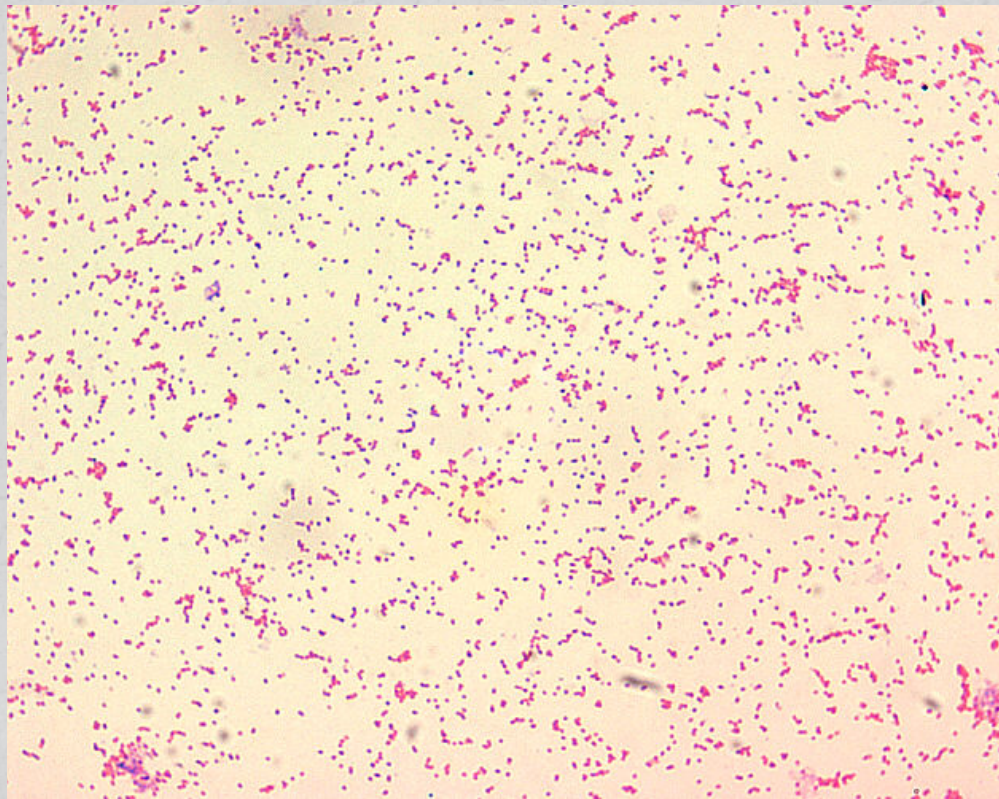
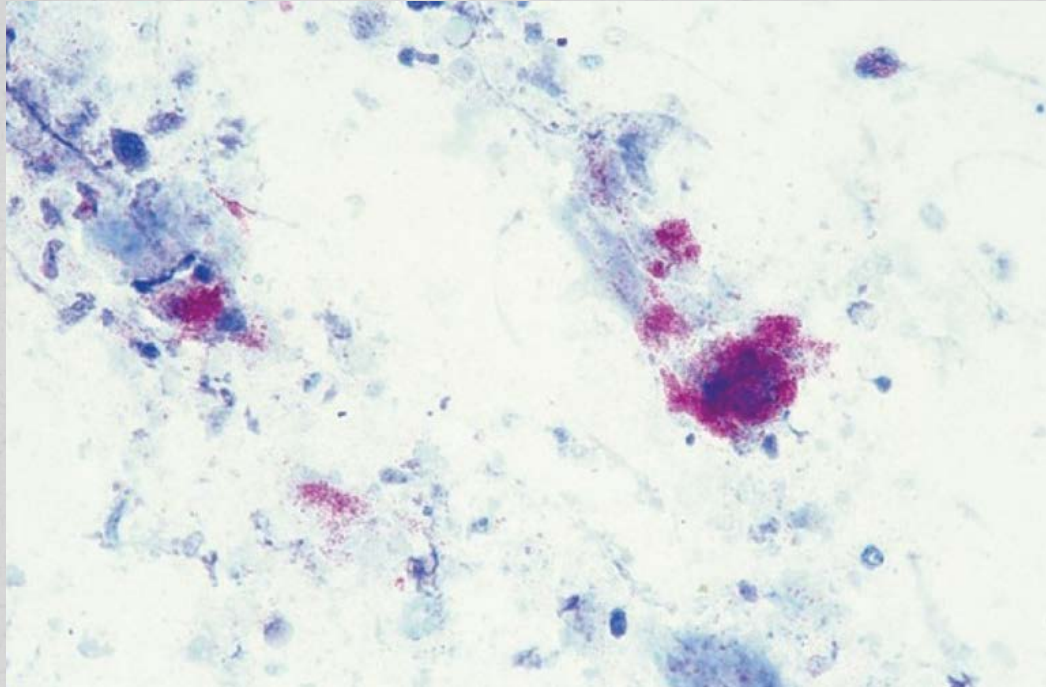


Brucella spp.

- **Uzročnici bruceloze** zarazne bolesi žvotinja i ljudi
- **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
- **Primena tehnike molekularne biologije - DNK-DNK hibridizacija ukazala na postojanje samo jedne vrste *B. melitensis* sa šest varijeteta**
- **U upotrebi je stara klasifikacija ovog roda – najvažnije patogene vrste: *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*, *B.ovis*, *B.canis*, *B.neotomae*, *B.ceti*, *B.pinnipedialis*, *B.microti***

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**

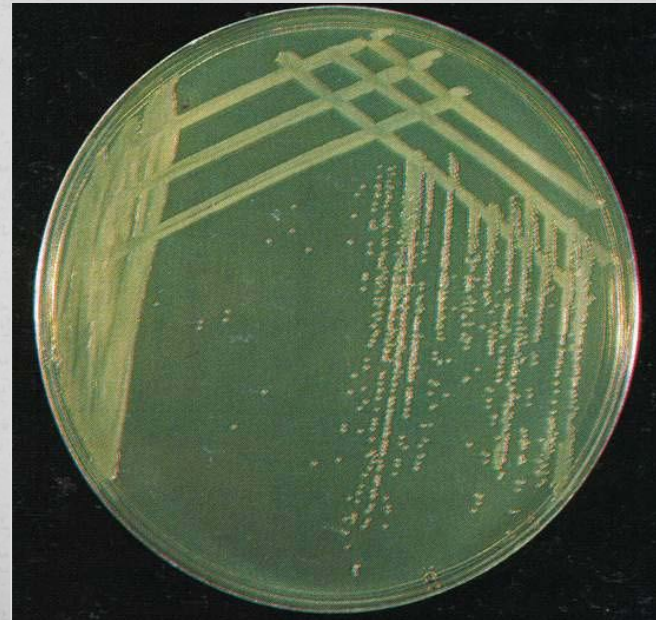
B. melitensis

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

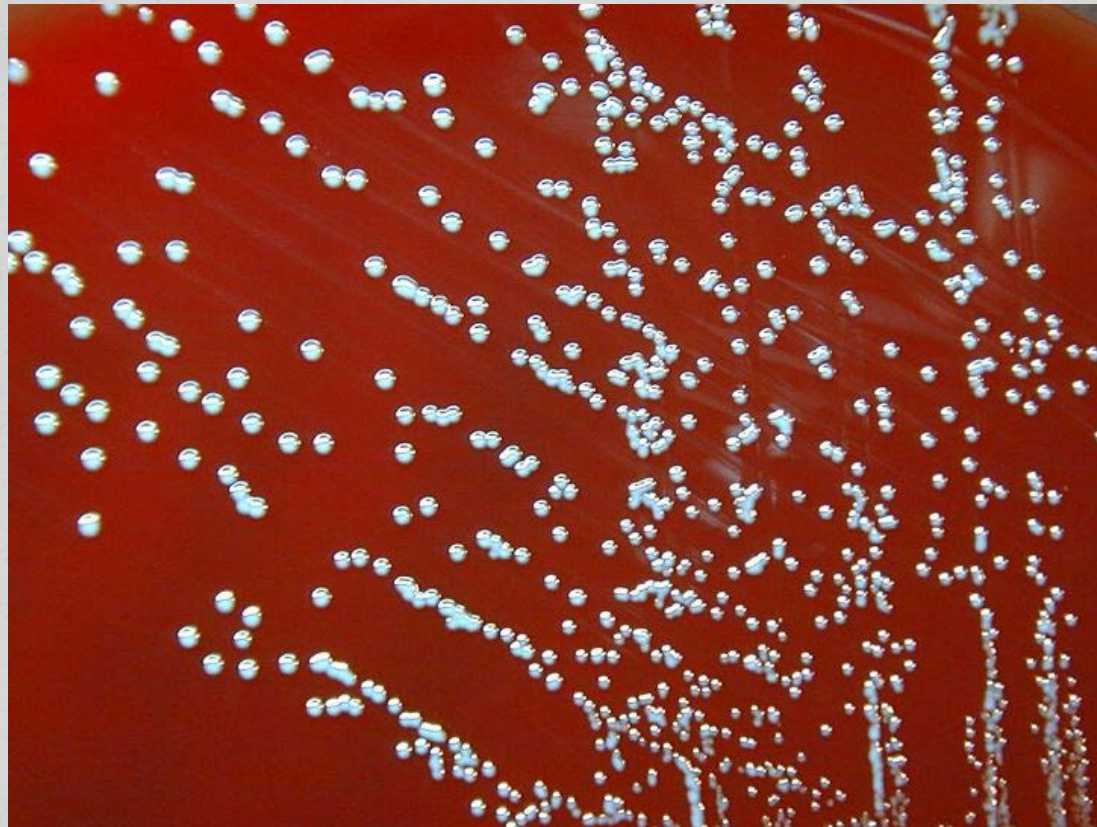


- *B. suis*
 - svinje- abortus, orhitis, spondiloza i sterilitet
 - ljudi- intermitentna groznica
- *B. ovis*
 - ovce - epididimitis ovnova, sporadično abortus
- *B. canis*
 - psi - abortus, epididimitis, spondiloza, sterilitet
 - ljudi – blago sistemsko oboljenje
- *B. neotomae* vodeni pacov
- U Srbiji je dokazano prisustvo *Brucella melitensis* biotip 3, *Brucella suis* biotip 2 i *Brucella canis*.

