, генетических методов.
- Материалом для бактериологических исследований служат кровь, костный мозг, моча, околосуставная жидкость. Чаще выделяют гемо- и миелокультуры. Чистые культуры изучают по биохимическим свойствам, определяют их способность расти на средах с добавлением бактериостатических красителей, типируют в РА.

Серологическая диагностика бруцеллеза



- РА Хеддльсона (качественная)
- РА Райта (количественная)
- РА Кумбса (определение неполных антител)
- Опсоно-фагоцитарная реакция
- РНГА, ИФА, РИА



- При отрицательных результатах бактериологических и серологических исследований применяют аллергическую кожную пробу с бруцеллином (пробу Бюрне).
- Для выделения бруцелл из объектов внешней среды и от животных широко используют биопробу, для серодиагностики у животных - РСК, для исследования молока - кольцевую пробу.



Специфическая профилактика.

В очагах козье - овечьего бруцеллеза применяют живую бруцеллезную вакцину ЖБВ.

Разработана химическая бруцеллезная вакцина, которая отличается от живой вакцины более низкой реактогенностью.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis*



Эдвард Фрэнсис

Возбудитель впервые описан в 1911 году
Мак-Коем и Чепином в районе озера
Туляре (штат Калифорния) при эпизоотии
земляных белок



Морфология.

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

Культуральные свойства.

- Строгие аэробы, оптимум температуры около +37 градусов Цельсия, pH- близкая к нейтральной. Культивируют на агаровых и желточных средах сложного состава с добавлением цистеина, глюкозы, крови. Рост медленный. Образуют мелкие колонии, напоминающие капельки росы, круглые с ровным краем, выпуклые, блестящие, с голубоватым отливом.



Биохимические свойства.

- Слабо ферментируют до кислоты без газа некоторые углеводы (глюкозу, мальтозу, левулезу, маннозу), образуют сероводород.



Антигенные свойства.

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

Экология и 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.



- Заражение человека может происходить путем контакта с грызунами или инфицированными ими предметами, алиментарным путем (инфицированные грызунами вода и пищевые продукты), воздушно - пылевым путем, трансмиссивно (иксодовые клещи и другие кровососы).



Факторы вирулентности

Возбудитель туляремии является внутриклеточным паразитом. Его 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.



Стадии патогенеза:

- 1. Внедрения и первичной адаптации возбудителя.
- 2. Лимфогенного заноса.
- 3. Первичных регионарно - очаговых (туляреминый бубон) и общих реакций.
- 4. Гематогенных матастазов и генерализации.
- 5. Вторичной полиочаговости.
- 6. Реактивно - аллергических изменений.
- 7. Обратного метаморфоза и выздоровления.



- Основными клиническими формами туляремии являются: язвенно - бубонная (ульцерогландулярная), глазо - бубонная (окулогландулярная), легочная, абдоминальная, генерализованная, другие формы (в т.ч. ангинозно - glandулярная)

Микробиологическая диагностика



- Бактериологические методы диагностики туляремии для человека имеют дополнительное значение и не всегда эффективны, что определяется биологическими особенностями возбудителя и особенностями инфекции у человека (малая концентрация возбудителя в органах и тканях).



- *Биопроба* является намного более эффективным методом диагностики. Материал от больного (пунктат бубона, выделения с конъюнктивы, пленка с миндалин, мокрота и др.) используют для заражения лабораторных животных (чаще белых мышей), из органов павших животных делают высевы на питательные среды, культуру идентифицируют по совокупности следующих признаков:



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



- Бактериологические методы и биопробы могут выполняться только специализированными лабораториями, имеющими разрешение на работу с возбудителем туляремии (2 группа патогенности). В качестве метода выявления туляремийного микроба может использоваться МФА, реакция нейтрализация антител - РНАТ, в качестве дополнительного - ПЦР.



- Наибольшее значение в лабораторной диагностике туляремии имеют *серологические методы* - РА, РПГА. Обязательно исследование парных сывороток крови. Дополнительными серологическими методами являются ИФА, РНИФ.



- *Аллергодиагностика* (проба с тулярином - туляреминым аллергеном) чаще используется для оценки *естественного и вакцинального* иммунитета. ГЗТ развивается на первой неделе болезни, а также после вакцинации и сохраняется несколько лет. У больных *накожные и внутрикожные туляриновые пробы* не рекомендуются в связи с возможностью ухудшения состояния больного.



Специфическая профилактика.

- На неблагополучных по туляремии территориях применяют живую туляремийную вакцину. Иммунитет длительный, проверяется с помощью пробы с тулярином. С помощью этой пробы отбирают контингенты на вакцинацию и ревакцинацию.

