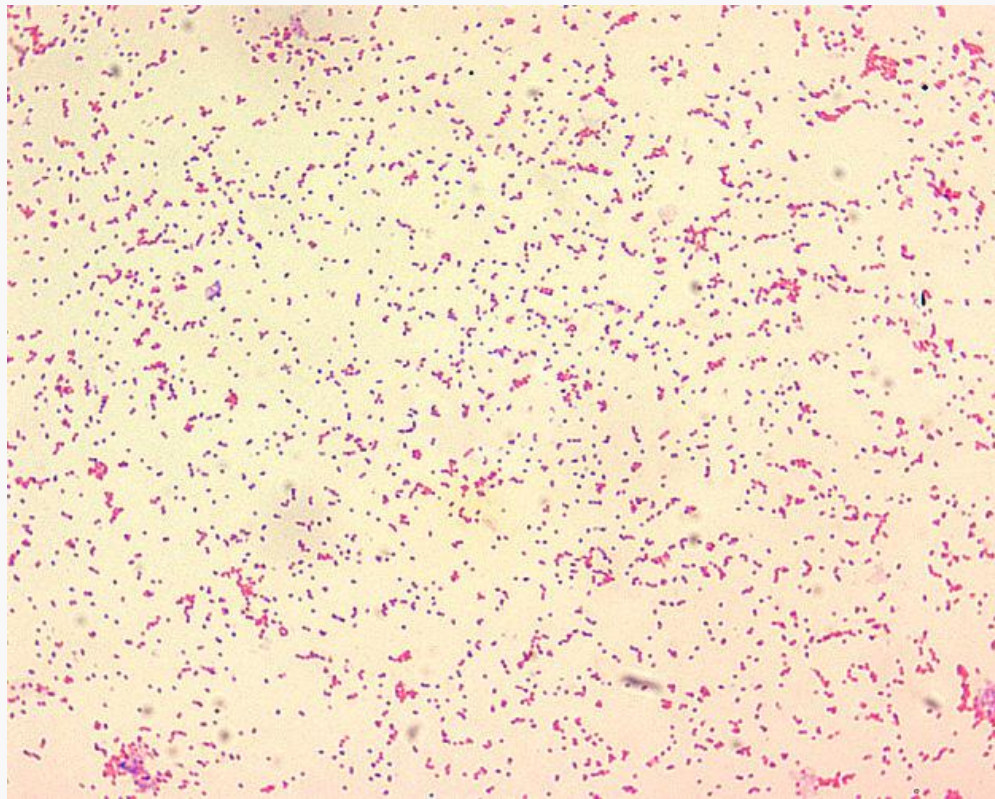


Brucella spp.

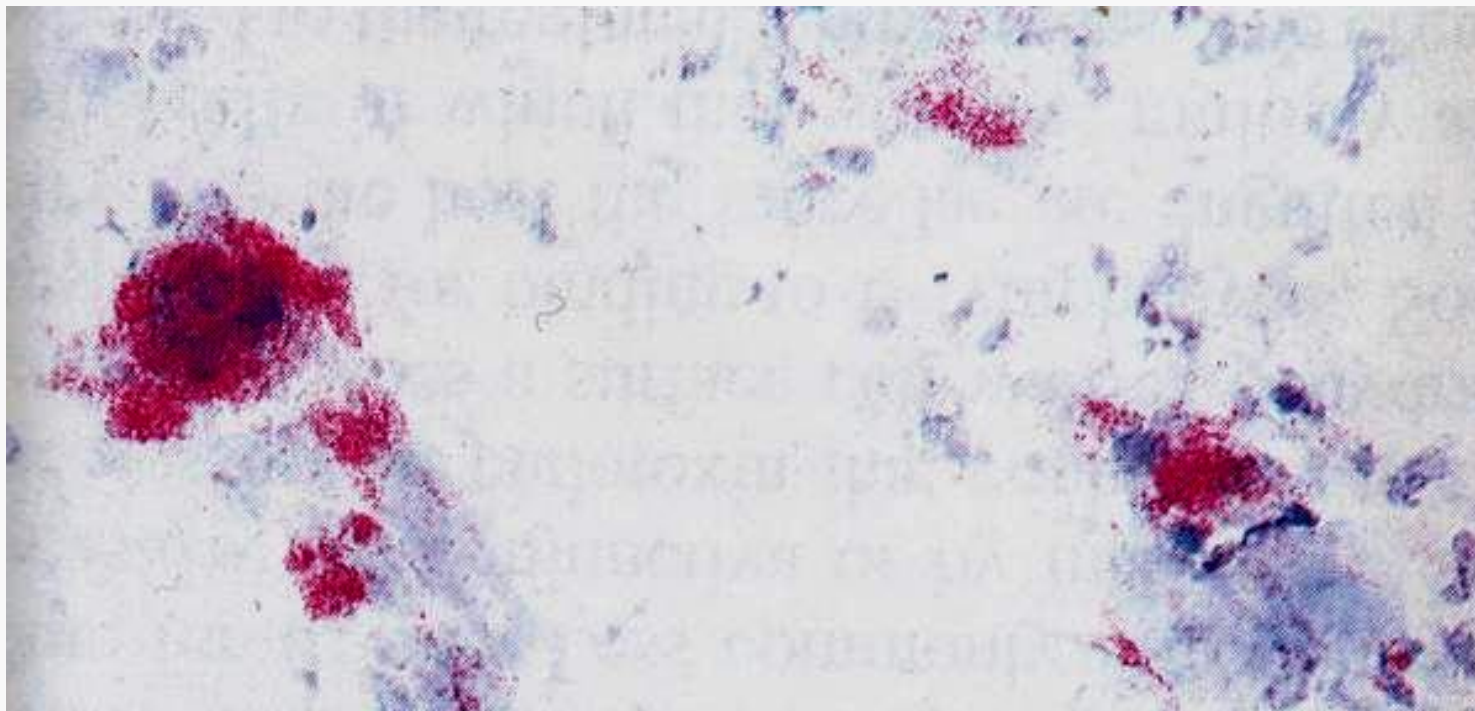
Uzročnici zarazne bolesti životinja i ljudi bruceloze

Sitni Gram negativni kokobacili 0,6 x 0,6-1,5 μm



Modifikovano bojenje po Ziehl-Neelsen-u

kada prime boju ne otpuštaju je odbojavanjem sa 0,5% sirćetnom bojom



Modifikovano bojenje po Ziehl – Neelsen-u

– **Brucella crvene boje**, drugi mikroorganizmi plavi

Bojenje po Kozlovskom – bojenje sa zakašnjenjem

- Sekundarna boja – plava kratko stoji pre ispiranja
- *Brucella* ostaje obojena primarnom bojom – crvenom a drugi mikroorganizmi su plavo obojeni

Primena tehnike molekularne biologije - DNK-DNK hibridizacija ukazala na postojanje samo jedne vrste

U upotrebi je stara klasifikacija ovog roda - šest različitih vrsta:

B.abortus,

B.canis,

B.melitensis,

B.neotomae,

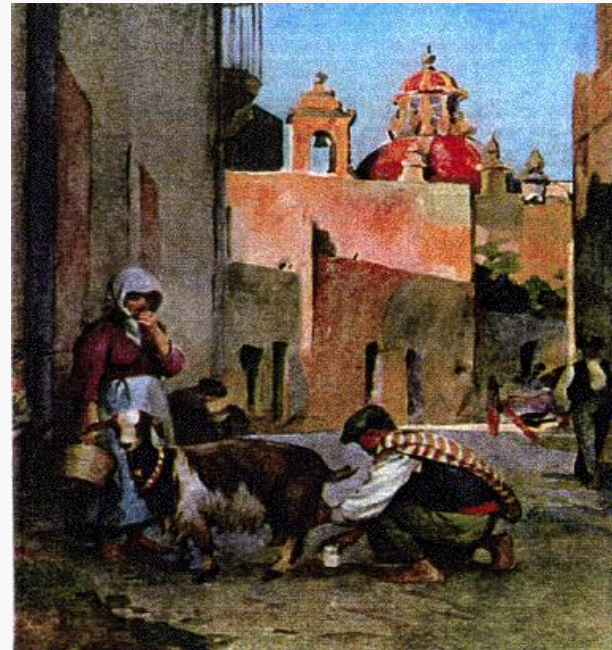
B.ovis,

B.suis

Brucella abortus

- **uzročnik je Bang-ove bolesti odnosno zaraznog abortusa goveda**
- goveda- abortus i orhitis
- ovce,koze i svinje – sporadični abortusi
- konji- bursitis
- **ljudi- intermitentna groznica**

- *B. melitensis*
- **Malteška, Mediteranska ili ondulentna groznica**
 - koze, ovce- abortusi
 - goveda – mogući abortusi
 - **ljudi – moguće infekcije preko neprokuvanog mleka i mladog sira**



B. suis

- svinje- abortus, orhitis, spondiloza i sterilitet
- **ljudi- intermitentna groznica**

B. ovis

- ovce - epididimitis ovnova, sporadično abortus

B. canis

- psi - abortus, epididimitis, spondiloza, sterilitet
- **ljudi – blago sistemsko oboljenje**

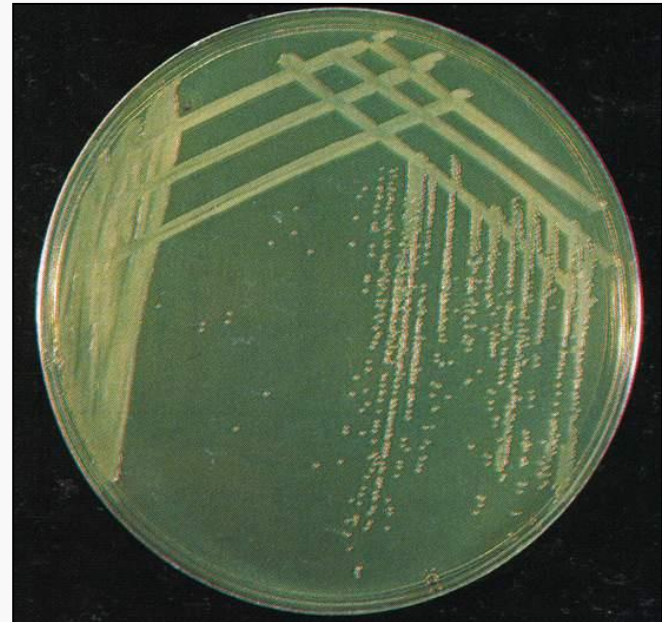
B. neotomae - vodeni pacov

U Srbiji je dokazano prisustvo *Brucella melitensis* biotip 3, *Brucella suis* biotip 2 i *Brucella canis*.

Brucella spp. su katalaza pozitivne i oksidaza pozitivne (izuzetak *B.avis* i *B. neotomae*), ne rastu na MacConkey agaru

Aerobi i kapnofili – ***B.avis* i određeni biotipovi *B.abortus* zahtevaju 5-10% CO₂**

Obogaćene podloge – krv ili serum – *B.avis* i *B.abortus* biotip 2 – rast 5 dana