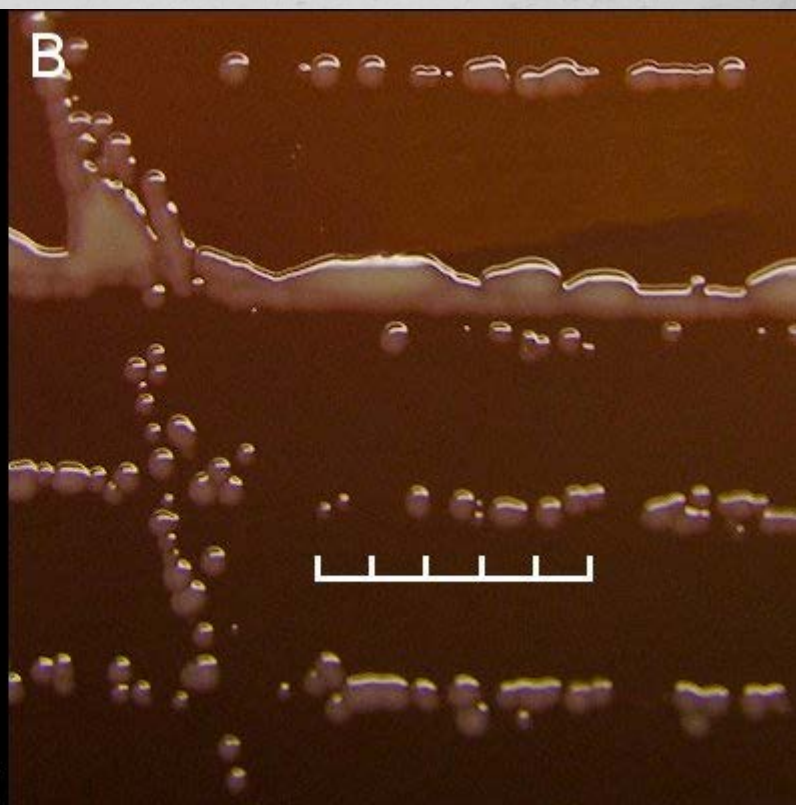
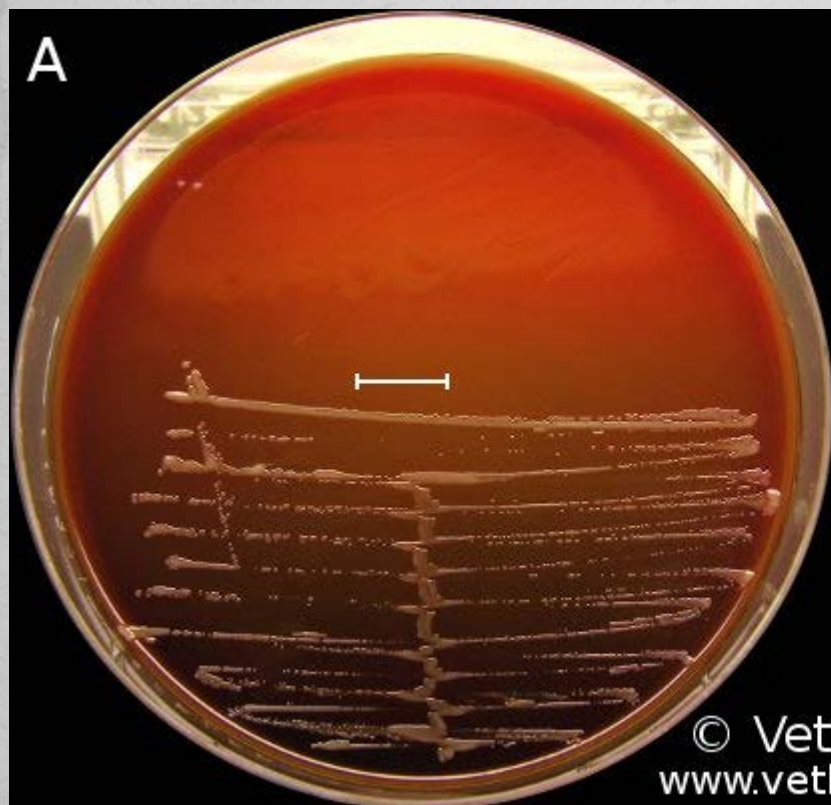
- *Brucella* spp. su **katalaza pozitivne** i oksidaza pozitivne (izuzetak *B.ovis* i *B. neotomae*), ne rastu na MacConkey agaru
- Aerobi i kapnofili – *B.ovis* i određeni biotipovi *B.abortus* zahtevaju 5-10% CO₂
- Obogaćene podloge – krv ili serum – *B.ovis* i *B.abortus* biotip 2 – rast 5 dana



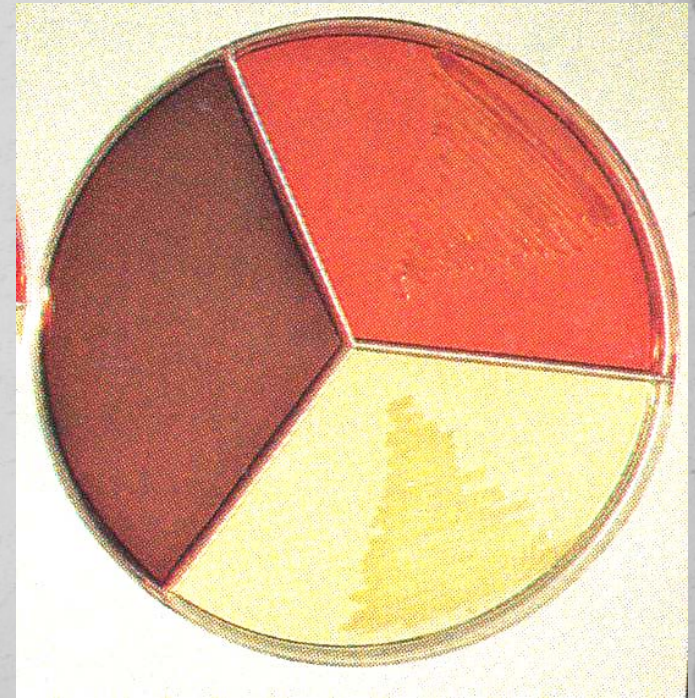
- Razlika vrsta
 - izgled kolonija
 - - **S oblik** – *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*



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

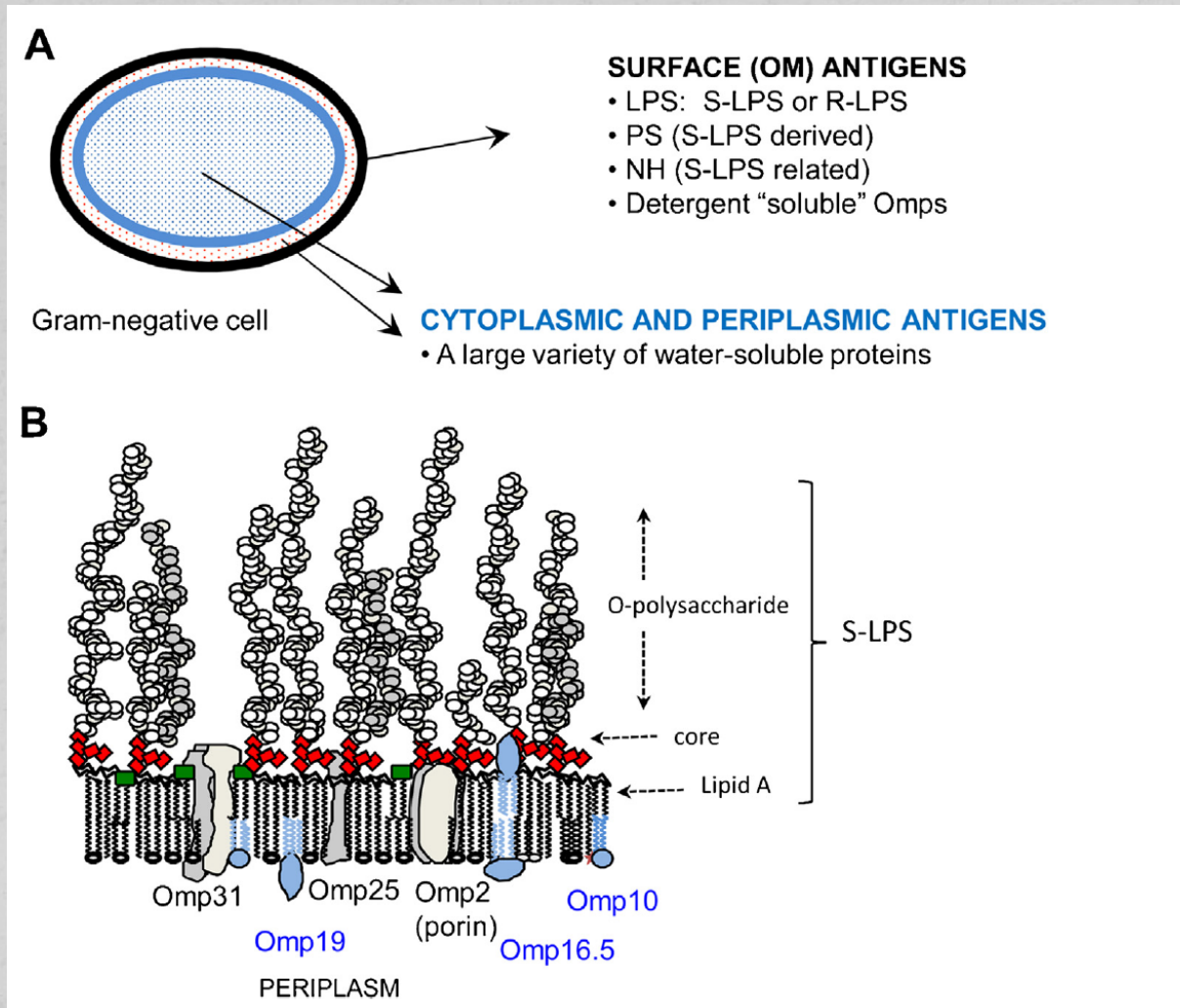


- Razlika vrsta
 - specifične kulturelne karakteristike – CO₂
 - biohemijske reakcije
 - **inhibicija rasta od strane anilinskih boja** – tionin, bazični fuksin
 - *B.melitensis* – nije inhibisan rast
 - *B.abortus* – inhibicija tionin
 - *B.suis* – inhibicija bazični fuksin



• Razlika vrsta

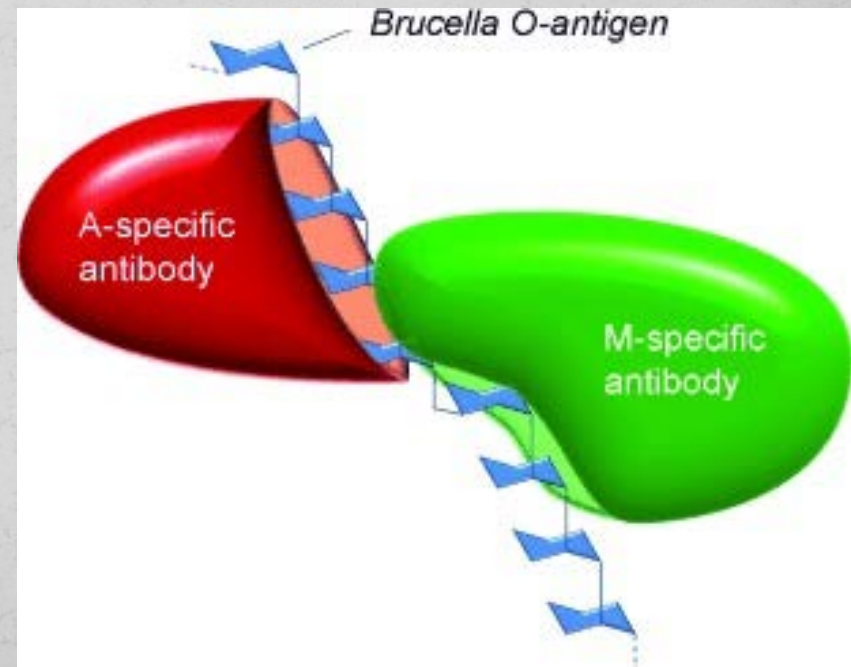
• prisustvo antigena A, M i R



- 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)



Fig.1A

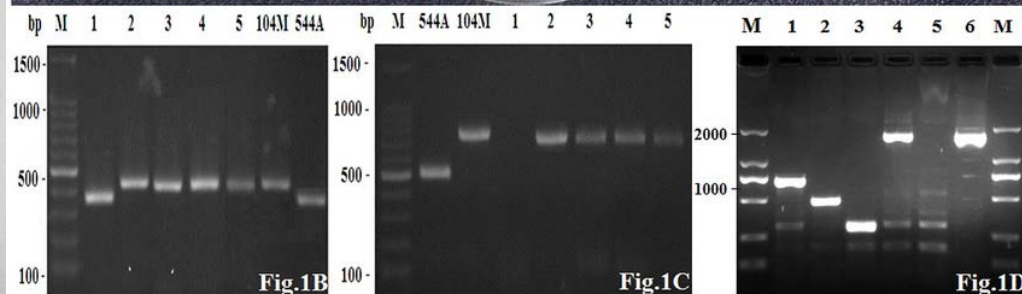
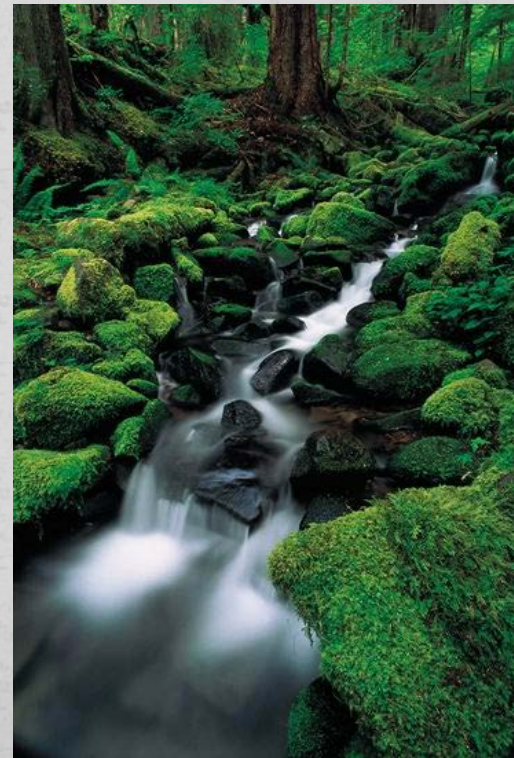


