

СОВРЕМЕННАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЁЗА

Набиева Ф.С.,

Турсунов Ф.У.

ассистенты кафедры клинической лабораторной диагностики Самаркандского государственного медицинского университета,

Рахмонов Х.С.

клинический ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики Самаркандского государственного медицинского университета

Аннотация: Бруцеллез (лихорадка мальтийская, средиземноморская, гибралтарская, кипрская, ундулирующая, тифомалярийная, болезнь Банга)-опасная, зоонозная инфекционная болезнь, вызываемая бактериями, объединенными под общим названием *Brucella*, с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму, характеризующейся системным поражением органов и систем с преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, нервной и урогенитальной систем.

Ключевые слова: бруцеллез, реакция Хеддльсона, реакции Кумбса, реакция Райта, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

Бруцеллез передается от животных людям посредством потребления инфицированных продуктов, прямого контакта с инфицированными животными или ингаляцией аэрозолей. Заболевание распространено повсеместно, особенно в Средиземноморском бассейне, Арабском заливе, Индийском субконтиненте, Мексике, Центральной и Южной Америке, Восточной Азии, Африке [1,3].

Возбудитель бруцеллеза относится к семейству *Brucellaceae*, роду *Brucella*, который включает в себя 10 самостоятельных видов, различающихся по биохимическим, метаболическим, антигенным и вирулентным характеристикам: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti*, *B. inopinata*. К патогенным для человека бруцеллам, способным вызывать заболевание, относятся: *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis* [8].

Человека инфицируют 8 видов (не инфицируют- *B. ovis*, *B. neotomae*). Наиболее патогенными являются *B. melitensis* (основные хозяева- козы и овцы), *B. abortus* (хозяева- крупный рогатый скот), *B. suis* (хозяева разных биотипов- свиньи, зайцы, северные олени), *B. canis* (хозяева- собаки) [2,4]. *B. abortus* вызывает более легкое течение заболевания, чаще развивается первично-хроническая форма, возможно развитие первично-латентной формы. С заражением *B. canis* и *B. melitensis* ассоциируется тяжелое течение, высокая

частота бактериемии, короткие периоды инкубации и выраженная клиническая картина [2,7].

Входными воротами инфекции являются микротравмы кожи и неповрежденные слизистые оболочки органов пищеварения и респираторного тракта [8,20]. Естественная восприимчивость к бруцеллезу высокая. Инфицирующая доза составляет всего 10- 100 микробных тел [9,13,16].

В патогенезе бруцеллезной инфекции выделяются три стадии. В первой стадии возбудитель проникает в организм хозяина в течение 2 дней после заражения. Во второй стадии патоген размножается в различных органах ретикуло-эндотелиальной системы от 2 дней до 3 недель, клинически соответствуя острому бруцеллезу. В 3-й стадии, известной как хронический бруцеллез, возбудитель формирует патологию различных органов в течение от 6 месяцев до 1 года и более [10,15,18]. Персистирование бруцелл происходит в тканях мононуклеарной фагоцитарной системы, включая костный мозг, лимфатические узлы, печень и селезенку. Бруцелла встречается в костях, суставах, мужских репродуктивных органах, инфицирует плаценту и плод [4,19].

После перенесенного бруцеллеза формируется недлительный иммунитет, с максимальной напряженностью 10-12 месяцев [4,9]. Организм остается восприимчивым к повторному заражению, причем при повторном попадании возбудителя возникают тяжелые аллергические процессы с органическими необратимыми поражениями паренхиматозных органов, соединительной ткани и нервной системы [12,15]. Повторные случаи наблюдаются у 2-7% пациентов.

Диагностика бруцеллеза проводится путем сбора эпидемиологического и клинического анамнеза, клинического осмотра, лабораторных и инструментальных методов обследования и направлена на определение нозологии и клинической формы, тяжести состояния, выявление осложнений и показаний к терапии.

Лабораторные диагностические исследования

Неспецифическая диагностика. Рекомендуется выполнить общий (клинический) анализ крови развернутый. В общем анализе крови у больных с бруцеллезом отмечаются анемия, лейкопения/лейкоцитоз, тромбоцитопения, панцитопения, ускорение СОЭ. Показатели общего анализа крови позволяют судить о тяжести заболевания. В большинстве случаев отмечаются небольшие отклонения, но при выраженной воспалительной реакции наблюдаются лейкоцитоз, ускорение СОЭ. Может развиваться вторичный гемофагоцитарный синдром (у детей чаще, чем у взрослых).