Razlika vrsta

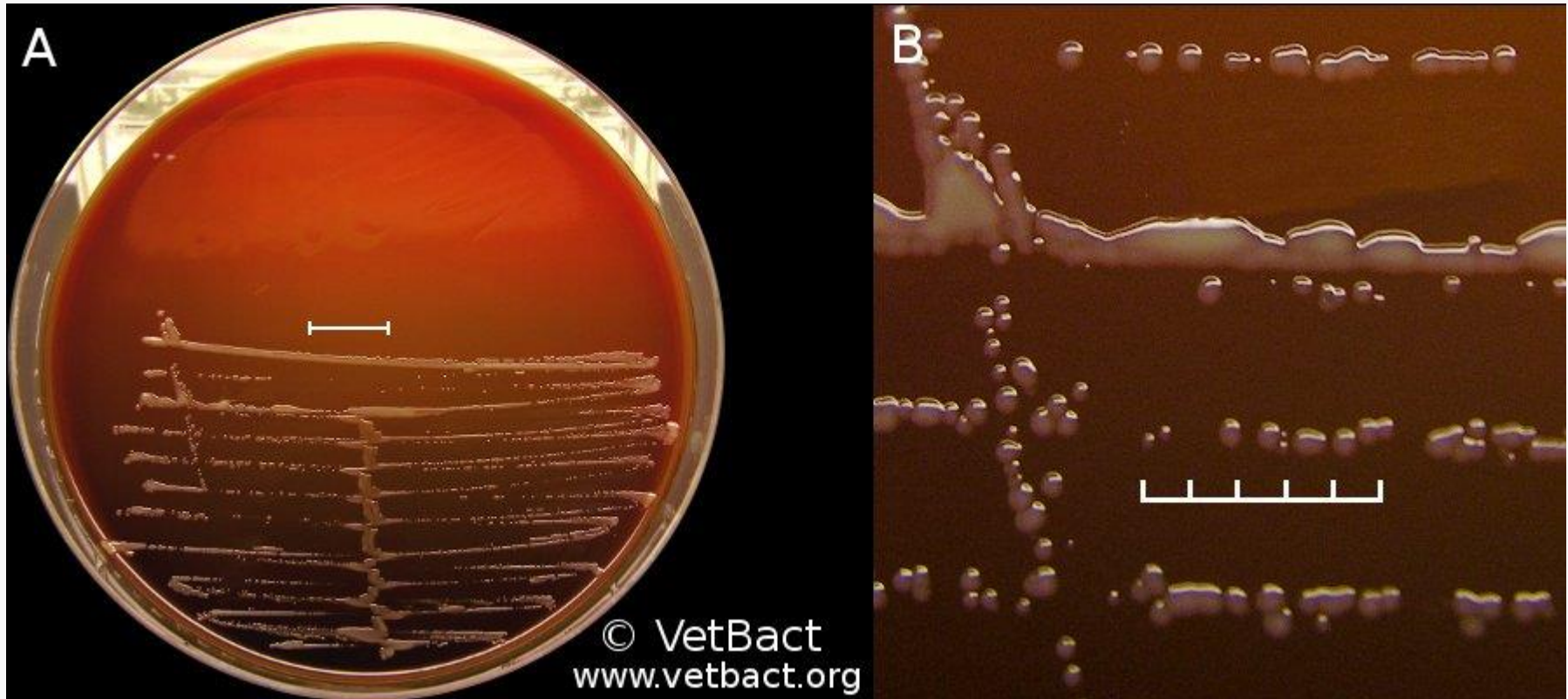
- izgled kolonija

- **S oblik** – *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*



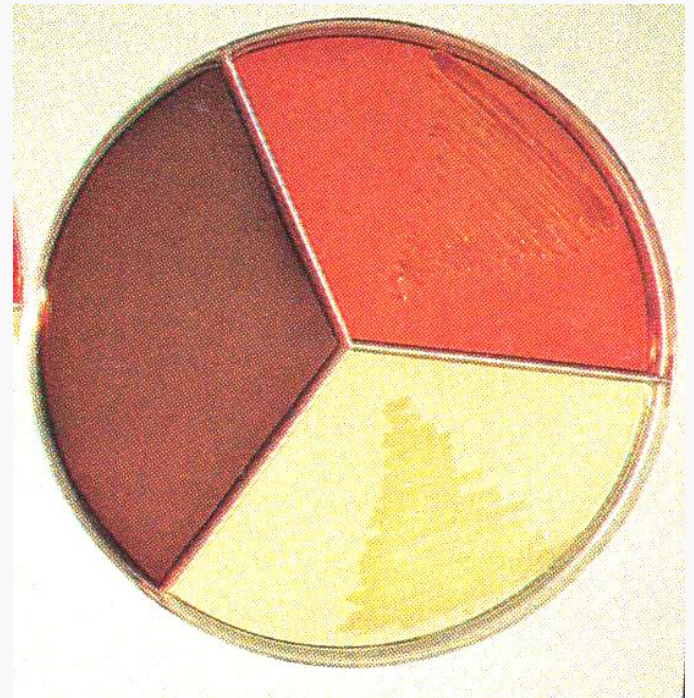
Razlika vrsta

- izgled kolonija
 - **R oblik** – *B.ovis*, *B.canis*



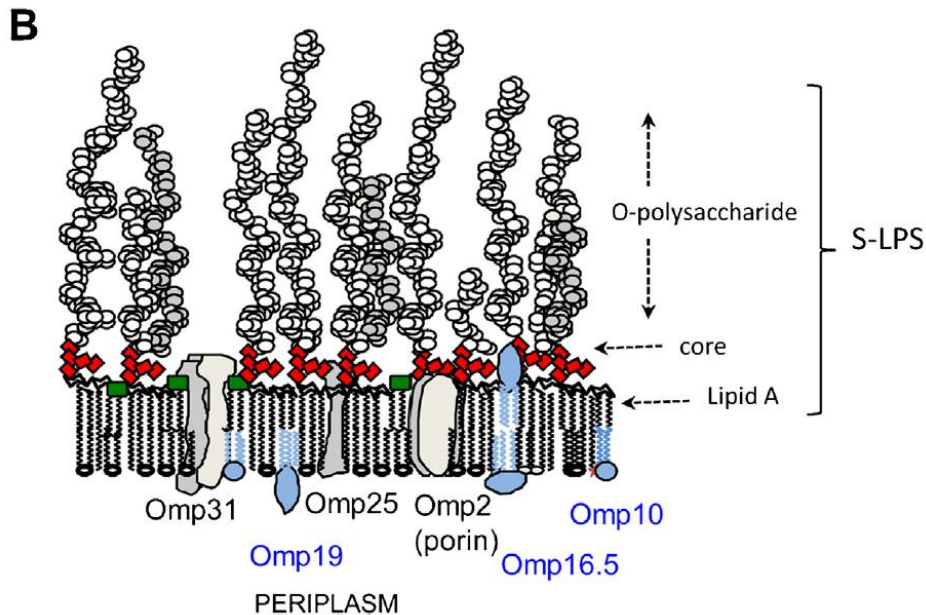
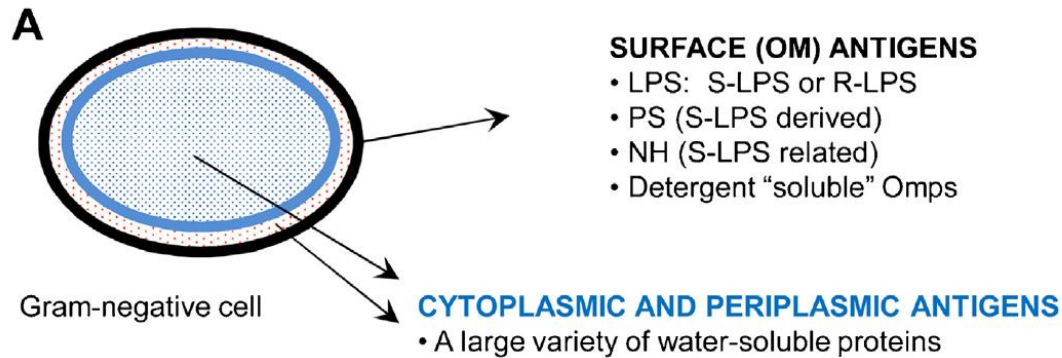
Razlika vrsta

- specifične kulturelne karakteristike – CO_2
- biohemijske reakcije – stvaranje H_2S , ureaza
- **inhibicija rasta od strane anilinskih boja** – tionin, bazični fuksin
 - *B.melitensis* – nije inhibisan rast
 - *B.abortus* – inhibicija tionin
 - *B.suis* – inhibicija bazični fuksin



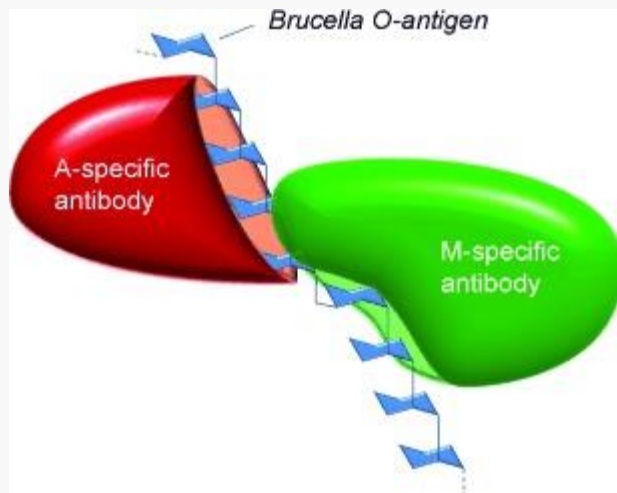
Razlika vrsta

- prisustvo antigena A, M i R



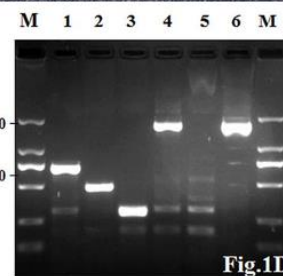
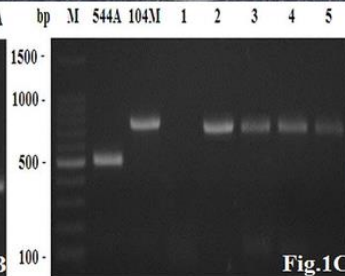
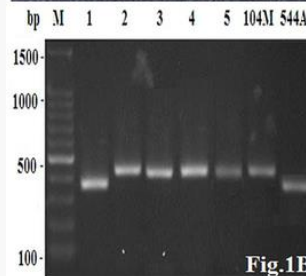
Razlika vrsta prisustvo antigena A, M i R

- *B.melitensis* – M i A antigen – 20:1
- *B.abortus* – A i M antigen- 20:1
- *B.suis* – A i M antigen – 2:1
- *B. canis* – R forma
- *B.ovis* - R forma



Razlika vrsta

- Fagotipizacija - Tbilisi (Tb), Firenze (Fz), Weybridge (Wb), S708, Berkeley (Bk), R/C, and Izatnagar (Iz)

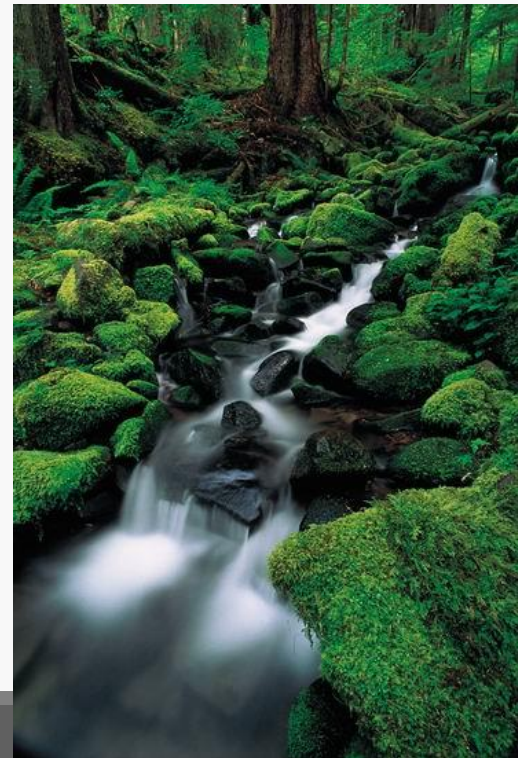


Obligatni paraziti i njihovo stanište u prirodi predstavljaju specifični domaćini