Fig.1B

Fig.1C

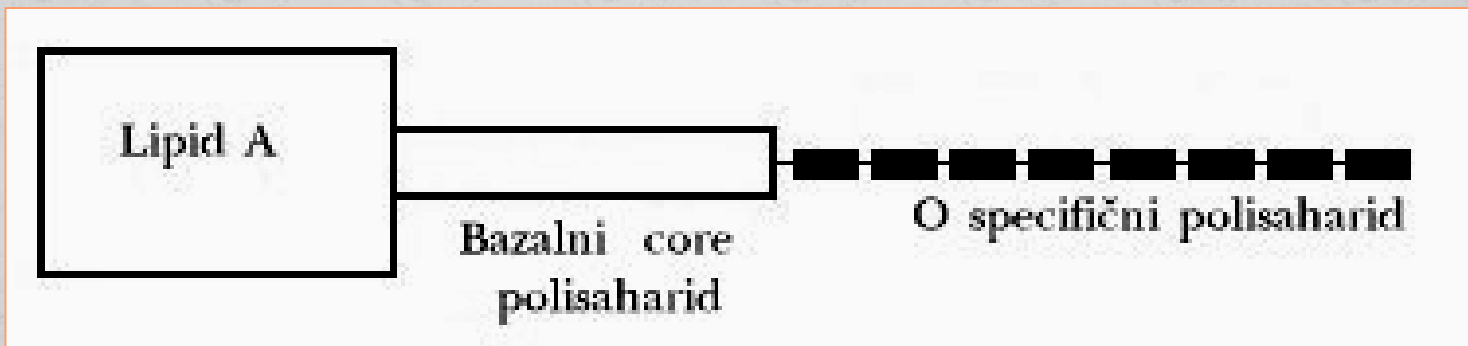
Fig.1D

- **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**

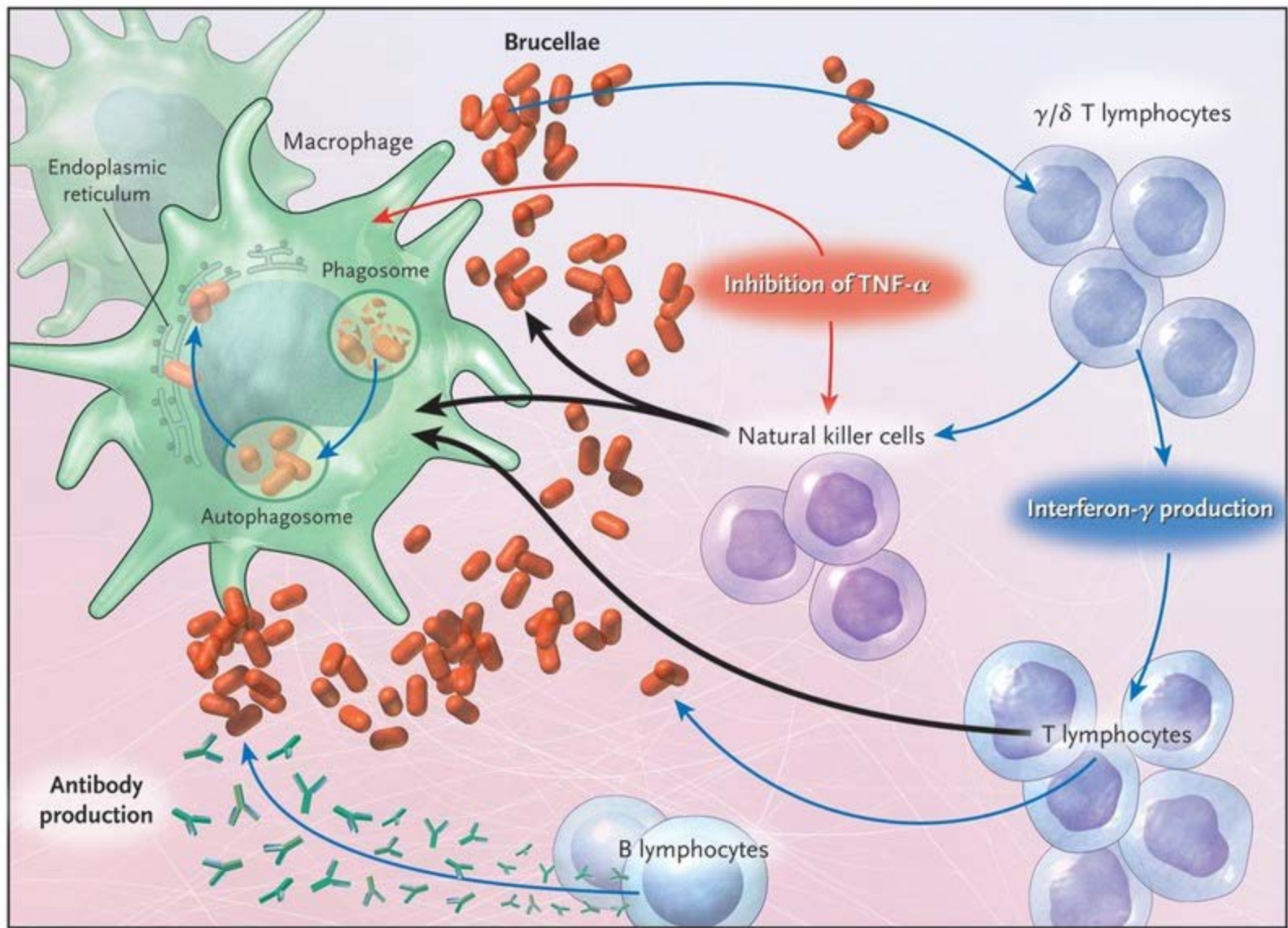


Patogeneza

- 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 orhitis 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 žleza – 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

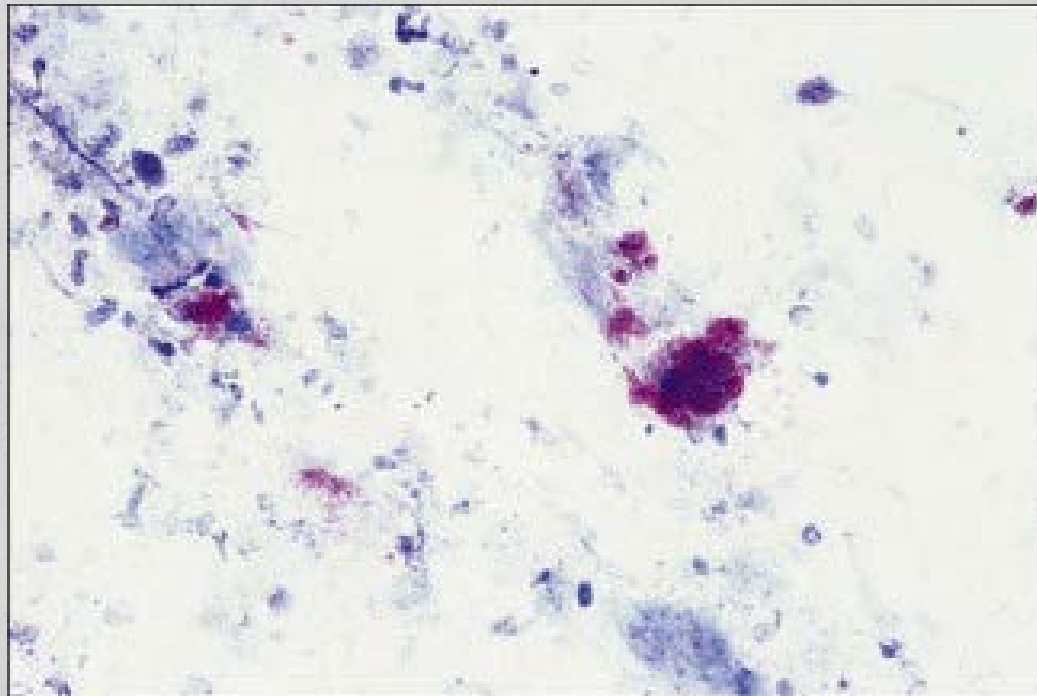
Gravidna životinja
Placentitis, abortus
Sledeće trudnoće
nema abortusa ali
se izlučuju brucele

Negravidna 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 placente - koza

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

Dijagnoza

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

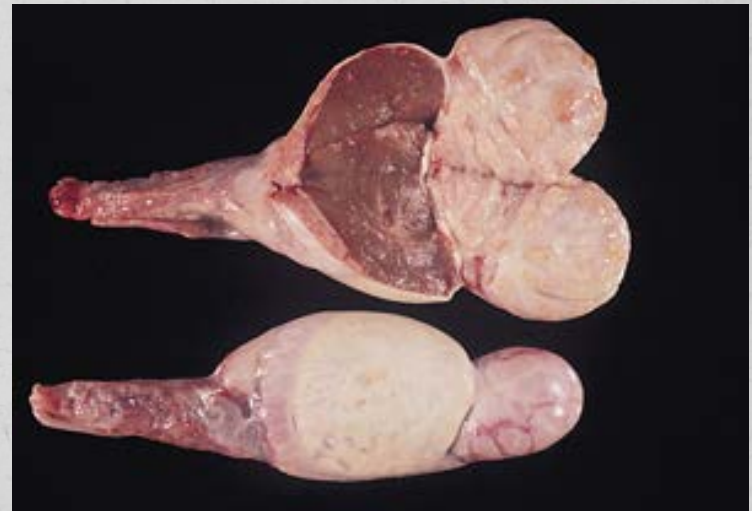
**U nekim zemljama sprovodi se vakcinacija,
Brucella melitensis Rev 1**