Биохимический анализ крови (АСТ, АЛТ, билирубин, С-реактивный белок, креатинин, мочевины крови). Биохимический анализ крови проводится для комплексной оценки степени тяжести бруцеллеза у детей, выявления

поражения органов и систем. При бруцеллезе могут наблюдаться отклонения острофазовых воспалительных реакций (СРБ), изменения активности ферментов печени (АСТ, АЛТ), в редких случаях - нарушение функции почек (повышение уровня креатинина, мочевины).

Специфическая диагностика. Заболевание бруцеллезом должно подтверждаться специфическими лабораторными тестами, которые включают группы методов: выявление возбудителя, растворимого антигена, ДНК; определение специфических антител; выявление сенсibilизации организма к бруцеллезным антигенам. Клиническим материалом, предназначенным для исследования на бруцеллез, являются кровь, костный мозг, спинномозговая жидкость, пунктат из лимфоузлов, моча, желчь, синовиальная жидкость, гной. Забор, транспортировку, хранение биологического материала, исследования по выделению из материала возбудителя или его генома проводятся в лабораториях особо опасных инфекций, имеющих лицензию на работу с возбудителями I-II групп патогенности.

Рекомендуется применять несколько методов обследования для подтверждения/исключения диагноза бруцеллез:

При проведении эпидемиологического обследования населения в очагах применяются реакция Хеддльсона, РА, РНГА, ИФА, непрямой иммунофлюоресцентный метод, кожно-аллергическая проба Бюрне;

- для диагностики острого и подострого бруцеллеза используются бактериологические исследования, ПЦР, серологические исследования (РА, РПГА, ИФА). В случаях отрицательного результата - реакция Кумбса.

- для диагностики хронического бруцеллеза и при проведении диспансерного наблюдения за переболевшими пациентами применяются реакция Кумбса, ИФА и аллергические тесты.

- при обследовании населения перед профилактической вакцинацией проводятся реакция Хеддльсона, РНГА или ИФА и аллeрготесты (кожно-аллергическая проба Бюрне или реакция лизиса лейкоцитов) [5,6].

Реакция агглютинации Хеддльсона (на стекле) используется в эндемичных районах для скрининга острых и подострых форм бруцеллеза. Реакция Хеддльсона проста в исполнении и обладает высокой чувствительностью. Является более чувствительной, чем реакция Райта, поскольку протекает в условиях контакта неразведенной сыворотки и антигена, и может выявлять специфические агглютинины, находящиеся в небольшой концентрации. Отрицательная реакция может выявляться у вновь инфицированных лиц, у пациентов с хроническим бруцеллезом (у которых уровень агглютининов достиг нулевого значения), у лиц с нарушенным иммунитетом.

Реакция агглютинации Райта (количественный анализ, основанный на агглютинации инактивированных бруцелл) должна быть выполнена одной из первых, так как обладает высокой чувствительностью. Серологические реакции оказываются положительными почти в 98% случаев. Высокие титры антител почти всегда указывают на наличие инфекции. Диагностическая ценность метода наиболее высока в ранние сроки от начала заболевания (в первые 6 месяцев). Преимущество реакций агглютинации заключается в простоте постановки реакции, быстром получении результатов и чувствительности реакции. При проведении реакции агглютинации Райта в эндемичных районах положительным считается разведение 160 и выше, а в эндемичных районах- 320. В реакции Райта 92% детей с острым бруцеллезом имеют титр 1:320 и более.

В использовании реакции Райта есть ограничения: неспособность диагностировать *V. canis* и возникновение перекрестных реакций с другими инфекционными заболеваниями. Положительную реакцию агглютинации с бруцеллезным антигеном могут давать сыворотки, содержащие антитела к микроорганизмам, имеющим общие антигенные детерминанты с бруцеллами (*Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*). Низкие титры антител или их полное отсутствие не исключают возможности заболевания.