Predilekciono mesto – reproduktivni organi

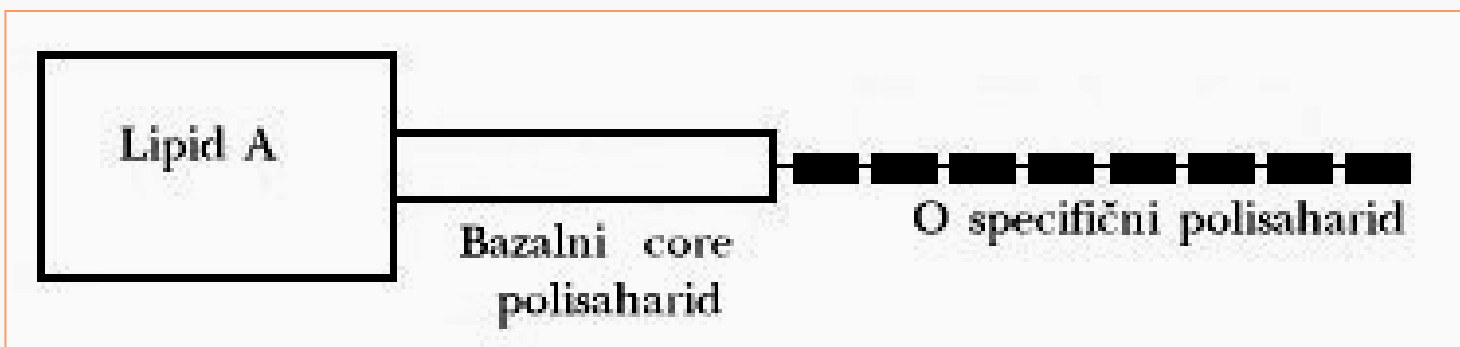
Inficirane životinje – rezervoar

Izvan domaćina mogu preživeti i više od četiri meseca u vodi i zemljištu

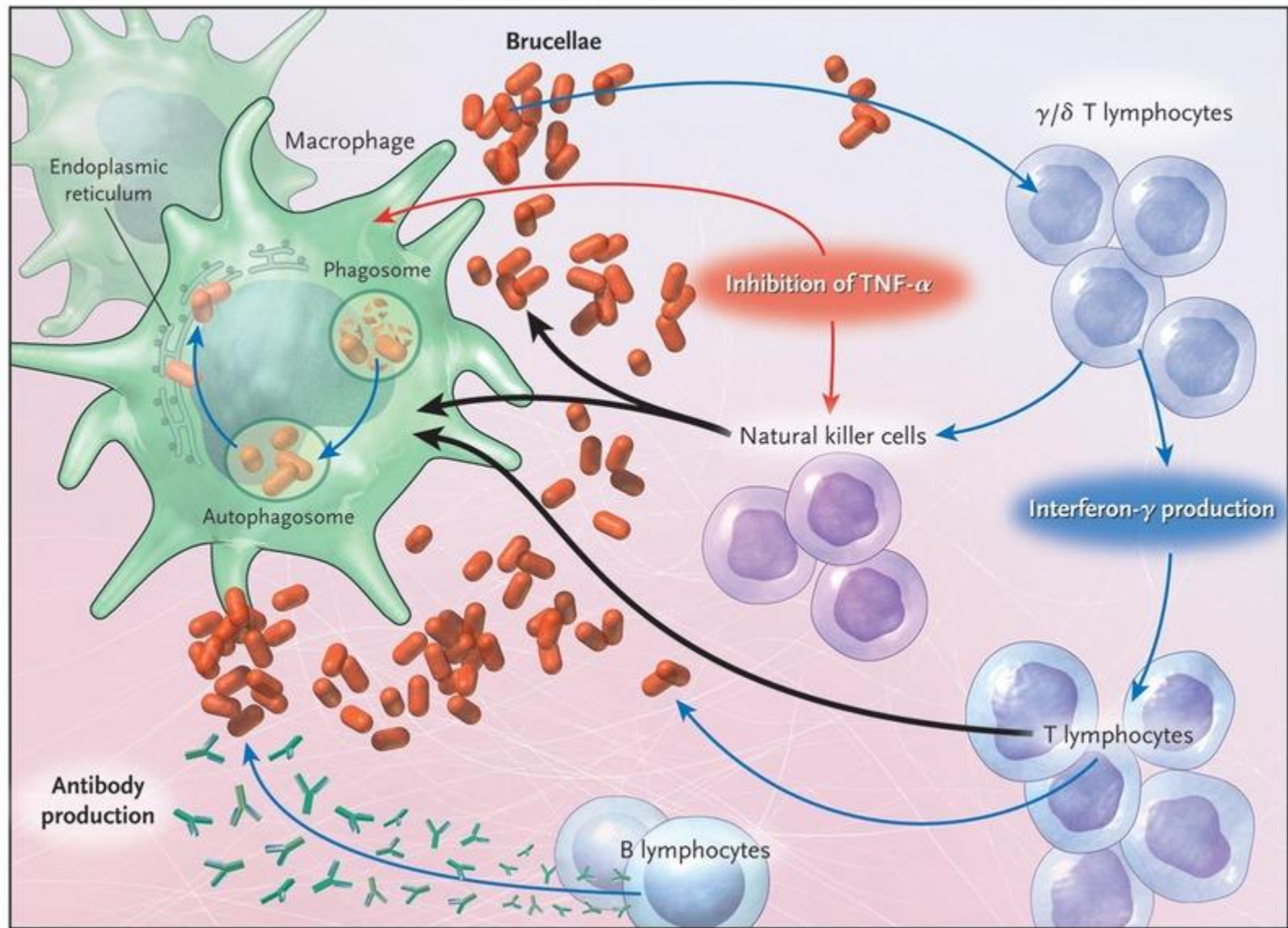


Patogeneza

- Nastanak i ishod infekcije
 - Broj bakterija
 - Virulencije soja
 - Osetljivosti domaćina
- R forma Brucella bez O specifičnog polisaharidnog dela LPS manje virulentna



- **Brucele fakultativni intracelularni paraziti**
- **Brucele perzistiraju u makrofagima**
 - Prisutni u regionalnim limfnim čvorovima
- **Inhibicija funkcije fagozoma i lizozoma**
 - Stres proteini, superoksid dismutaza, katalaza
- **Eritritol – polihidrični alkohol – faktor rasta brucela**
 - prisutan u visokoj koncentraciji u placenti, otkriven i u mlečnoj žlezdi i epididimisu



Infekcije su pretežno lokalizovane u

- **retikuloendotelnom sistemu**
- **genitalnom traktu**

Najčešće kliničke manifestacije oboljenja

- **abortusi kod životinja ženskog pola**
- **epididimitisi i orhitisi kod mužjaka**

Hronične infekcije kod životinja su česte

- **Hronična bruceloza zglobovi ili intervertebralni diskovi**

Bruceloza goveda

B.abortus – ranije široko rasprostranjene u svetu

- Izvršena eridikacija u mnogim zemljama
- Infekcija – najčešće ingestija, ređe venerične, abrazije na koži, inhalacija, transplacentarna
- **Abortusi – posle petog meseca gestacije, sledeći graviditeti normalni**
- Izlučivanje u velikom broju brucela u plodovoj vodi i iz novorođene teladi kod narednih graviditeta
- Infekcija teladi – vremenski ograničena

Krave – mlečna žlezda – povremeno izlučivanje u mleku, brucele perzistiraju godinama u supramamarnim limfnim čvorovima

Bikovi – testisi, epididimidis, akcesorne polne žlezde

Zaraženo stado – smanjen fertilitet, mlečnost, abortusi i degeneracija testisa

Abortus – posledica placentitisa koji obuhvata i kotiledone i tkivo između njih

Nekrotični orhitis – fibrotične lezije

Brucella abortus
Infekcija – lokalizacija limfno tkivo
Intermitentna bakterijemija

KRAVA

BIK

Gravidna životinja
Placentitis, abortus
Sledeće trudnoće
nema abortusa ali
se izlučuju brucele

Negavidna životinja
Lokalizovana u slezini
i limfnom tkivu

Reproduktivni organi
Orhitis, epididimitis
Sterilitet
Brucele u semenu

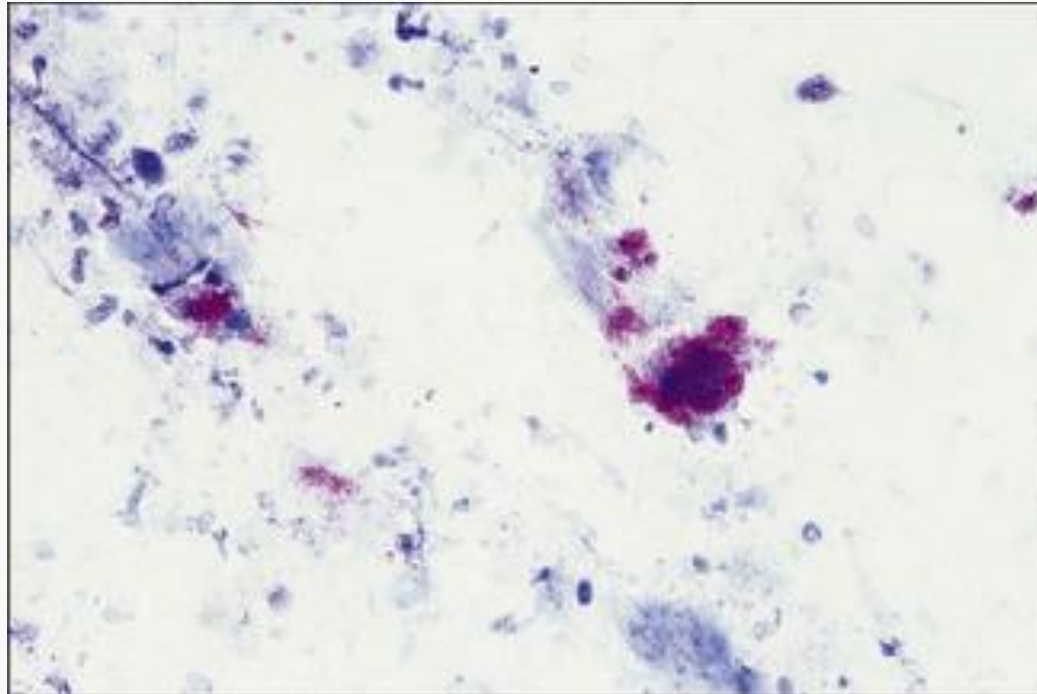
Dijagnoza

Klinički znaci nespecifični

Pojava abortusa kod junica i novopridošlih krava u stadu

Modifikovano bojenje po Zeihl-Neelsen-u

– kotiledoni i sadržaj abomazusa fetusa



Izolacija i identifikacija

Serološke reakcije

Intradermalno testiranje – brucelin

Tehnike molekularne biologije – PCR

- Ne vrši se lečenje životinja – eradikacija zaraze
- U nekim zemljama sveta – vakcinacija
 - Vakcine *B. abortus* RB51, S19, Cotton stain 45 i 45/20

Bruceloza ovaca i koza - *B.melitensis*

Prisutna u našoj zemlji

Osetljivije koze od ovaca

Klinička manifestacija

- Abortus
- Orhitis
- Artritis i higrom



Abortus – jagnje



Retencija placentae - koza

- **Nakon abortusa može izostati sticanje protektivnog imuniteta**

Dijagnoza

Klinički simptomi, Bojenje MZN, izolacija i identifikacija, serološke reakcije, intradermalni brucelinski test

**U nekim zemljama sprovodi se vakcinacija,
Brucella melitensis Rev 1**

Bruceloza ovaca - *B.ovis*

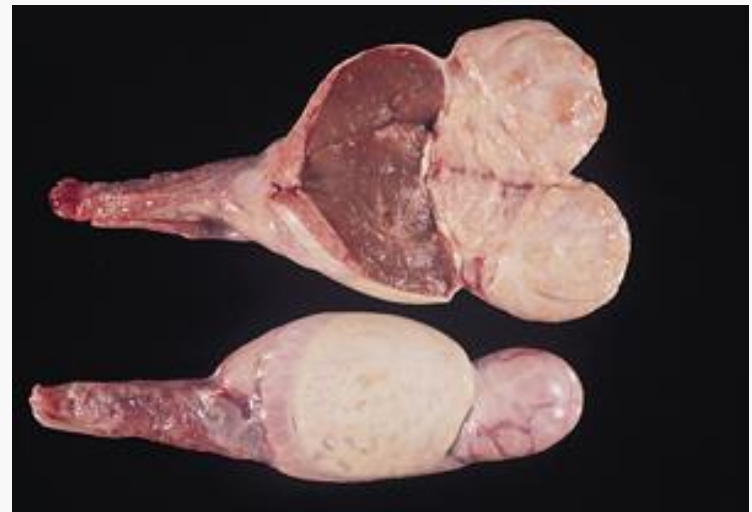
Epididimitis ovnova, placentitis ovaca, venerična bolest

Smanjenje fertilitnosti ovnova, sporadični abortusi i perinatalna uginuća jagnjadi

Dijagnostika – ELISA, agar gel imunodifuzija



Ovan – orhitis



Ovan - epididimitis

Bruceloza svinja - *Brucella suis*

Prolongirana bakterijemija, hronične inflamatorne lezije

Reproduktivni trakt, kosti, zglobovi

Infekcija – ingestija, koitus



Klinički simptomi – abortus, rađanje mrtve i slabo vitalne prasadi, neonatalni mortalitet, sterilitet

Dijagnostika – serološke reakcije – Rose- Bengal test, indirektna ELISA



Bruceloza pasa – *Brucella canis*

- R forma – klinički inaparentne ili blage infekcije
- Abortus, smanjen fertilitet, neonatalni mortalitet, orhitis, epididimitis
- Dijagnostika – serološke reakcije – brza aglutinacija, spora aglutinacija, ELISA, agar gel difuzioni test