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

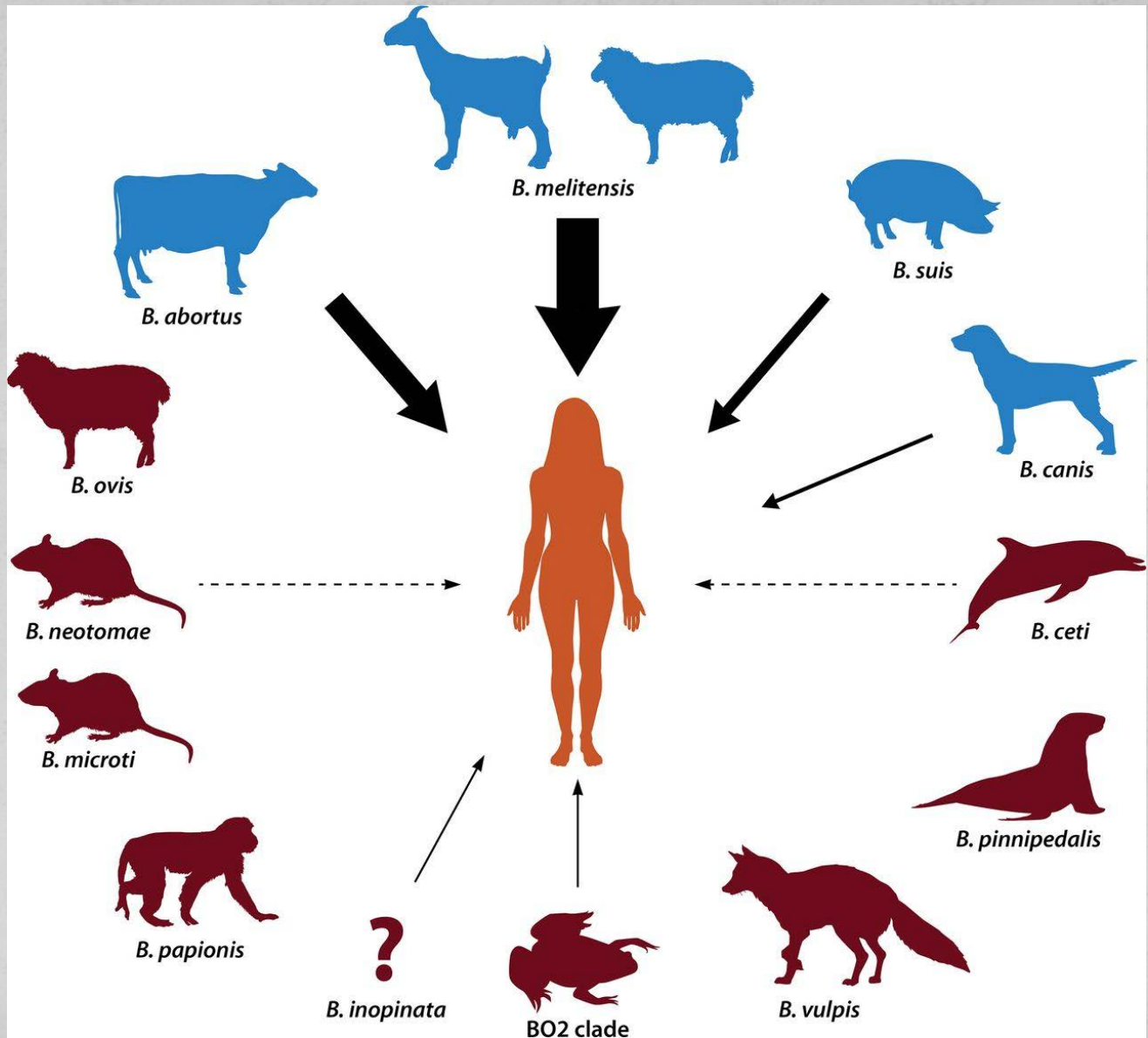


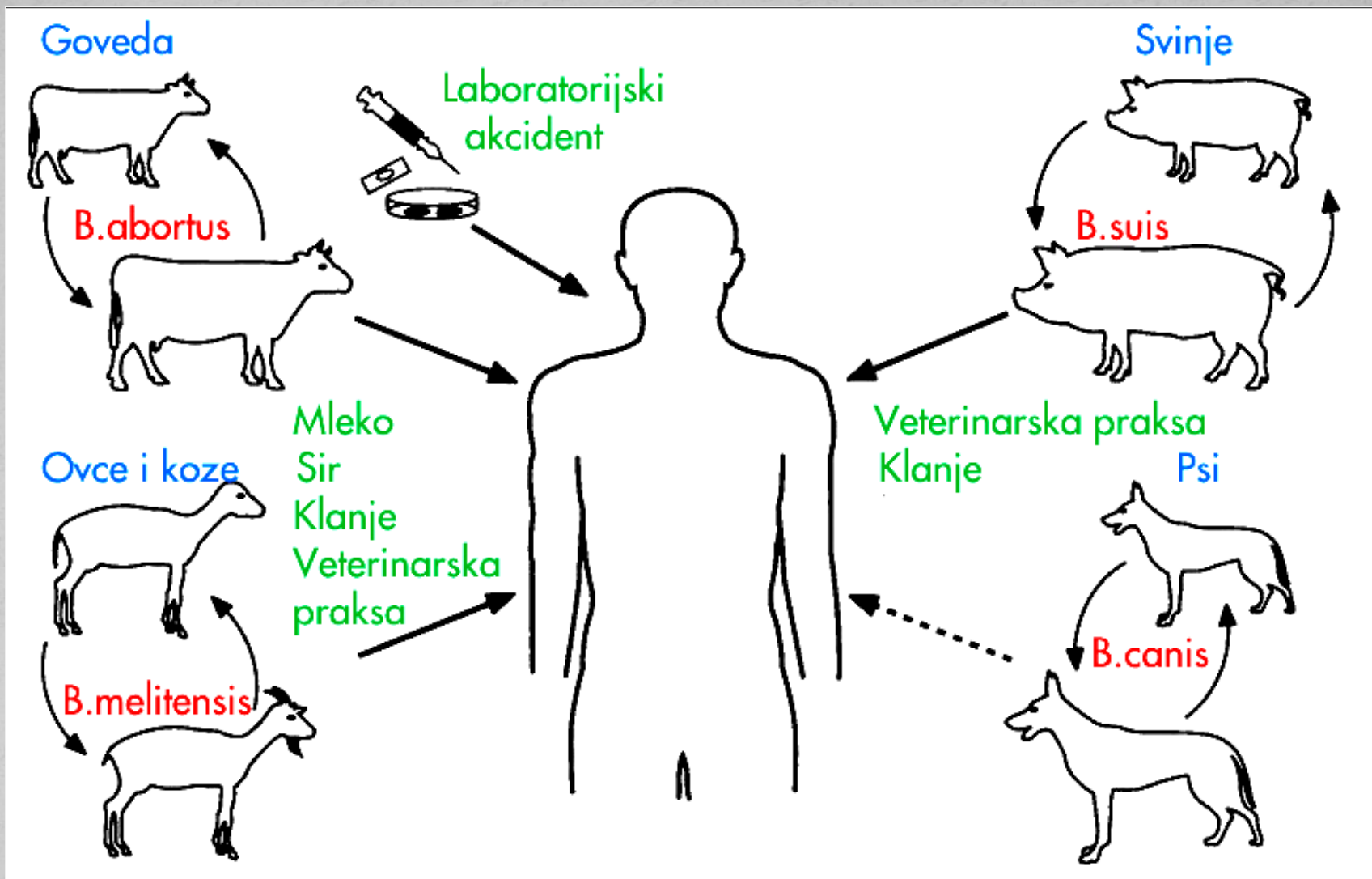
Bruceloza ljudi – ondulentna groznica

- *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

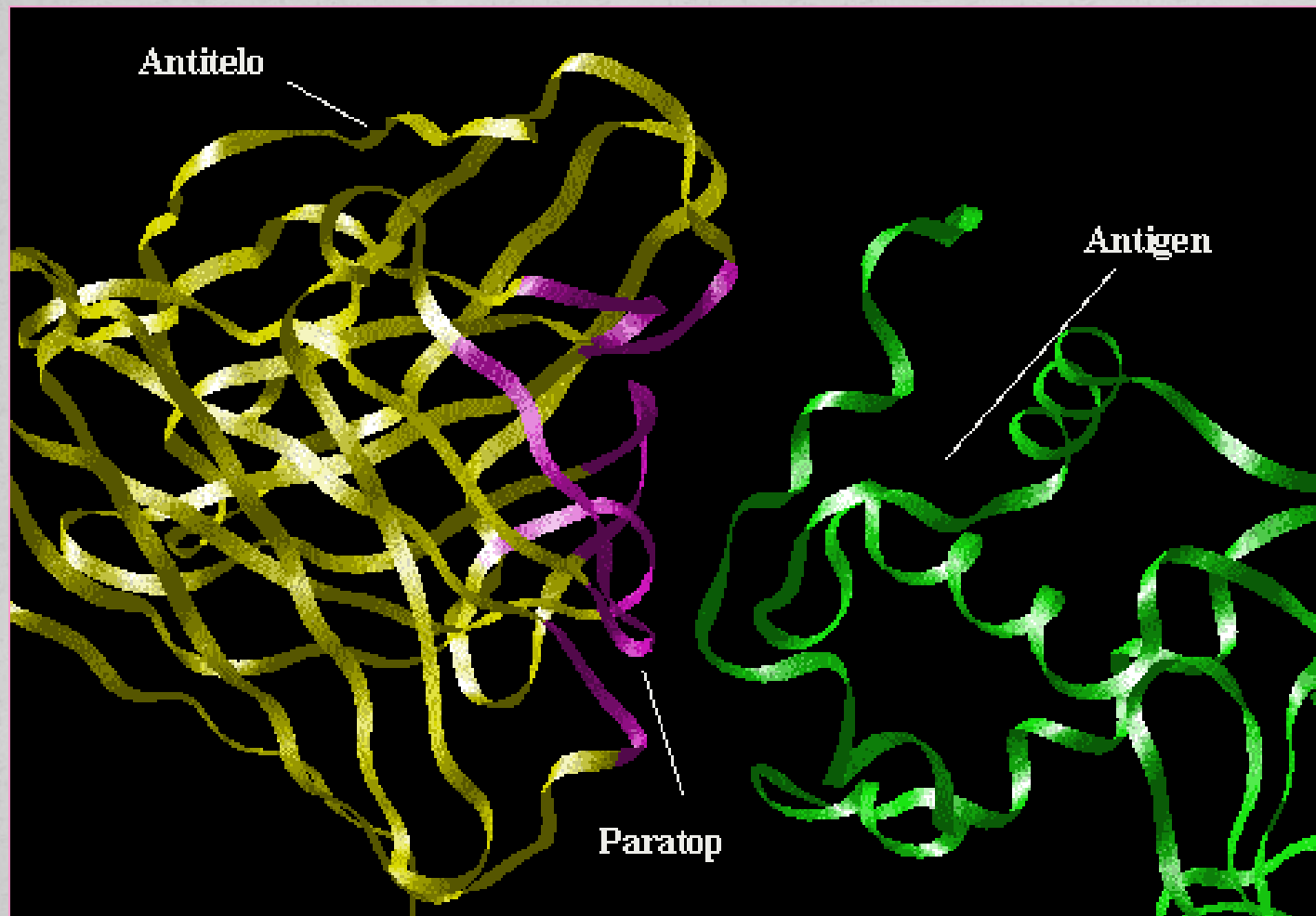
Bruceloza ljudi – ondulentna groznica

- Terapija – antibiotici – šest nedelja
- Streptomycin + doxycycline
- TMP/SMX + doxycycline
- Rifampicin + doxycycline
- endocarditis, meningitis – tri antibiotika tri meseca terapija