Для мониторинга хронического бруцеллеза и диспансерного наблюдения за переболевшими реакция Райта не имеет диагностической ценности ввиду отсутствия сероконверсии после излечения в течение двух и более лет, что может быть связано с наличием блокирующих антител. У 29% детей в течение 2 лет после излечения сохраняются титры 1:320.

Для диагностики и мониторинга состояния пациентов необходимо определение титра агглютининов в динамике (четырёхкратный рост титра антител в РПГА, РА или любой количественный тест в парных сыворотках, взятых с интервалом 2 недели). По мере удлинения срока заболевания (особенно при хронической инфекции), когда процент положительных серологических реакций начинает падать, особое значение приобретает выявление неполных антител в реакции Кумбса.

ИФА является наиболее эффективным серологическим методом для диагностики и мониторинга всех форм бруцеллеза, диагностики рецидивов, оценки эффективности терапии, при эпидемиологическом обследовании населения, при отборе лиц для вакцинации. Метод ИФА является специфическим (95%) и чувствительным (98%). Позволяет определить отдельно титр IgG, IgA, IgM. Бруцеллезные IgM- антитела появляются в течение первой недели после заражения, сохраняются в остром периоде и снижаются в течение нескольких недель в подостром периоде. IgA и IgG-антитела увеличиваются в

течение второй недели после заражения, сохраняются длительно, повышаются при рецидивах. ИФА- диагностика наиболее информативна для острого бруцеллеза, в меньшей степени- для диагностики хронических форм и нейробруцеллеза [1,2].

Кожно-аллергическая проба Бюрне и реакция лизиса лейкоцитов проводятся для выявления повышенной сенсibilизации организма к бруцеллезному антигену. Являются строго специфичными. Проба Бюрне выявляется у больных 28 позднее, чем антитела, и сохраняется очень долго, иногда годами, после исчезновения клинических симптомов. Кожно-аллергическая реакция может быть положительной в случаях бессимптомной инфекции, у привитых живой бруцеллезной вакциной и у лиц, длительно контактировавших со специфическим антигеном.

Выделение чистой культуры бруцелл является «золотым стандартом» диагностики бруцеллеза и используется для подтверждения диагноза и контроля эффективности терапии. Материал следует забирать до начала и после завершения курса антибактериальной терапии, а также в период обострения у больных с хронической формой. Рекомендуется проводить посевы крови, пунктатов костного мозга и лимфатических узлов на специальную питательную среду для выделения L-форм бруцелл. Недостатком метода является длительный срок получения ответа (3-5 недель), поскольку бруцеллы относятся к медленно растущим микроорганизмам [11,17].

Молекулярная детекция ДНК бруцелл может быть признаком острого или хронического бруцеллеза, может быть обнаружена при бессимптомном течении. Метод ПЦР имеет преимущества перед методом изоляции культуры: легко и быстро выполним, исключает риск лабораторно приобретенного бруцеллеза. Обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Позволяет в течение 24 часов определить наличие специфической последовательности ДНК бруцелл и видовую принадлежность выделенных штаммов. Позволяет выявить 100- 1000 бактериальных клеток в пробе. Преимуществом метода ПЦР перед иммунологическими тестами является высокая специфичность ПЦР (отсутствуют перекрестные реакции с ДНК *E. coli*, *V. cholerae*, *F. tularensis*, *Y. enterocolitica* 0-9, *Y. pestis* EV, *S. typhimurium*). ПЦР в реальном времени (как и выделение культуры) имеет ограниченную ценность в диагностике пациентов с подозрением на хронический бруцеллез из-за возможного отсутствия бактериемии. Однако является ценным прогностическим инструментом для раннего обнаружения рецидива [3].

Количественный анализ ПЦР- быстрый и эффективный тест для диагностики и наблюдения за больными бруцеллезом. Обладает 100% специфичностью. Бактериальная нагрузка ДНК бруцелл до лечения составляет

1,9-2,1×10⁴ копий/мкл, на 4-й неделе лечения- 259 копий/мкл, через 6 недель- 14-38 копий/мкл, через 3 недели после лечения- отрицательная или до 36 копий/мкл. Средняя бактериальная нагрузка у пациентов с рецидивами- 2×10⁴ копий/мкл.

Неоптерин (маркер сохраняющейся активности клеточного иммунного ответа) повышается при бруцеллезе в результате постоянной миграции моноцитов/макрофагов в зону локального воспаления или место, где остаются жизнеспособными бруцеллы.