Terapija – kombinacija

- Tetraciklin +
aminoglikozidi

Sterilizacija – smanjenje
transmisije bolesti



Bruceloza ljudi – ondulentna groznica

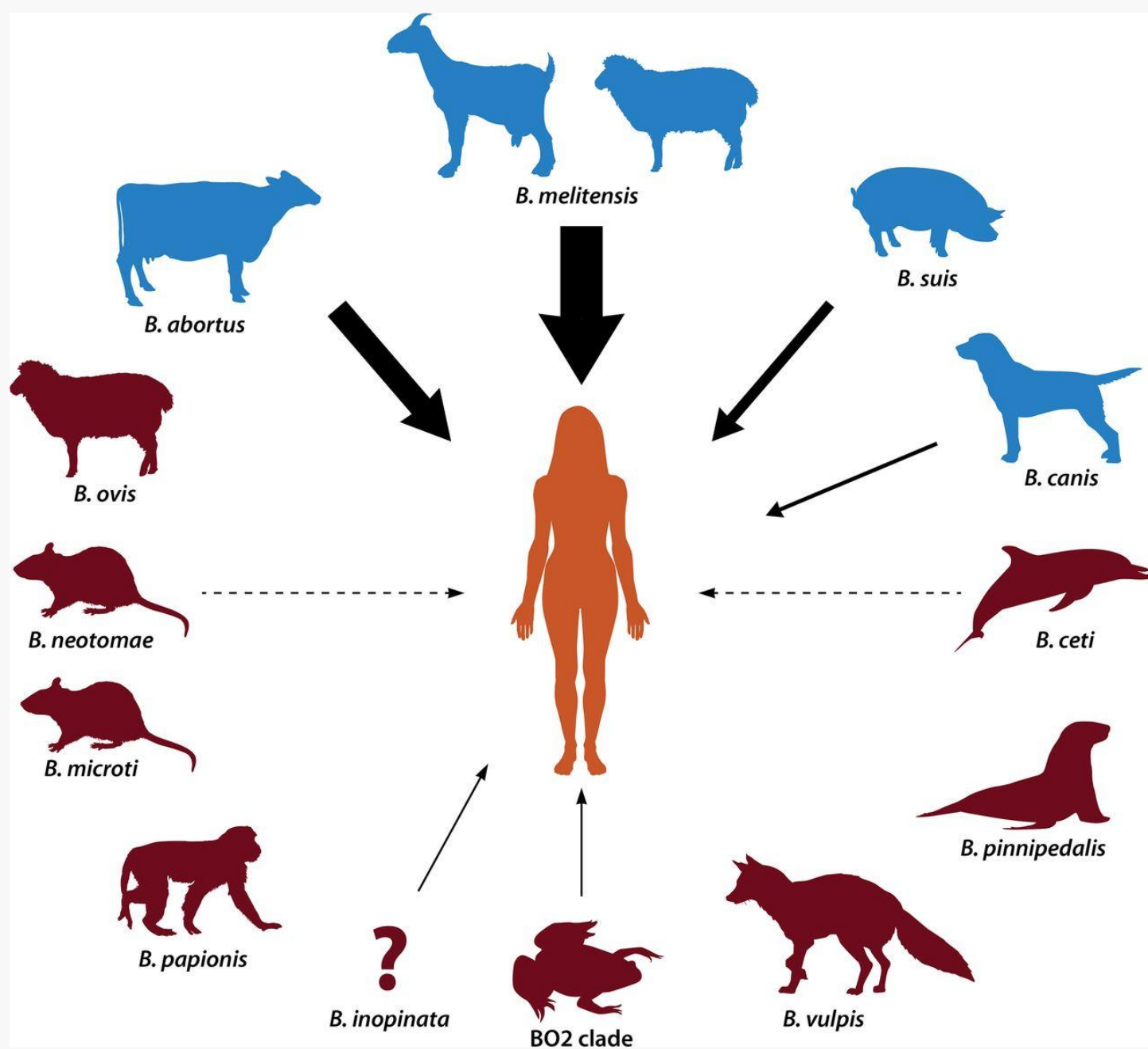
- *B. melitensis*, biotip 1 – 3
- *B. abortus*, biotip 1 – 6, 9
U.S.A. biotip 1, 2, 4, soj 19
- *B. suis*, biotip 1 – 5
- *B. canis*

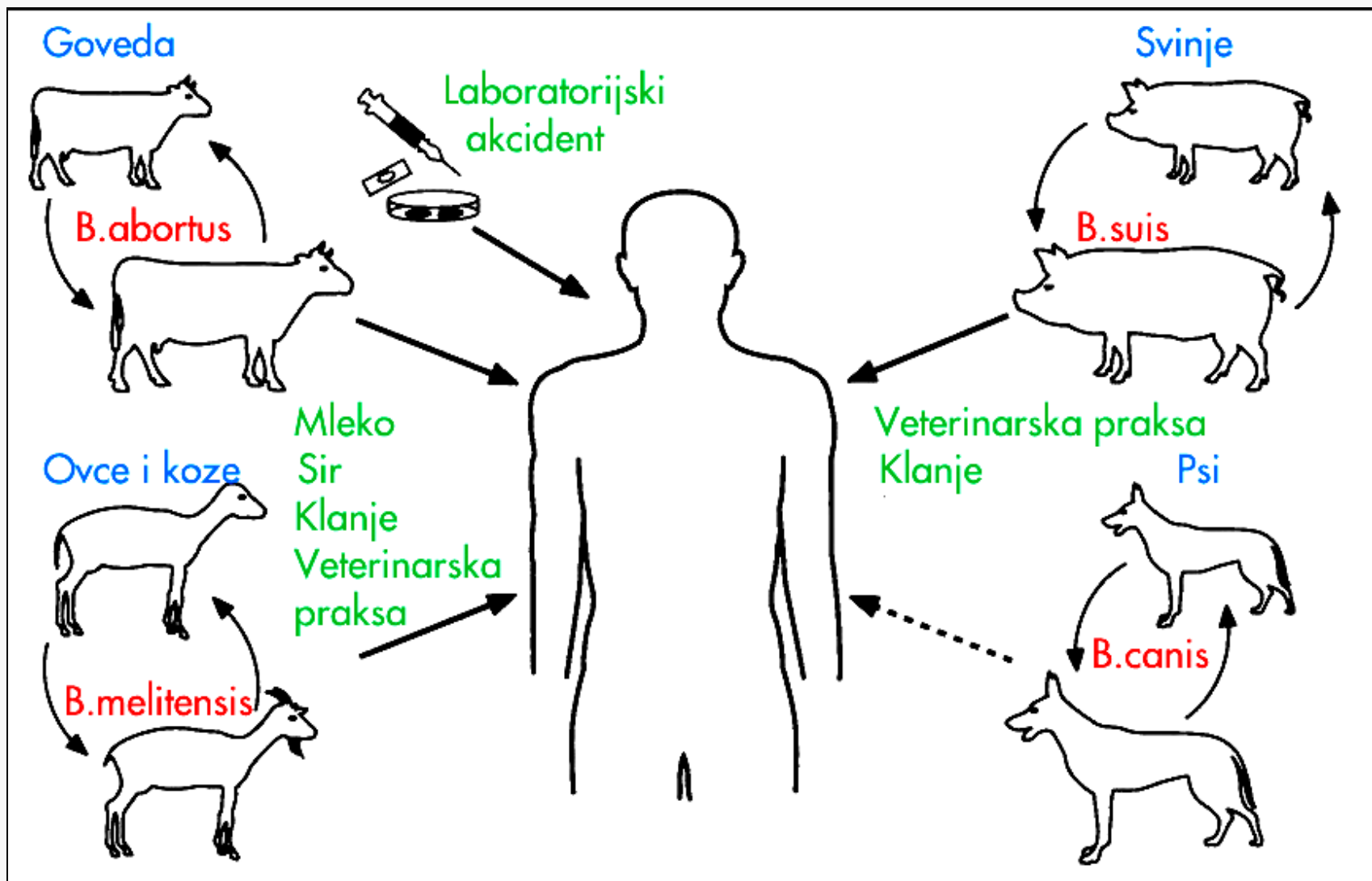
Infekcija kontakt sa sekretima i ekskretima obolelih životinja

Put infekcije – oštećena koža, inhalacija i ingestija

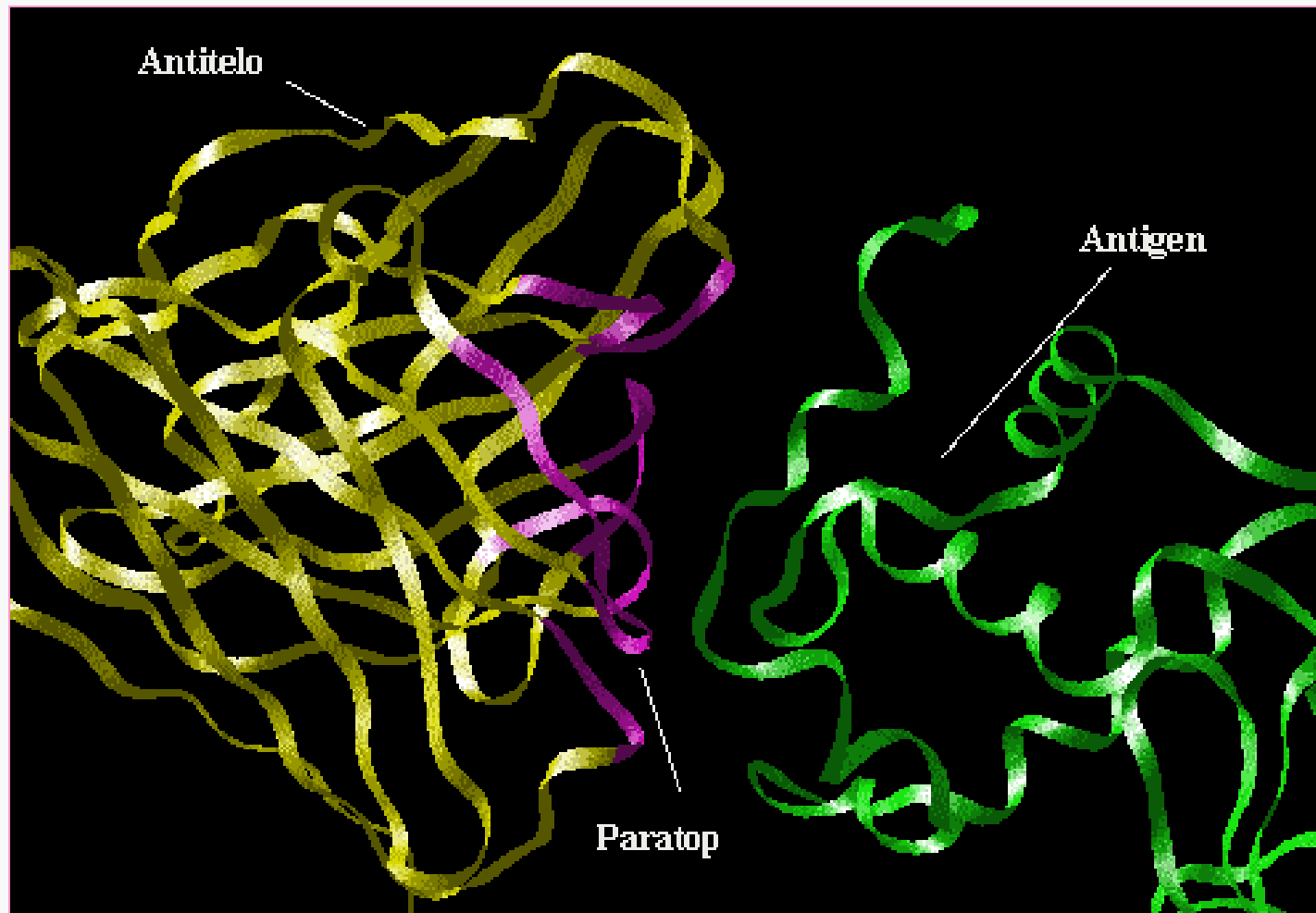
Intermitentna groznica, zamor, bol u mišićima i zglobovima, osteomielitis najčešća komplikacija

Terapija - antibiotici

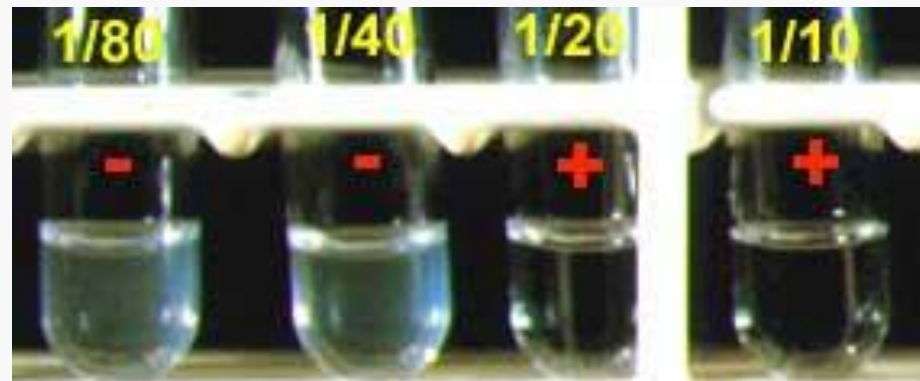
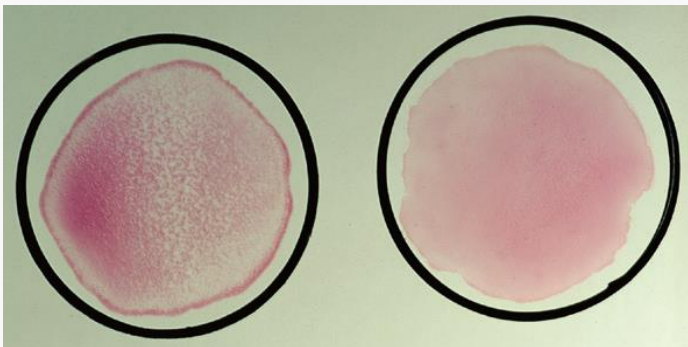