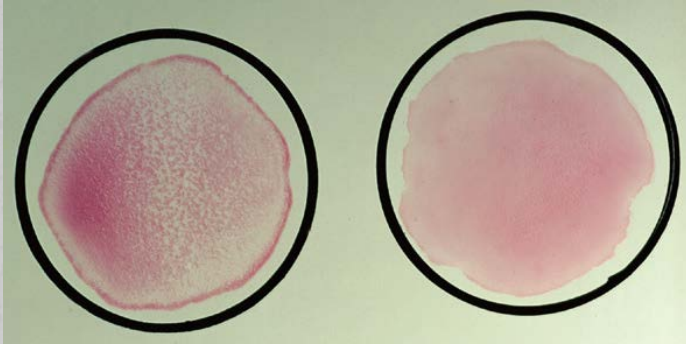




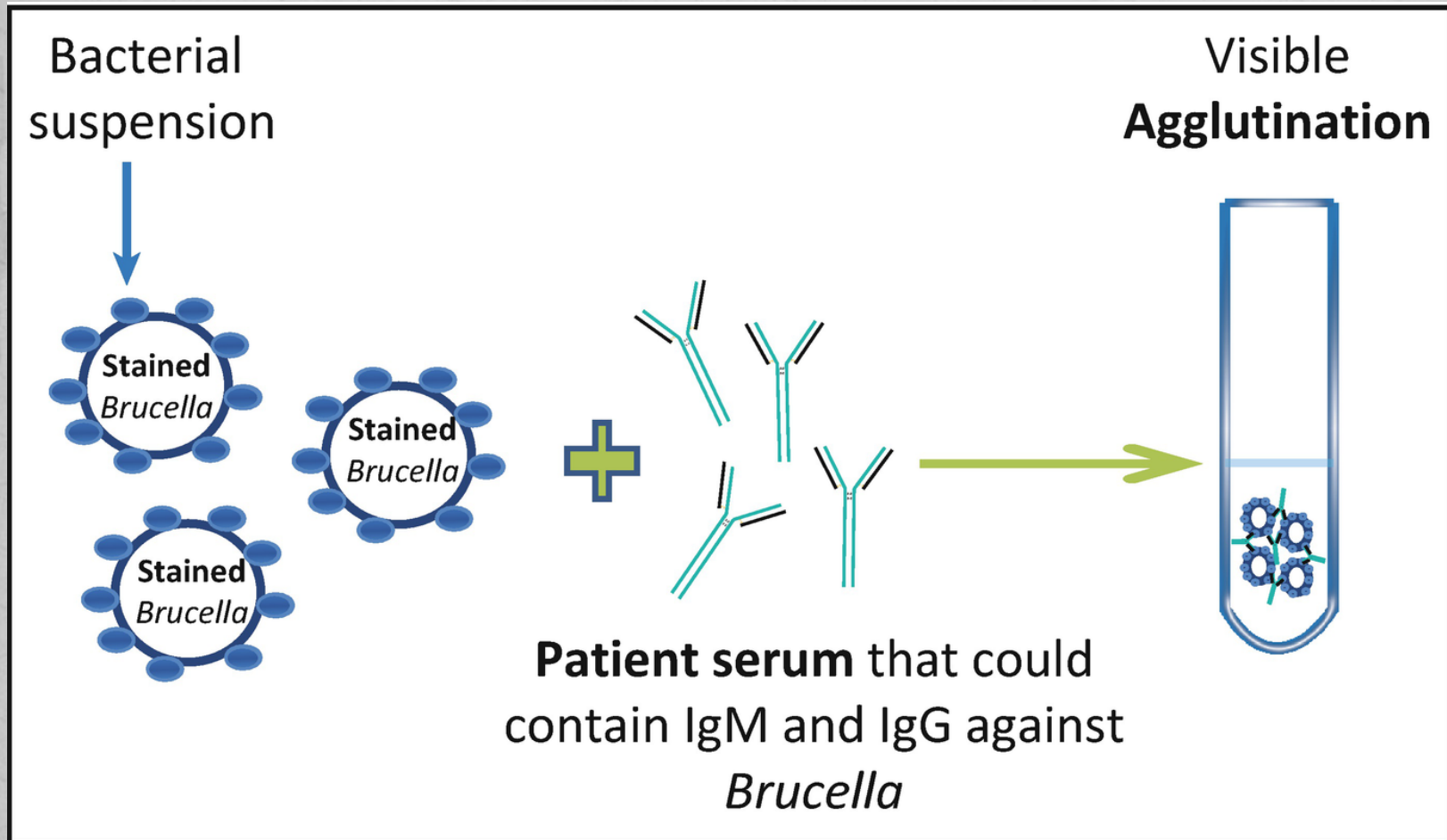
Serološke reakcije



Serološke reakcije – brza i spora aglutinacija



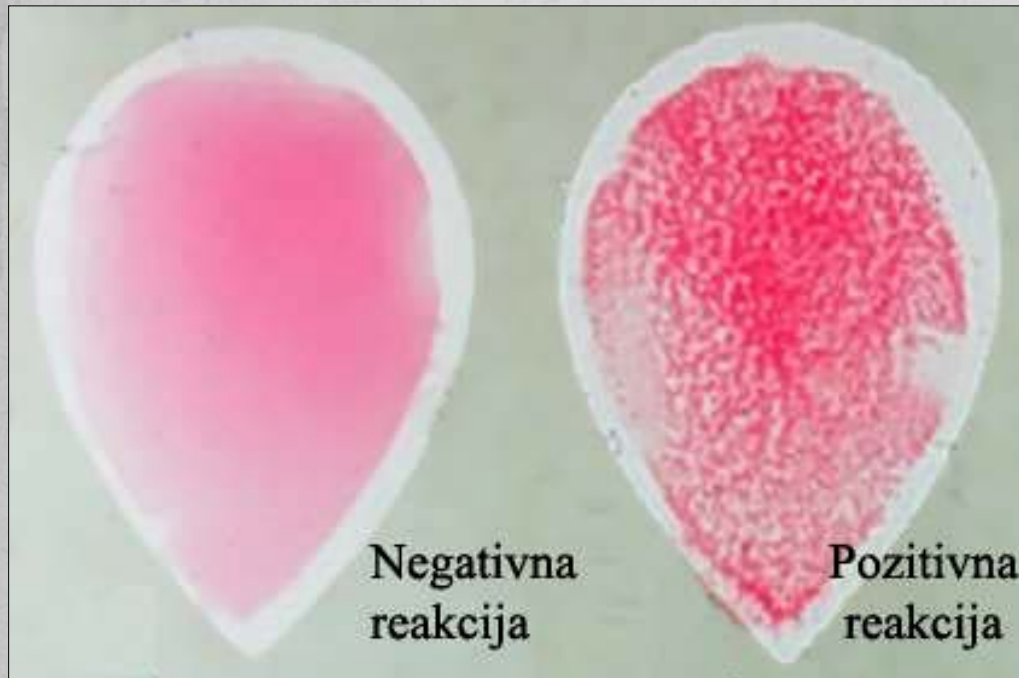
Serološke reakcije



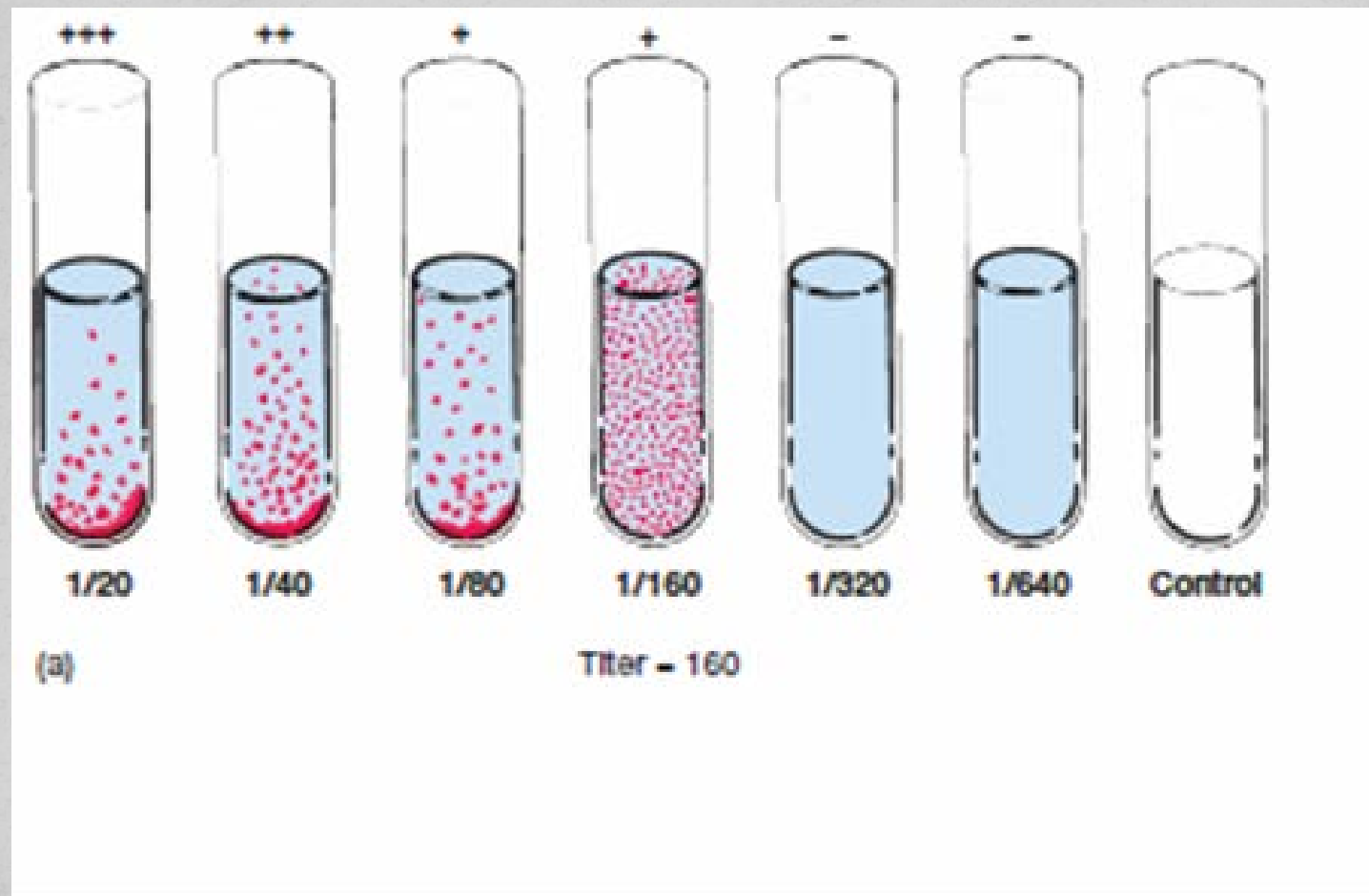
Serološke reakcije

Brza aglutinacija na pločici

–BAB – Rose Bengal test



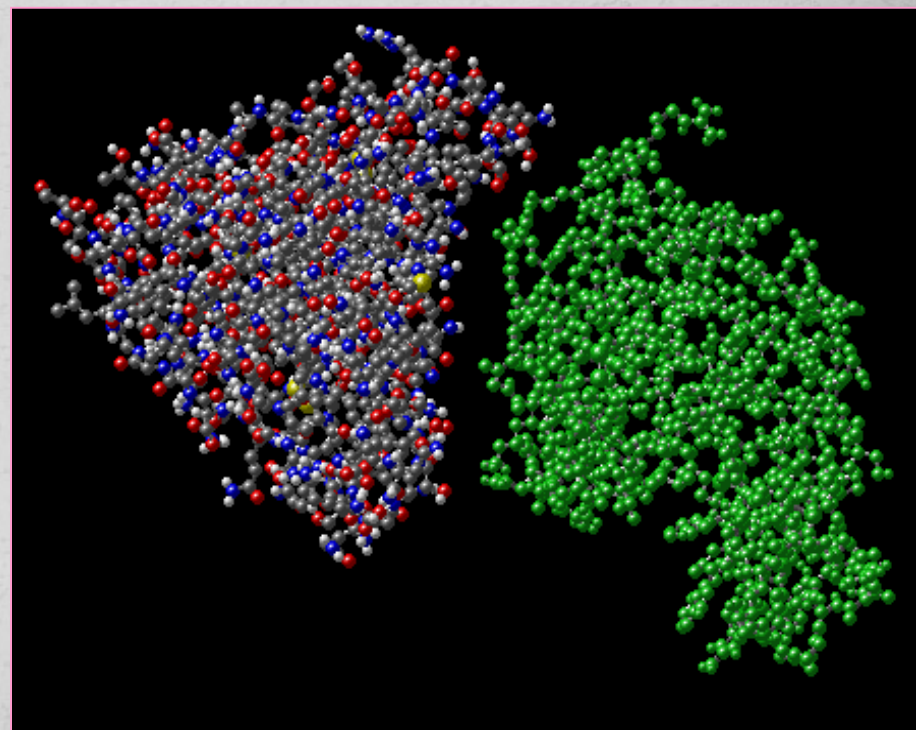
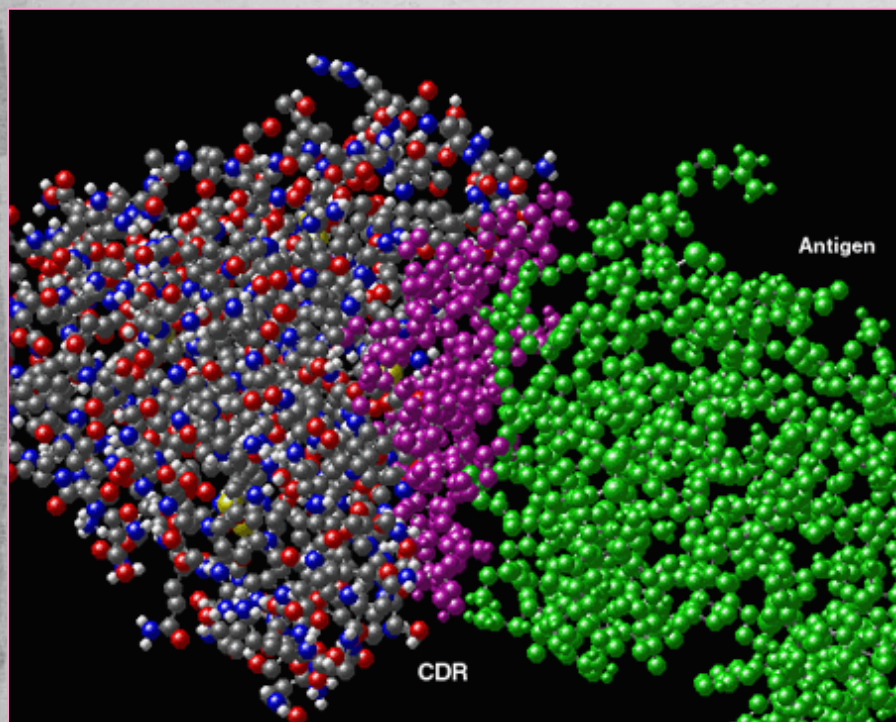
Spora aglutinacija u epruveti



