

ВСТУП: *Francisella tularensis* та методи детекції

Тренінг в рамках ПЗБЗ

Детекція *Francisella tularensis* методом ПЛР

Харків, 5 вересня 2018

Крістіан Ланге, лікар ветеринарної медицини, PhD

КОРОТКИЙ ЗМІСТ



- Захворювання, клінічні прояви та особливості збудника
- Методи детекції
- Виклики і стратегії детекції та нагляду

Туляремія у людей



- Виразково-бубонна (ульцерогландулярна) форма
- Бубонна (гландулярна) форма
- Легенева форма
- Оро-фарінгіальна форма
- Очно-бубонна форма
- Тифоподібна форма

Ульцерогландулярна та грандулярна туляремія



- Шкірна папула або виразка (виразково-бубонна)
- Збільшення регіонарних лімфатичних вузлів
- Інфіковані макрофаги
- Поширення на легені та мозок за відсутності лікування

Історичні відомості



- Ймовірно, в 1400 р. до н.е. на Близькому Сході
- У XVI ст. у Скандинавії
- У XVIII в Росії та Японії
- Вперше збудника виділили у 1911 р. Мак-Кой і Чапін в США
- Ідетнифікація підвидів у 1958 р. Олсуф'євим

Господарі та резервуари

- Люди не є первинними господарями *F. tularensis*
- *F. tularensis* має широкий діапазон господарів і може уражати > 100 видів тварин
- Членистоногі, у тому числі блохи, комарі та кліщі
- Основні резервуарні хазяї серед ссавців: мишовидні гризуни, зайці та кролі
- Також можуть бути заражені птахи, риба та деякі холонокровні тварини

F. tularensis у тварин



- Форми захворювання та симптоми у тварин дуже подібні з притаманними для людини
- (Великі) спалахи туларемії у тварин часто передують спалахам в популяції людей
- Нетривала персистенція в організмі бліх та комарів
- Тривала персистенція в організмі кліщів

Шляхи та механізми передачі



- Через укуси або жалення членистоногими
- Через резервуарних хазяїв під час мисливства або забою тварин
- Споживання зараженого м'яса
- Через забруднені об'єкти довкілля: при вдиханні пилу, вживанні води
- Шляхи інфікування обумовлюють симптоми захворювання
- Основні шляхи відрізняються в залежності від регіону

Francisella tularensis



- Грам-негативна
- Паличкоподібна бактерія
- Аеробна
- Не утворює спор
- Факультативно внутрішньоклітинна
- Цистеїнозалежна

Чому туляремія викликає занепокоєння?



- Може передаватися шляхом вдихання аерозолів
- Інвалідизація (тимчасово)
- Низька інфекційна доза (10-25 мікробних клітин)
- Відсутні вакцини (комерційні)
- Переважно нелетальна
- Не передається від людини до людини

Діагностика або детекція



- Клінічні симптоми у людей не дуже специфічні
- Анамнез повинен бути інформативним
- Виключення інших причин
- Діагностичне лікування

Методи детекції: культивування



- Золотий стандарт для детекції та визначення властивостей
- Забезпечує встановлення заключного діагнозу
- Потребує специфічних поживних середовищ
- Можливе зараження мишей (біопроба)

Зразки для посівів




- Вміст виразки (найкращий матеріал з точки зору чистоти)
- Кров
- Інший матеріал

Методи детекції: серологічні



- Визначення антитіл проти *F. tularensis* у хазяїна
- Аглютинація
- ІФА
- Вестерн-блот

Зразки для серологічних досліджень



- Кров / сироватка крові
- Антитіла присутні через 10-20 днів після інфікування

Методи детекції: виявлення антигену



- Пряме виявлення *F. tularensis*
- Зв'язує антитіла проти *F. tularensis*

- Слайд-аглютинація
- Імуногістохімія (ІГХ)
- ІФА з захватом

Зразки для визначення антигену



- Клінічні зразки
- Зразки культури для підтвердження

Методи детекції: ПЛР



- Класична ПЛР
- Кількісна ПЛР
- Кількісна ПЛР в режимі реального часу

Зразки для ПЛР



- Вміст виразки
- Кров
- Тканини
- Кліщі
- Ґрунт
- Вода

- Зразки культур

Подальше вивчення властивостей



- Чутливість до антибіотиків
- Визначення виду
- Особливості росту
- Біохімічні властивості (біотипування)
- Молекулярне біотипування
- Визначення штаму

Виклики- біобезпека



- Робота з *F. tularensis* є небезпечною через можливість аерозольної передачі та дуже низьку інфекційну дозу
- Первинні зразки та культура несуть найбільший ризик
- Необхідно вміти забезпечувати відповідне стримання
- Особисті потреби: бути навченими та обізнаними

Стратегії – спалахи



- Ідентифікація агенту, що спричиняє захворювання
- Виявлення джерела
- (Видова ідентифікація)
- Припинення подальшого поширення (усунути вплив)
- Оцінка забруднення (контамінації) навколишнього середовища
- (Знезараження)

Статегії - нагляд



- Звітування про випадки у людей (підозрювані та фактичні)
- Скринінг груп ризику (мисливці)
- Дослідження сприйнятливих видів тварин при їх незвичайній загибелі
- Скринінг тварин, ґрунту, води на територіях з високим ризиком
- Відлов та дослідження членістоногих - векторів (переносників)

Питання?