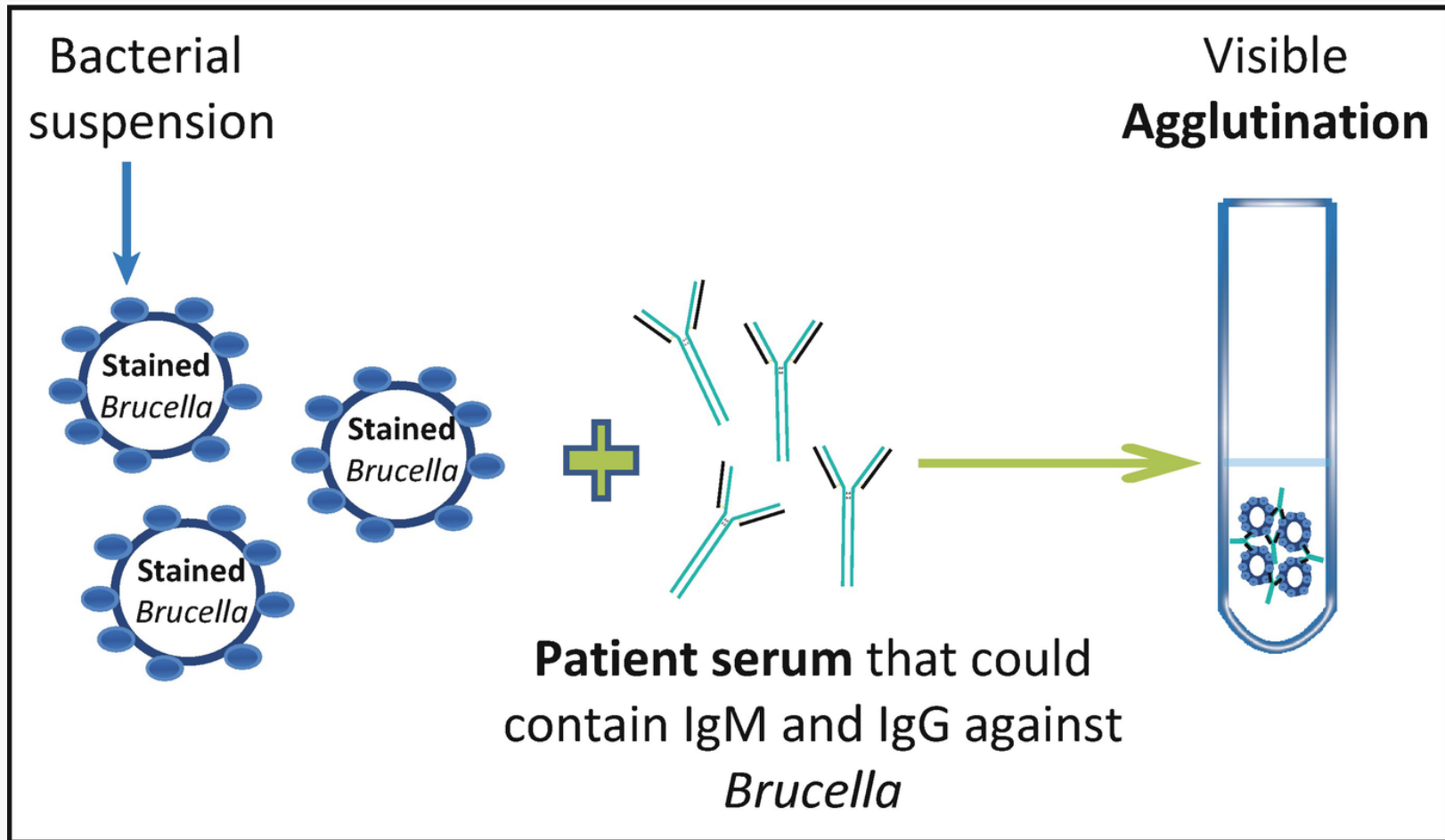
Serološke reakcije



Serološke reakcije – brza i spora aglutinacija



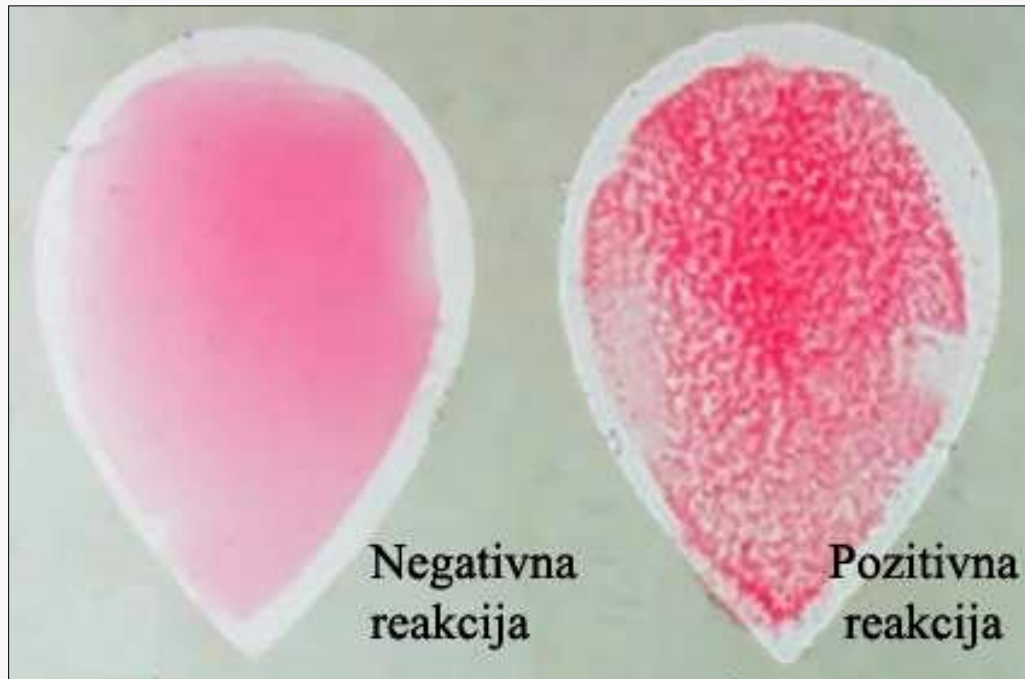
Serološke reakcije



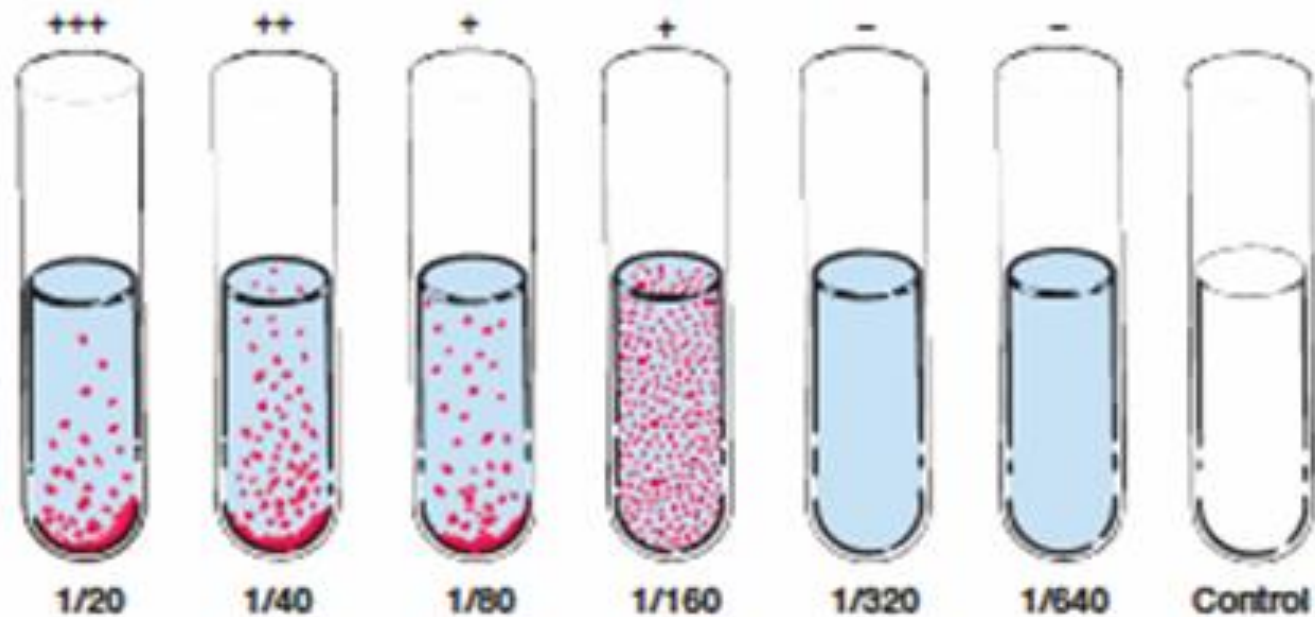
Serološke reakcije

Brza aglutinacija na pločici

–BAB – Rose Bengal test



Spora aglutinacija u epruveti



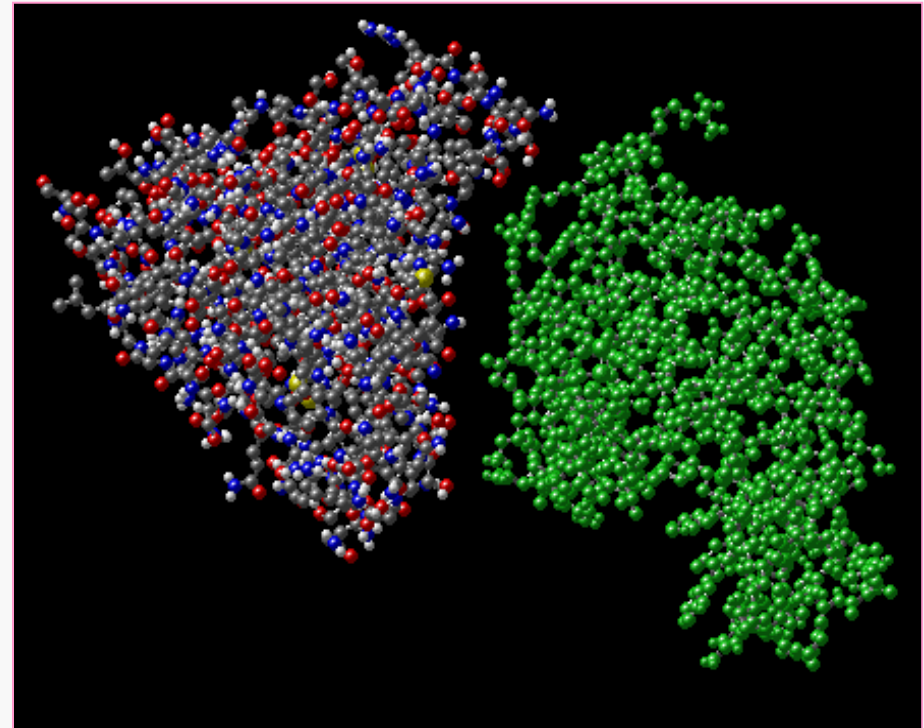
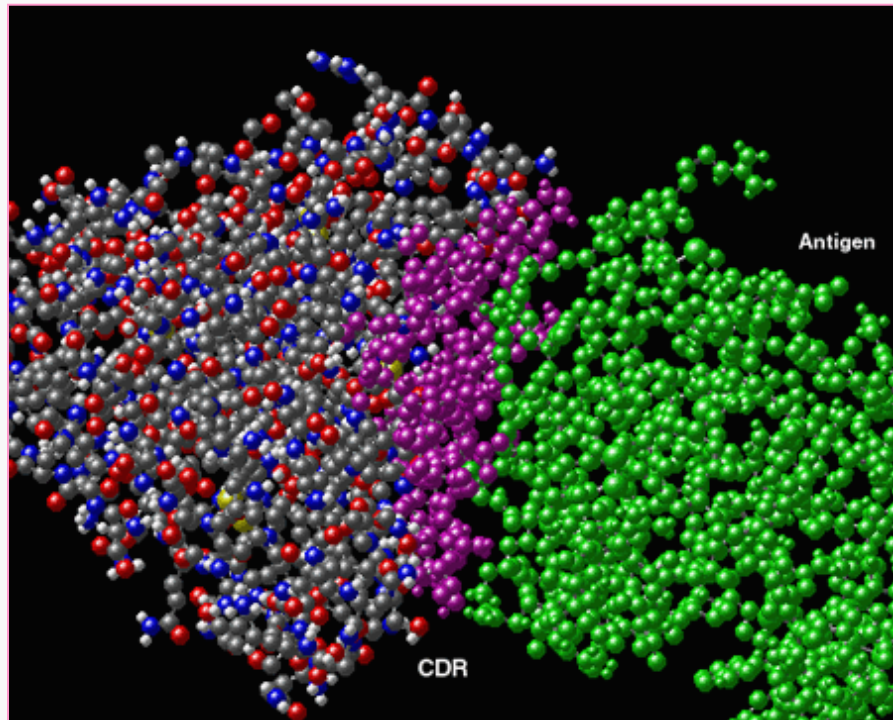
(a)