Spora aglutinacija u epruveti

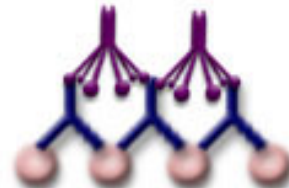
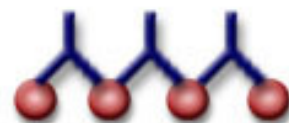
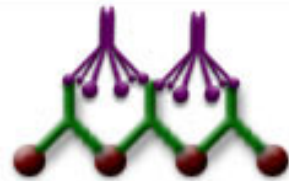
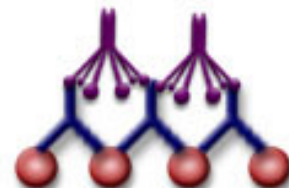
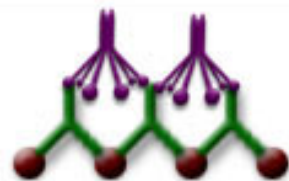
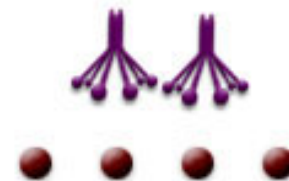
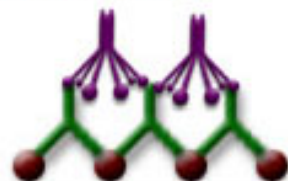


Unakrsna srodnost antigena *Brucella* spp.
i drugih Gram negativnih bakterija
- *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. grupa N...

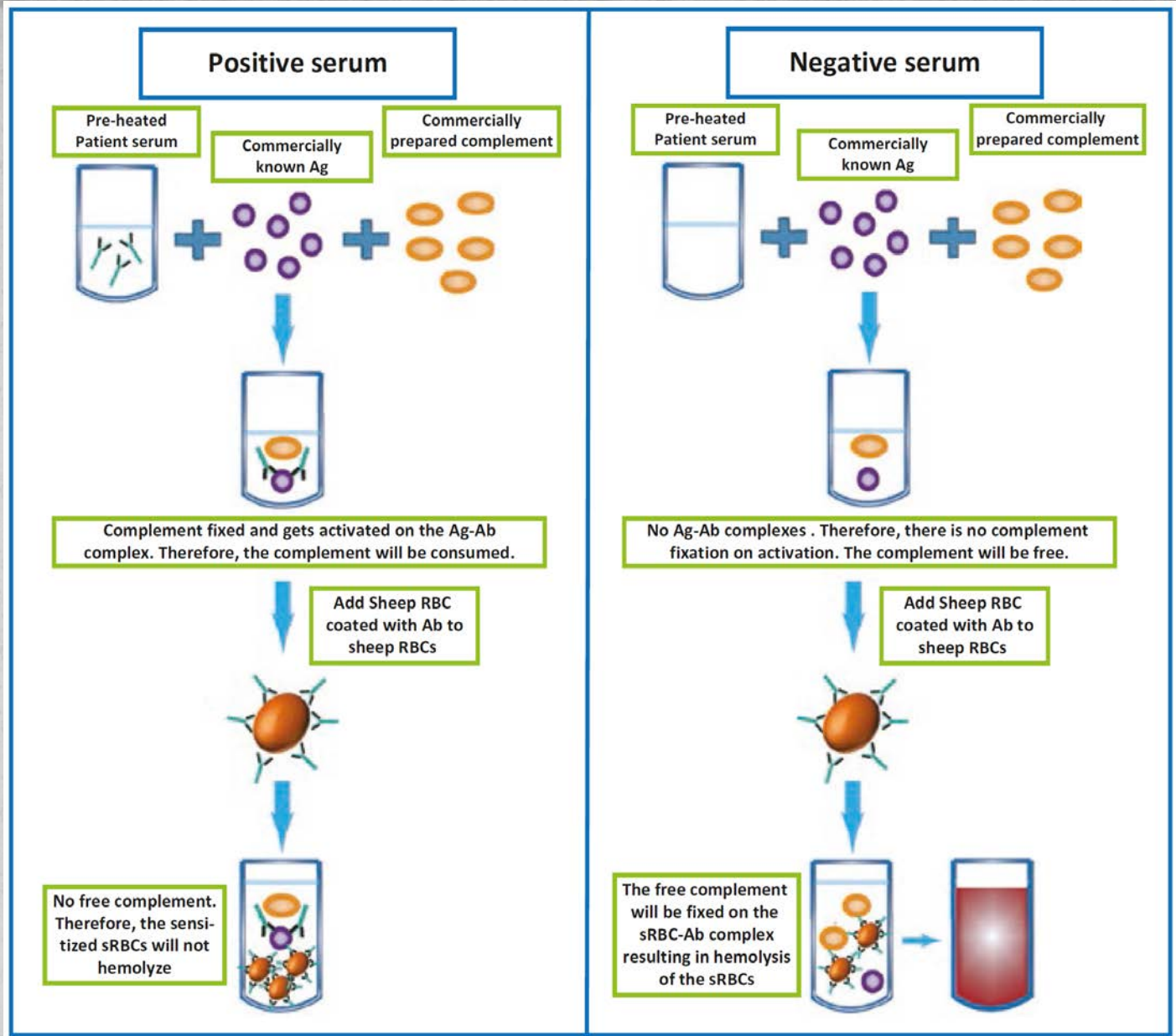


Reakcija vezivanja komplementa - RVK

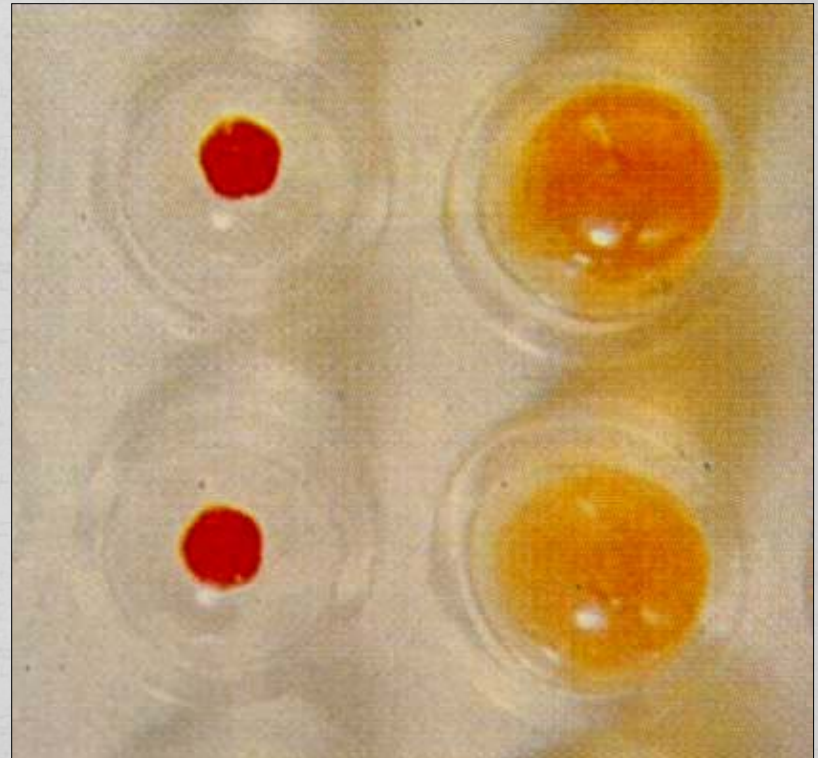
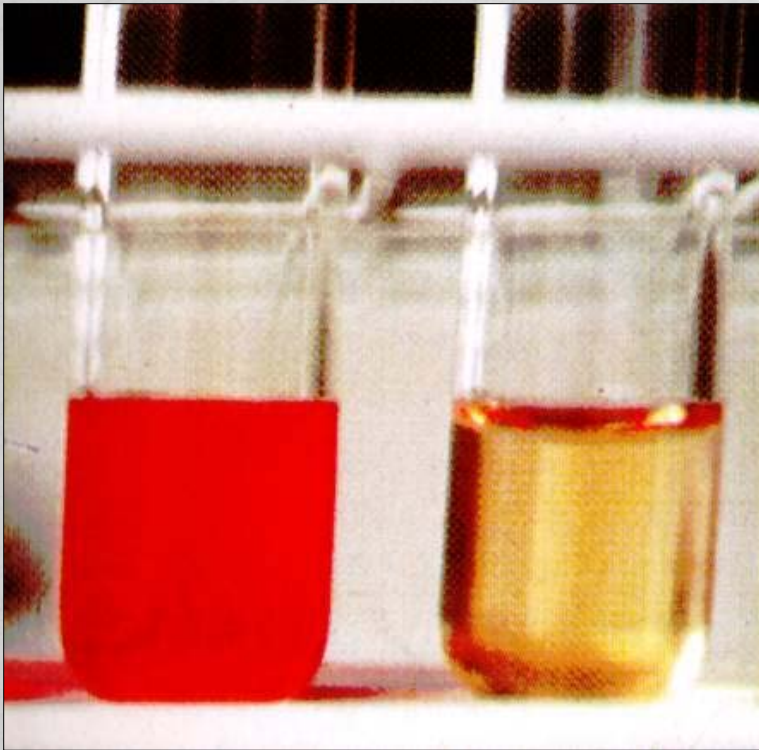
| <p>I FAZA</p> <p>ANTIGEN + KOMPLEMENT + ISPITUJUĆI SERUM</p> <p>INKUBIRANJE I FAZE</p> | <p>POZITIVAN SERUM</p> <p>PRISUTNA ANTITELA VEZAN KOMPLEMENT ZA KOMPLEKS AG+AT</p> | <p>NEGATIVAN SERUM</p> <p>ODSUSTVO ANTITELA SLOBODAN KOMPLEMENT</p> |
|--|--|---|
| <p>II FAZA – DODAVANJE HEMOLITIČKOG SISTEMA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