Titer = 160

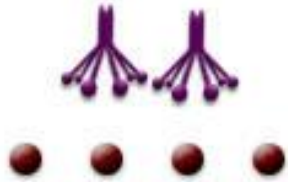
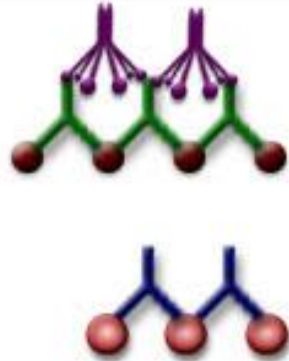
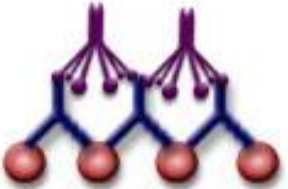
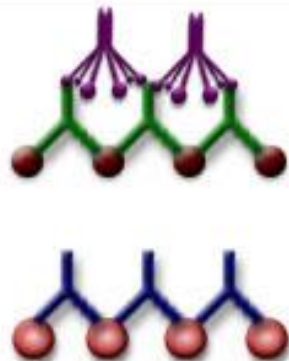
Spora aglutinacija u epruveti



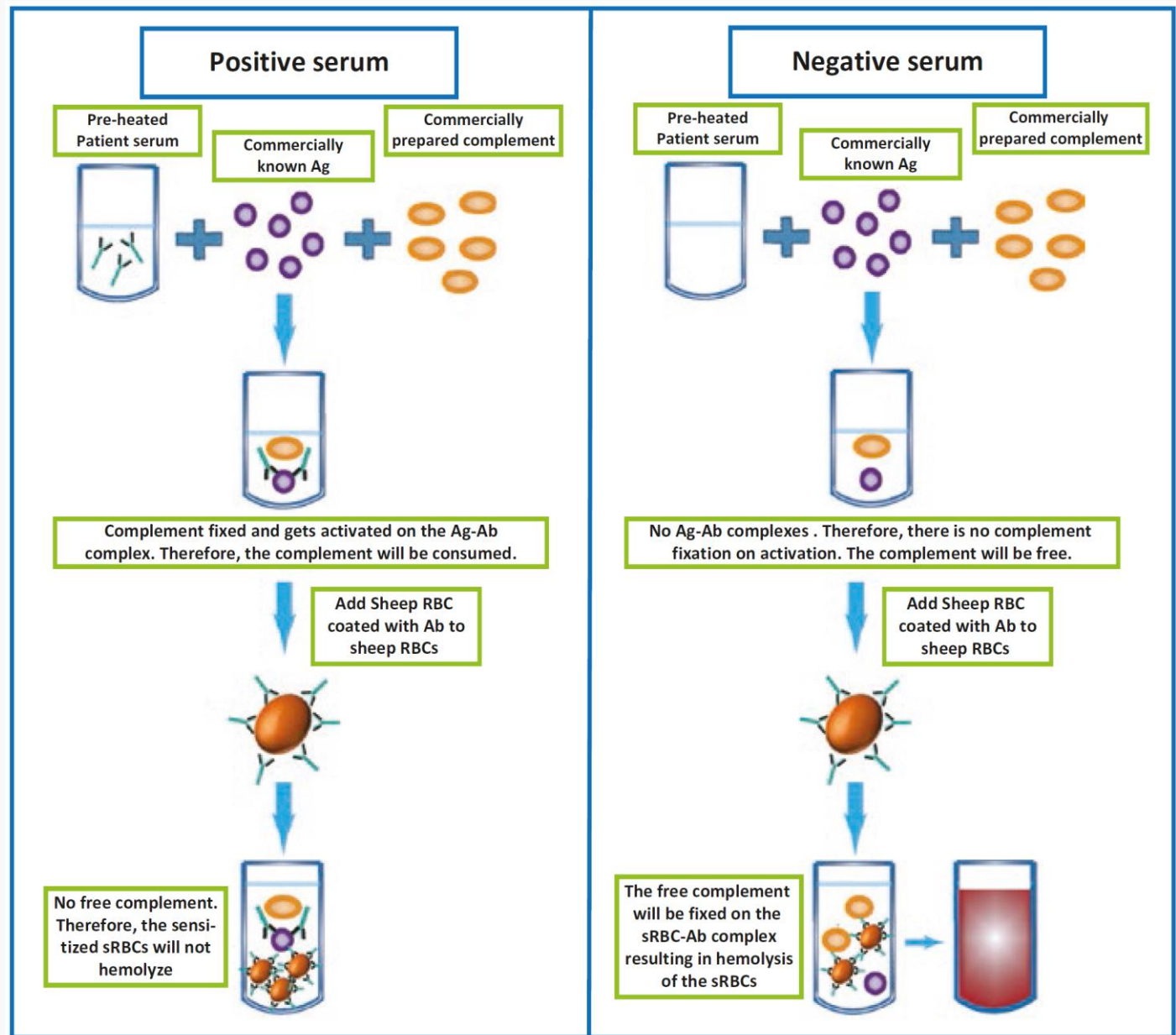
Unakrsna srodnost antigena *Brucella* spp.
i drugih Gram negativnih bakterija
- *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. grupa N...



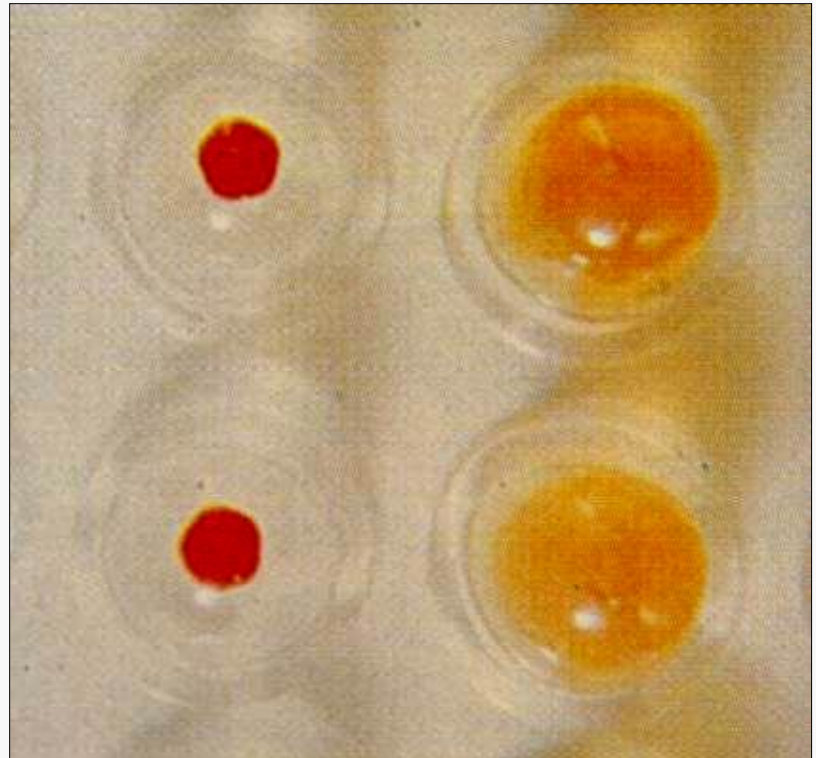
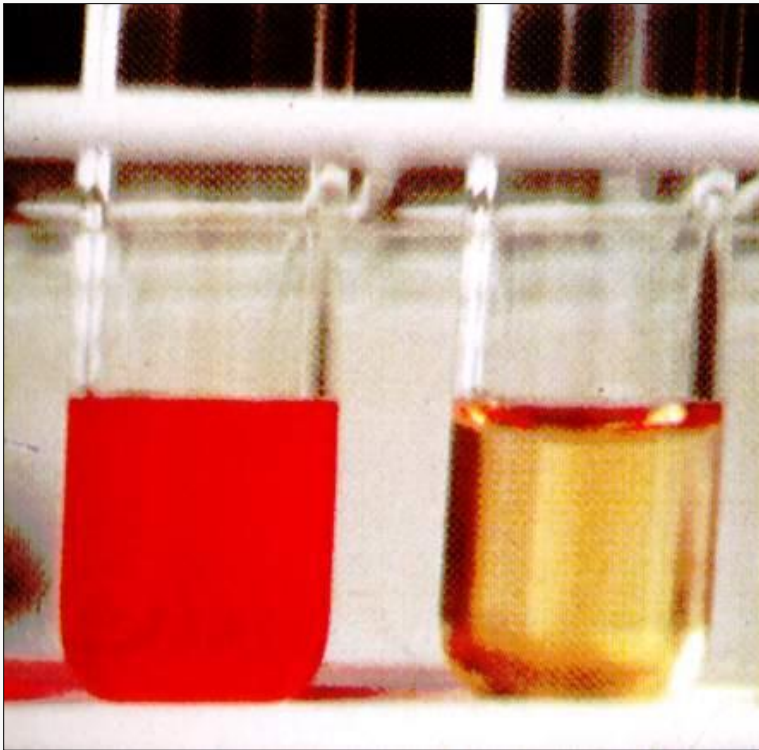
Reakcija vezivanja komplementa - RVK

I FAZA ANTIGEN + KOMPLEMENT + ISPITUJUĆI SERUM  INKUBIRANJE I FAZE	POZITIVAN SERUM PRISUTNA ANTITELA VEZAN KOMPLEMENT ZA KOMPLEKS AG+AT 	NEGATIVAN SERUM ODSUSTVO ANTITELA SLOBODAN KOMPLEMENT 
II FAZA – DODAVANJE HEMOLITIČKOG SISTEMA ERITROCITI OVNA + HEMOLIZIN –ANTITELA KUNIĆA PROTIV ERITROCITA OVNA 		
POZITIVNA REAKCIJA ODSUSTVO HEMOLIZE USLED VEZIVANJA KOMPLEMENTA U FAZI I NEGATIVNA REAKCIJA HEMOLIZA USLED PRISUSTVA NEVEZANOG KOMPLEMENTA NAKON FAZE I		