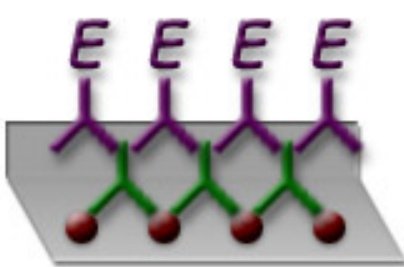
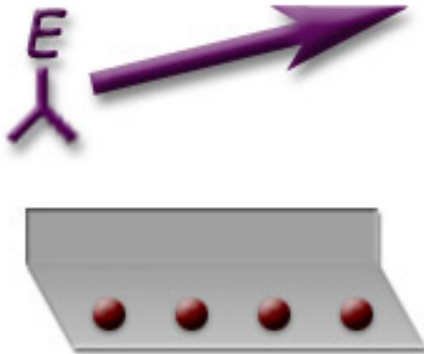
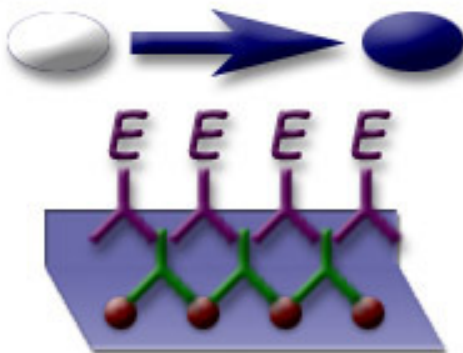
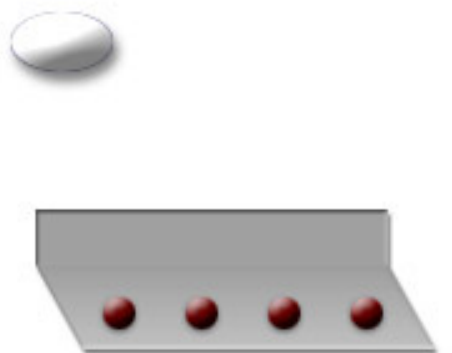
Reakcija vezivanja komplementa RVK



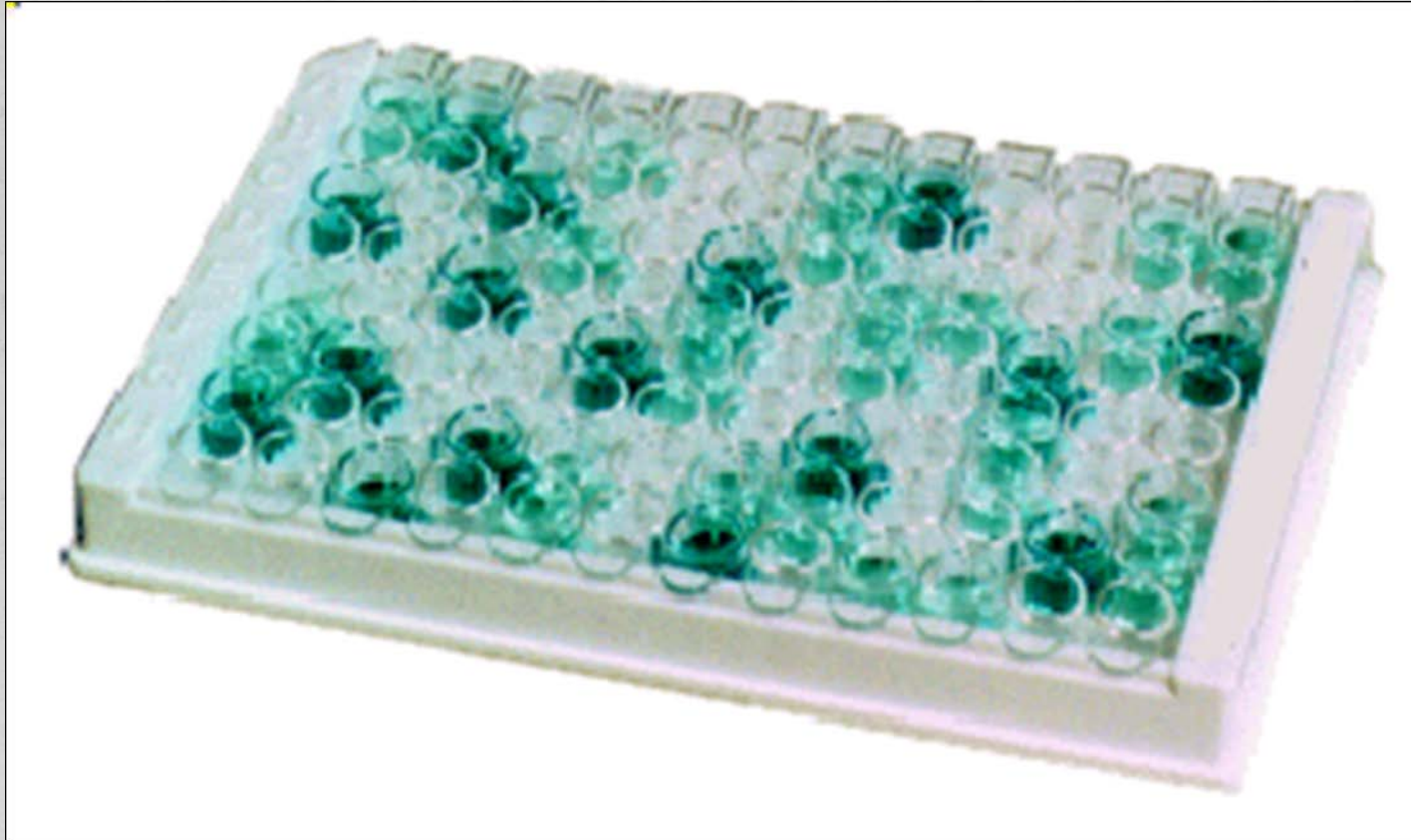
Makro i mikro RVK



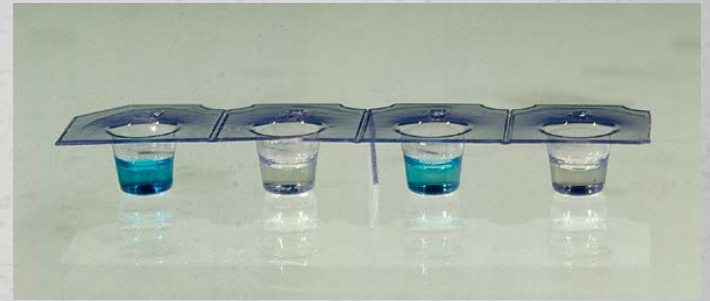
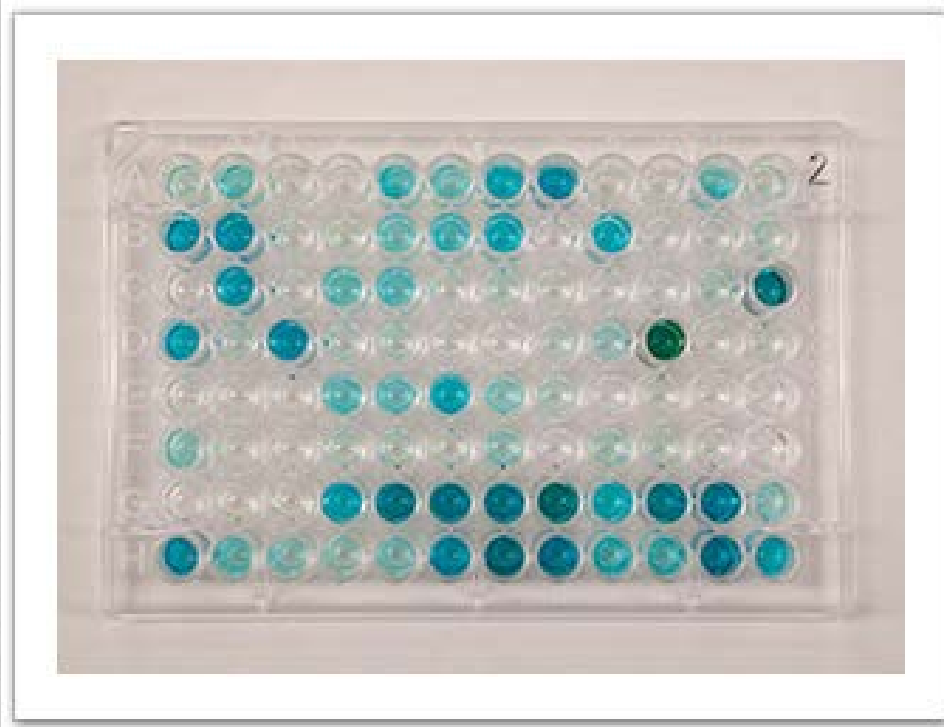
Indirektna ELISA