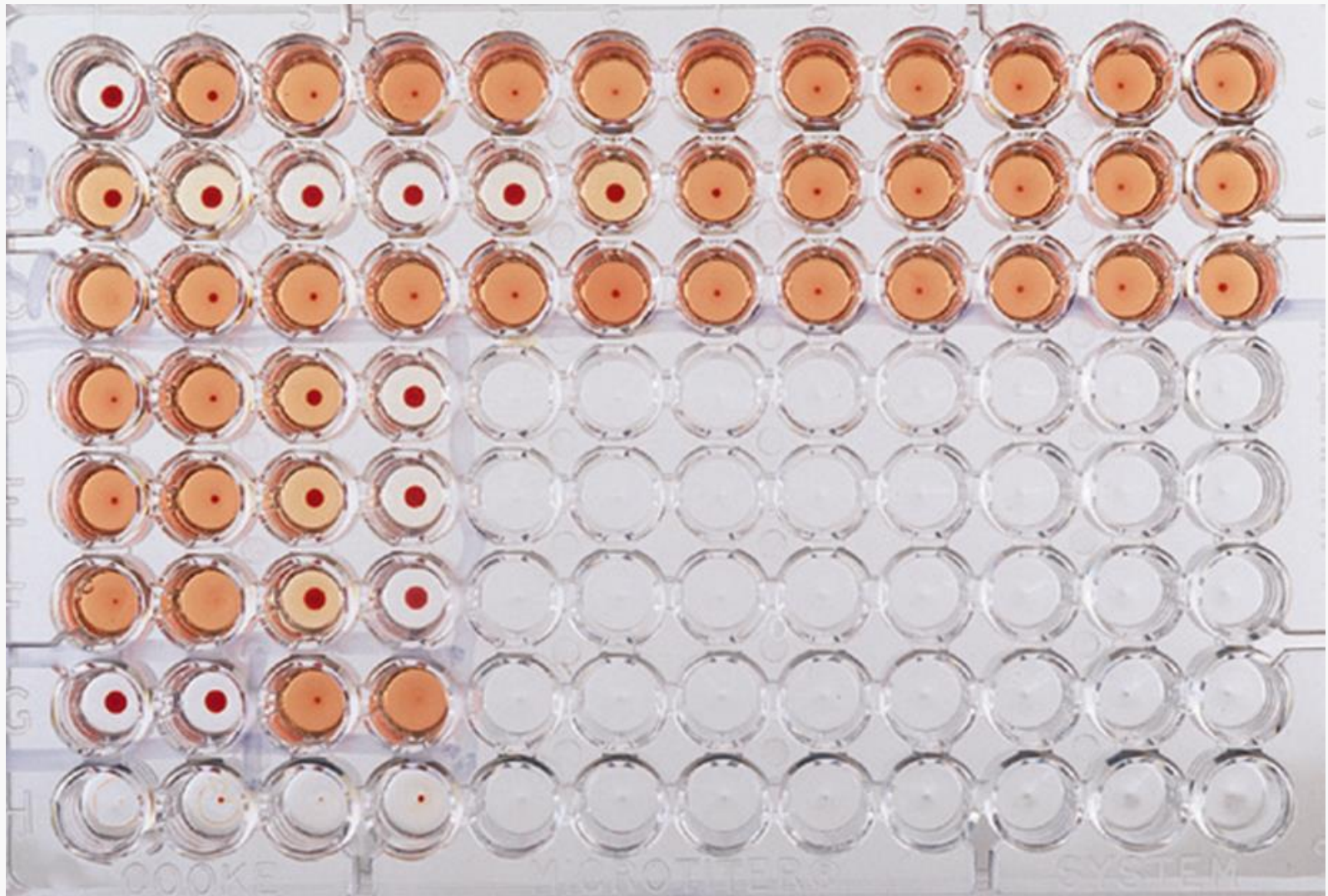
Reakcija vezivanja komplementa RVK



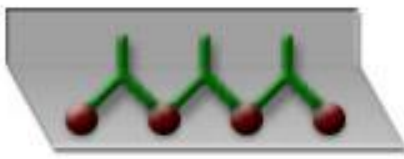
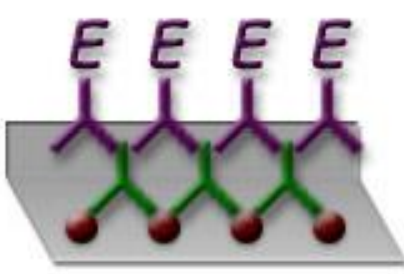
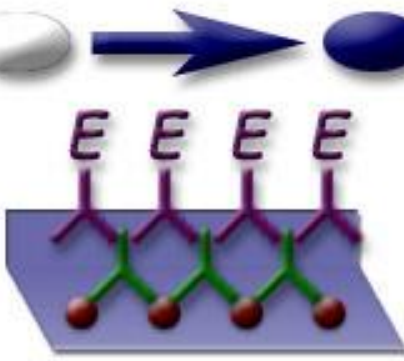
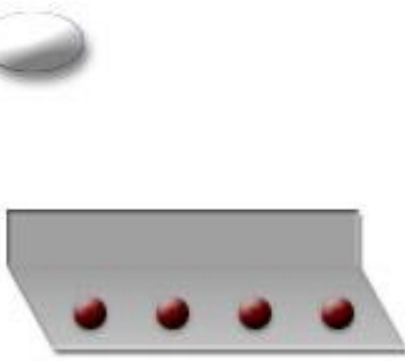
Makro i mikro RVK



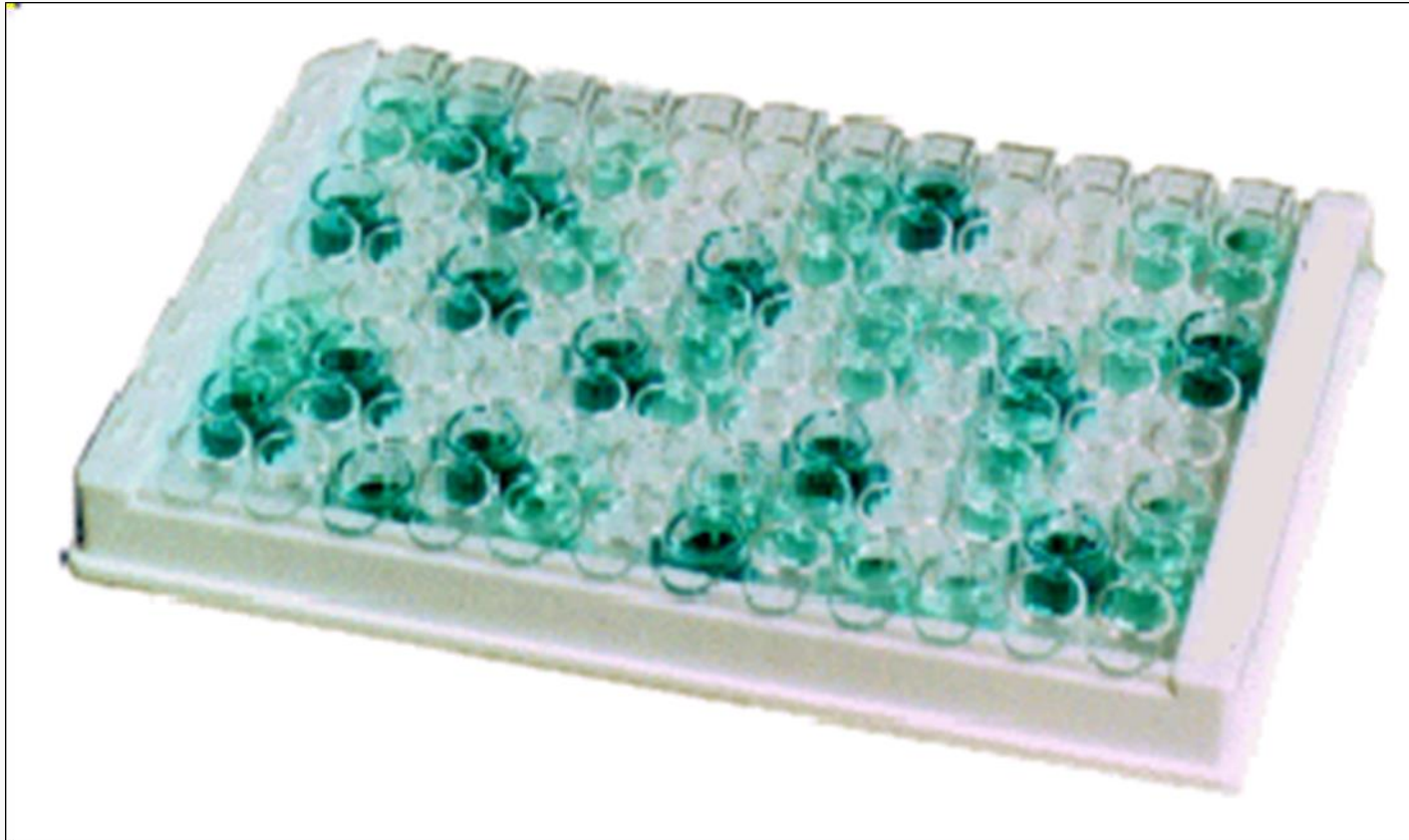
Mikro RVK



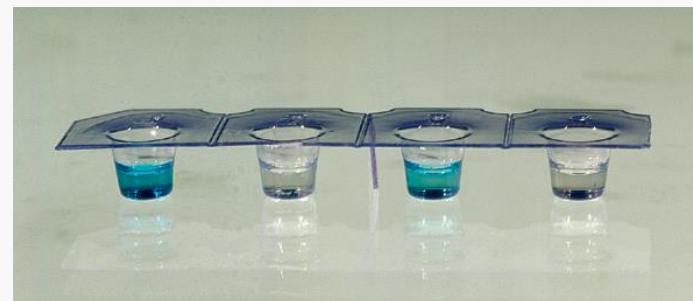
Indirektna ELISA

INDIREKTNNA ELISA ANTIGEN VEZAN U BAZENČIĆIMA ISPITIVANI SERUM INKUBACIJA I ISPIRANJE	POZITIVAN UZORAK PRISUTNA ANTITELA KOJA SE VEZUJU ZA ANTIGEN 	NEGATIVAN UZORAK NEMA ANTITELA 
DODAVANJE SPECIFIČNOG ANTIGLOBULINSKOG ANTITELA KONJUGOVANOG SA ENZIMOM NAKON INKUBACIJE ISPIRANJE		
DODAVANJE SUPSTRATA POZITIVNA REAKCIJA–SUPSTRAT RAZLOŽEN I POJAVA BOJE NEGATIVNA REAKCIJA– NEMA POJAVE BOJE		

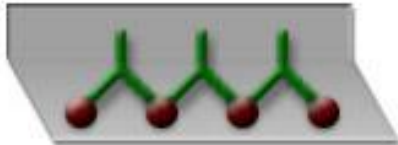
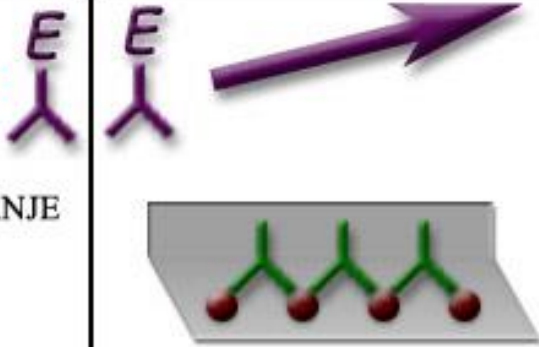
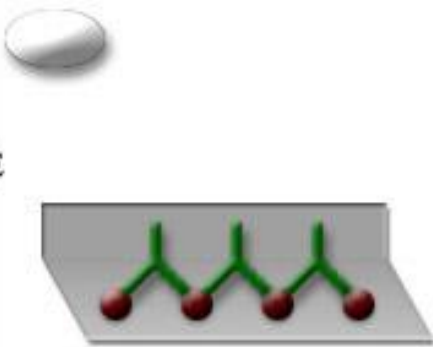
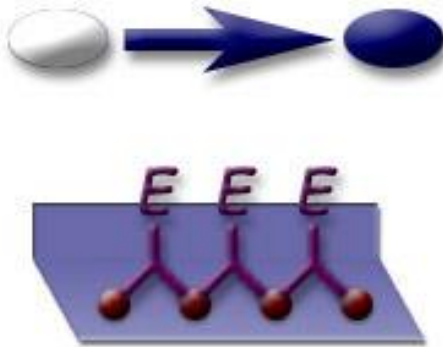
Indirektna ELISA