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







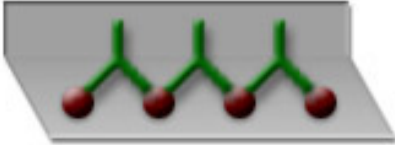


Indirektna ELISA



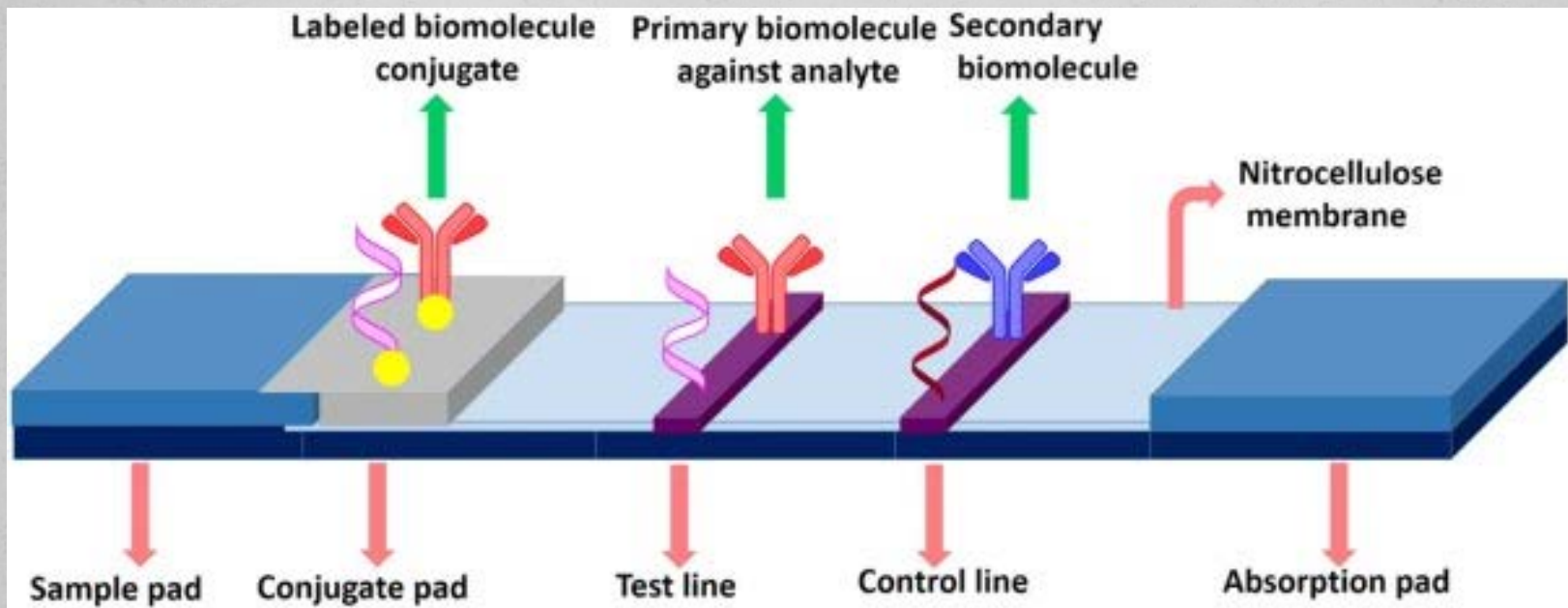
Indirektna ELISA



Kompetitivna ELISA

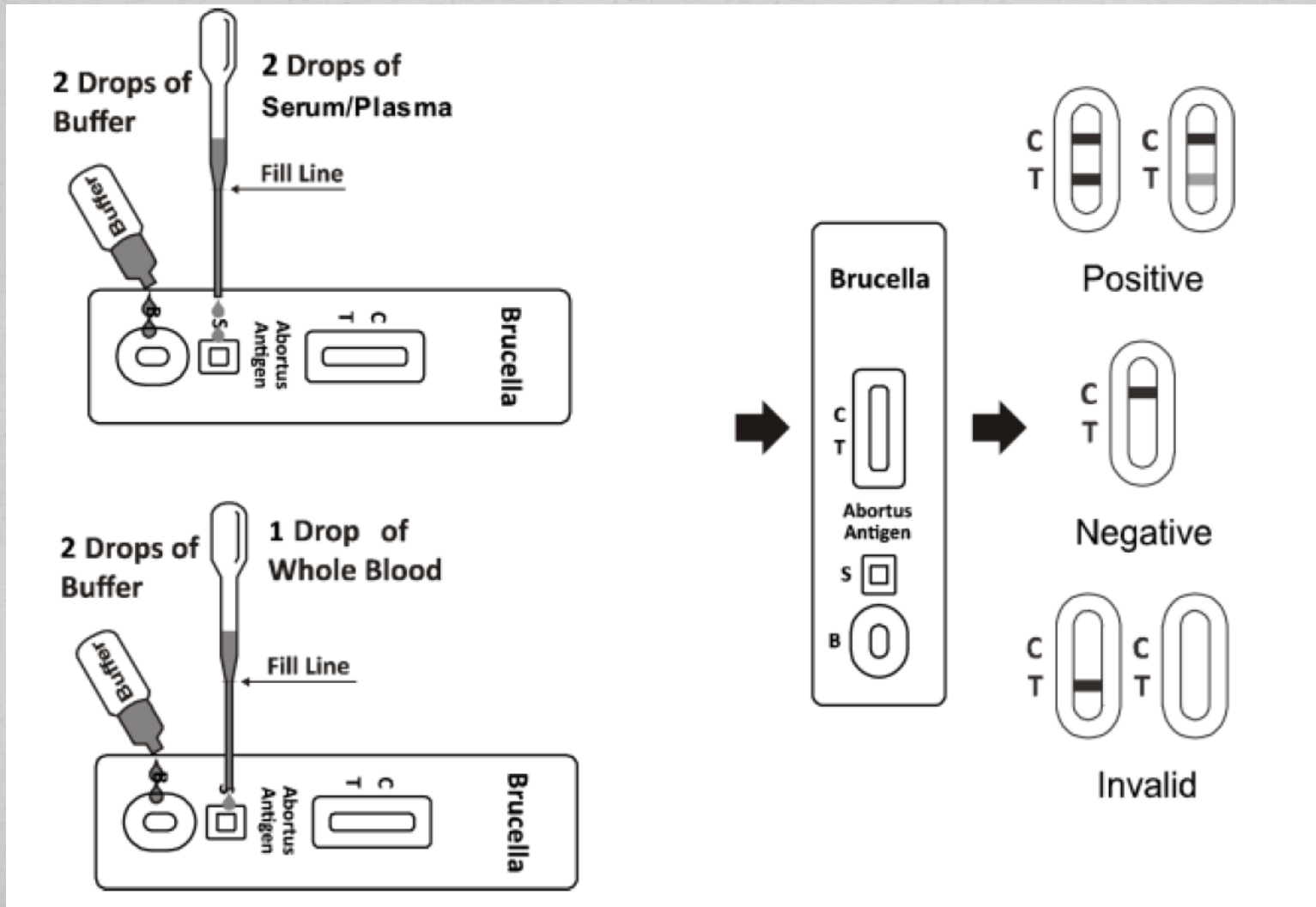
| | | |
|---|--|---|
| <p>KOMPETITIVNA ELISA ANTIGEN VEZAN U BAZENČIĆIMA ● + ISPITIVANI SERUM NAKON INKUBACIJE ISPIRANJE</p> | <p>POZITIVAN UZORAK PRISUTNA ANTITELA KOJA SE VEZUJU ZA ANTIGEN</p>  | <p>NEGATIVAN UZORAK NEMA ANTITELA</p>  |
| <p>DODAVANJE SPECIFIČNIH ANTITELA KONJUGOVANIH SA ENZIMOM NAKON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

Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antigena

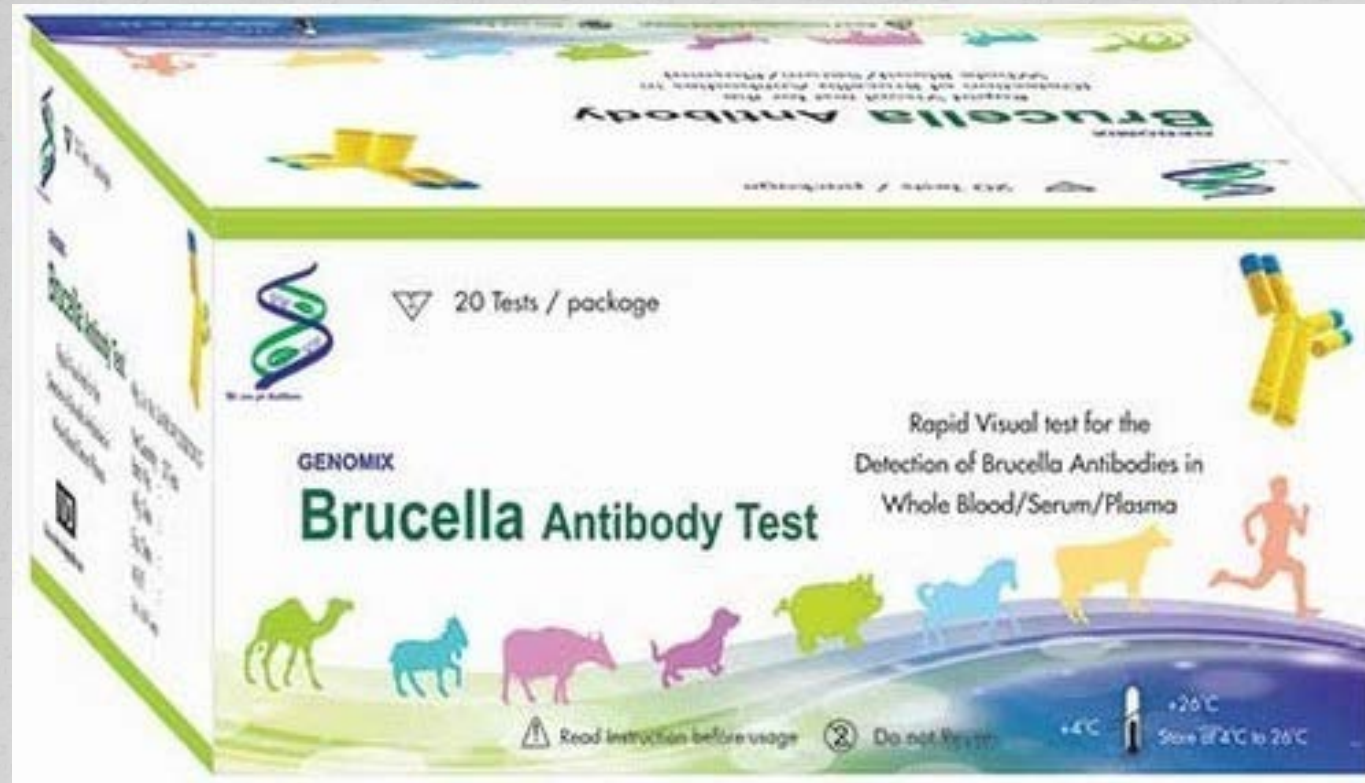


Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antigena

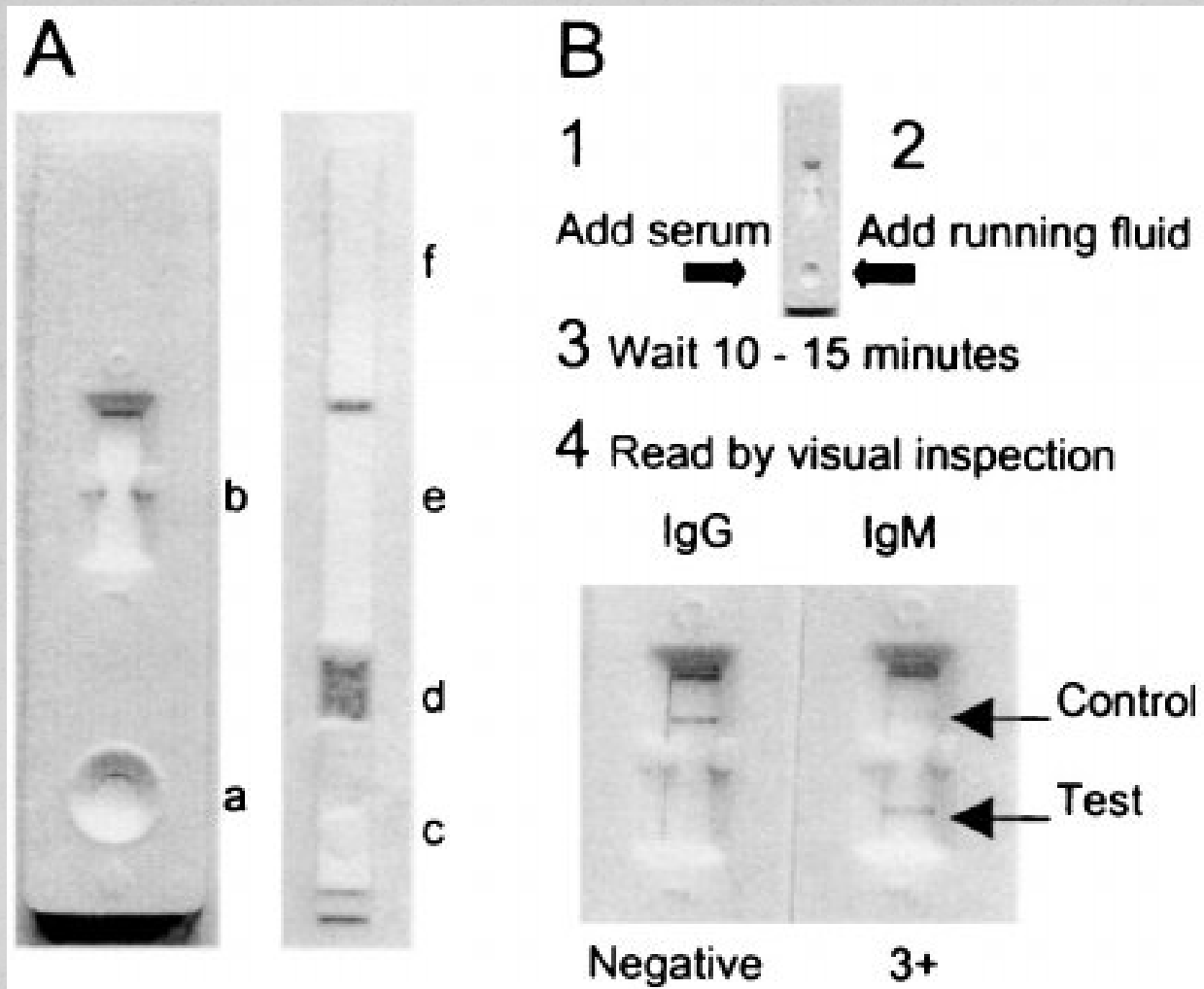
Sandwich lateral flow immunochromatographic assay



Rapid Antigen Test Kit– za detekciju antitela



Rapid Antigen Test Kit – za detekciju antitela



Rapid Antigen Test Kit – za detekciju antitela