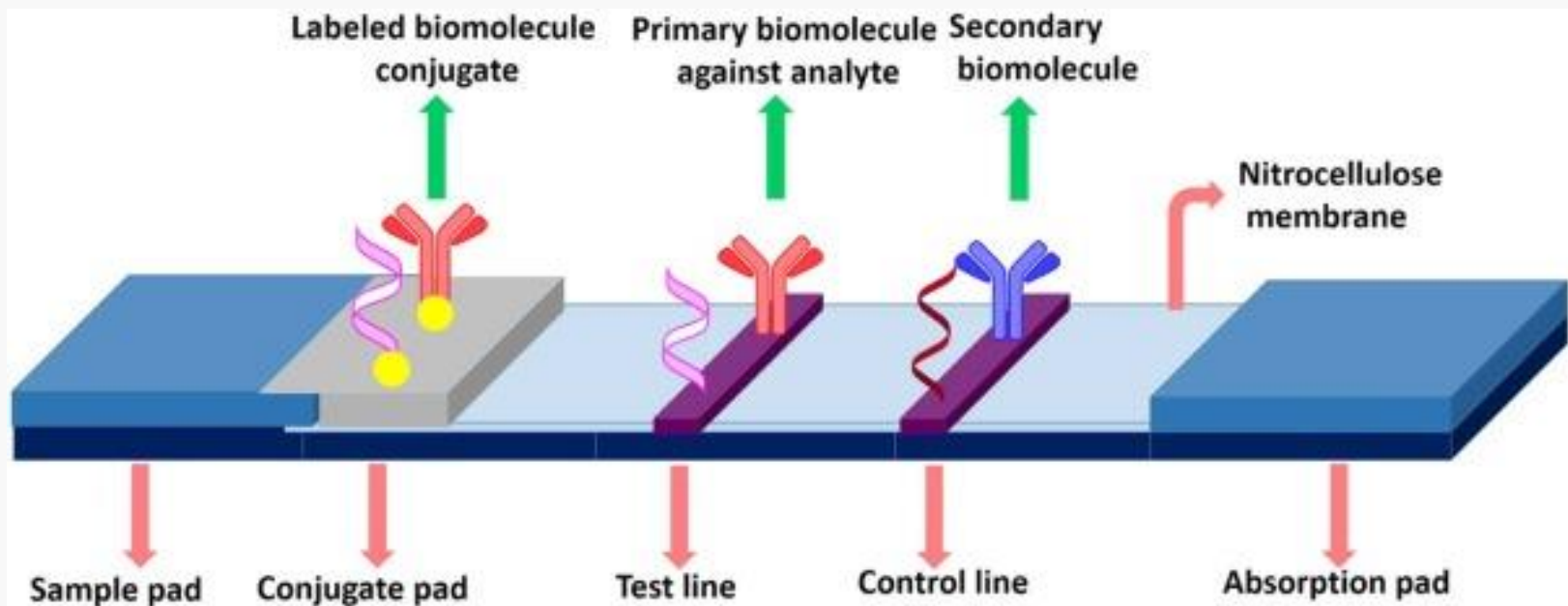
Indirektna ELISA



Kompetitivna ELISA

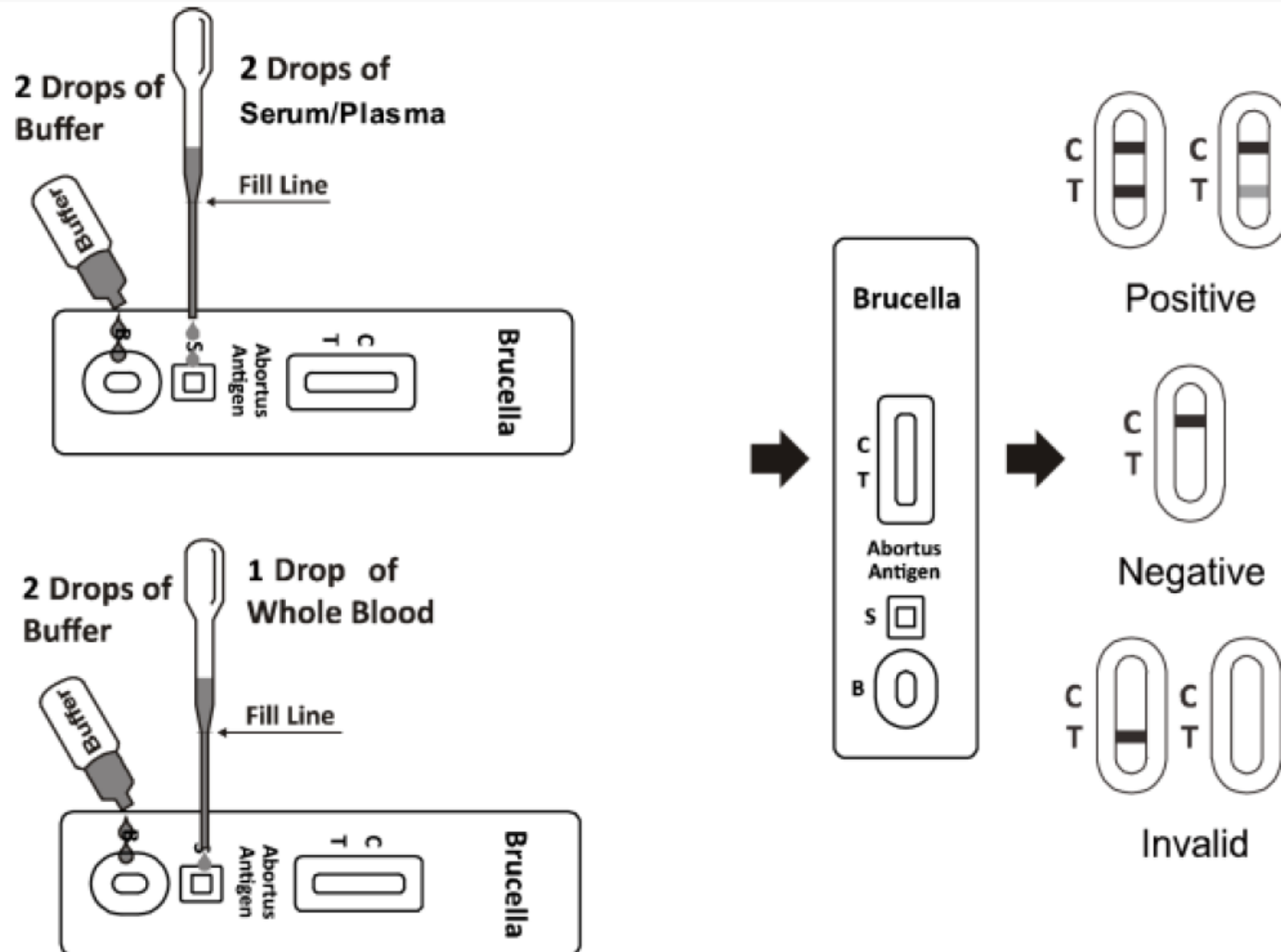
KOMPETITIVNA ELISA ANTIGEN VEZAN U BAZENČIĆIMA + ISPITIVANI SERUM NAKON INKUBACIJE ISPIRANJE	POZITIVAN UZORAK PRISUTNA ANTITELA KOJA SE VEZUJU ZA ANTIGEN 	NEGATIVAN UZORAK NEMA ANTITELA 
DODAVANJE SPECIFIČNIH ANTITELA KONJUGOVANIH SA ENZIMOM NAKON INKUBACIJE ISPIRANJE		
DODAVANJE SUPSTRATA POZITIVAN UZORAK– VEZANA ZA ANTIGEN ANTITELA IZ ISPITIVANOG SERUMA NEMA BOJE NEGATIVAN UZORAK– VEZANA KONJUGOVANA ANTITELA POJAVA BOJE		

Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antigena

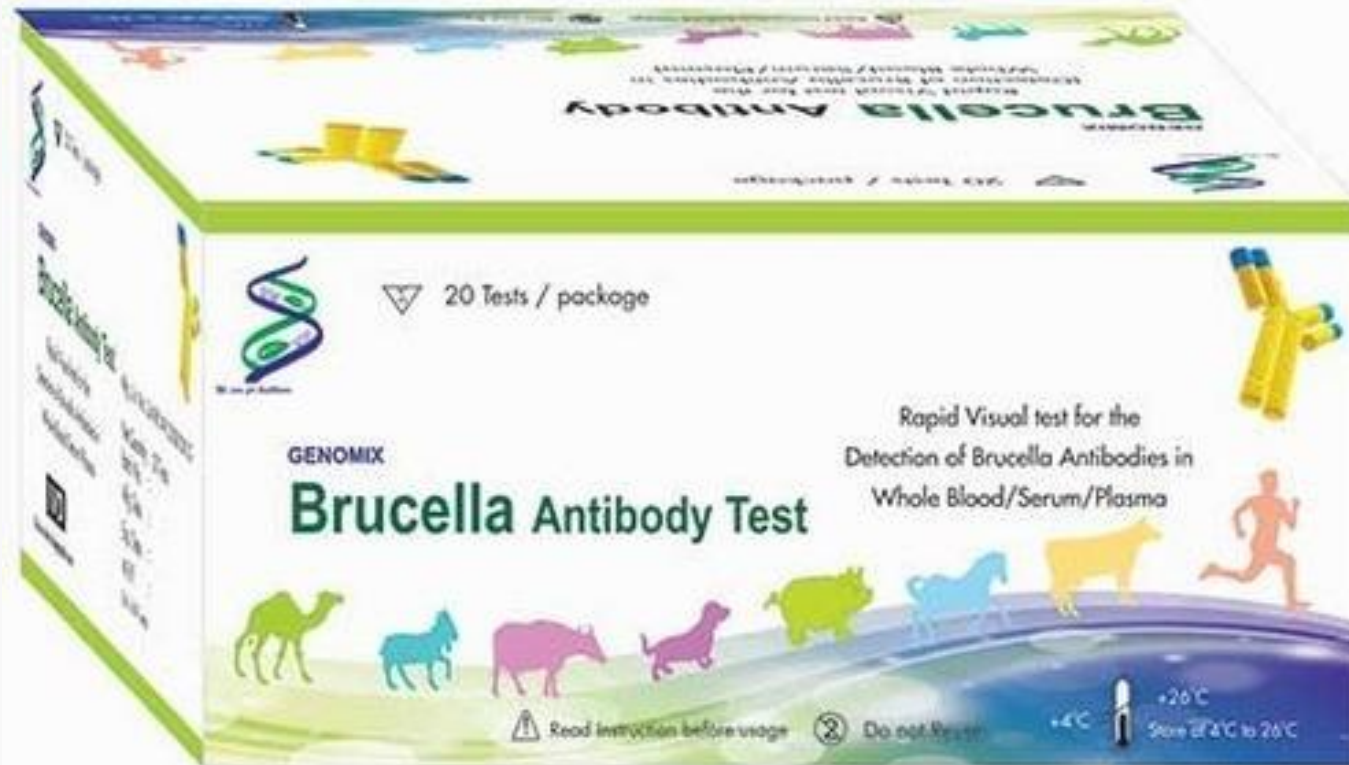


Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antigena

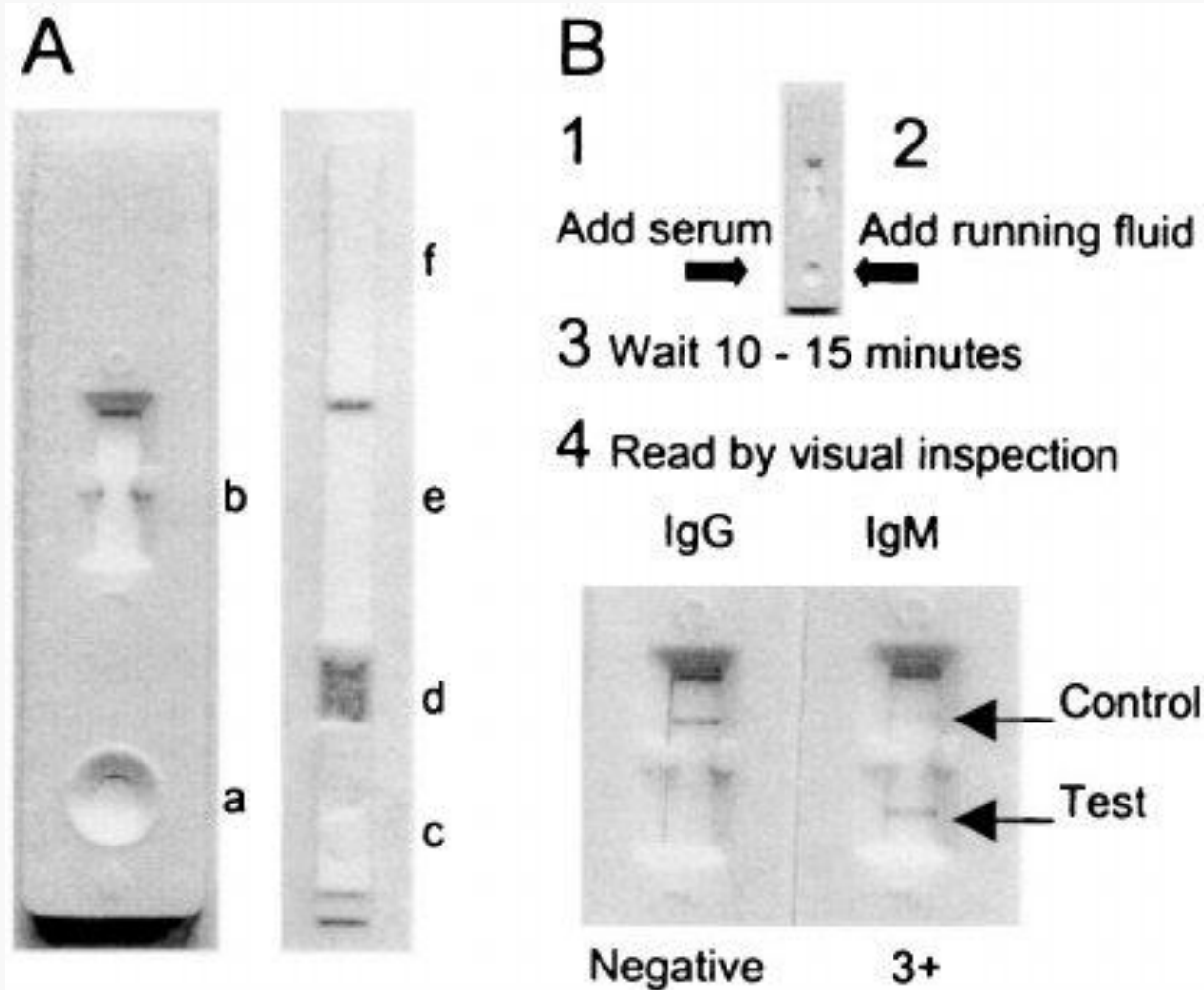
Sandwich lateral flow immunochromatographic assay



Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antitela



Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antitela



Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antitela