У больных хроническим бруцеллезом наблюдается снижение уровня CD4+ лимфоцитов и повышение уровня CD8+ лимфоцитов, дисбаланс Th1/Th2 в сторону Th2, что проявляется подавлением иммунного ответа и макрофагальной системы и ассоциируется с длительной персистенцией возбудителя. У больных острой формой бруцеллеза не отмечается значимых изменений в иммунограмме.

При нейробруцеллезе в ликворе наблюдается лимфоцитарный плеоцитоз, повышение уровня белка и снижение глюкозы.

REFERENCES:

1. Кулаков Ю. К. и др. Метод ПЦР в лабораторной диагностике бруцеллеза //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – №. 2. – С. 29-33.
2. Ермолаева И. А. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА //Редакционная коллегия. – 2022. – С. 54.
3. азылов В. Х. и др. Диагностика и лечение хронического бруцеллеза в реальной практике //Практическая медицина. – 2014. – №. 7 (83). – С. 75-79.
4. ШШ Бердиярова, НА Юсупова. Особенности иммунометаболических нарушений иммунологической реактивности при гематогенных остеомиелитах. Вестник науки и образования, 29-32.
5. Клинико-лабораторная диагностика внебольничных пневмоний у детей ШШ Бердиярова, НА Юсупова, ХИ Ширинов Вестник науки и образования, 80-83.
6. Ибрагимов Б.Ф., Ибрагимова Н.С. Роль гомоцистеина в патогенезе синдрома поликистозных яичников у женщин International scientific review, Boston, USA. January 22-23, 2020.
7. Душанова Г.А., Набиева Ф.С., Садинова М.Ж., Нурматова Д.М. Анализ взаимосвязей параметров иммунного гомеостаза с состоянием системы ПОЛ-АОС // Вестник науки и образования, 2021. № 2 (105). Часть 2.
8. BS Shukurullayevna, IL Kamolidinovna, KZ Nabijonovna. Differential diagnosis of alcoholic and viral hepatitis. World Bulletin of Public Health 21, 8-11.
9. Ибрагимова Н.С., Набиева Ф.С., Умарова С.С. Оценка значимости клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования при диагностике эхинококкоза // International scientific review, Boston, USA. December 22-23, 2019.

10. Umarova S.S., Nabiyeva F.S., Ibragimova N.S. Early diagnostics of echinococcosis in children // European research: innovation in science, education and technology. London, United Kingdom. January 9-10. C. 88-90, 2020.
11. Isomadinova L. K., Kudratova Z. E. Clinical and laboratory characteristics of vomiting in pregnant women in early pregnancy //Doctor's herald journal. – 2023. – T. 2. - C. 52-56.
12. Kudratova Z. E., & Shamsiddinova M. Sh. (2023). LABORATORY METHODS FOR DIAGNOSING UROGENITAL CHLAMYDIA. Open Access Repository, 10 (10), 5–7.
13. Kudratova Z. E. et al. CURRENT MODERN ETIOLOGY OF ANEMIA //Open Access Repository. – 2023. – T. 10. – №. 10. – C. 1-4.
14. [Clinical and laboratory characteristics of chronic osteomyelitis in children](#) BS Sh, AY Sh, NA Yusupova, NK Murtazaeva
15. Sabirovna I. N., Shekhrozovna B. F. DIAGNOSTIC CRITERIA AND TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS //Galaxy International Interdisciplinary Research Journal. – 2023. – T. 11. – №. 10. – C. 237-240.
16. Sabirovna I. N. et al. Dysfunctions of the Immune System and Their Role in the Development of Diseases //The Peerian Journal. – 2023. – T. 23. – C. 49-52.
17. Yusupova N., Firdavs O. Energy drinks. The composition of energy drinks and the effect on the body of their individual components //Thematics Journal of Microbiology. – 2022. – T. 6. – №. 1.
18. Tursunov Feruz O'Ktam O'G'Li, Raximova Gulchiroy Olim Qizi, Isroilova Umidaxon, Turayeva Shaxnoza ASSESSMENT OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID-19 // ReFocus. 2022. №4.
19. Burkhanova D. S., Tursunov F. O., Musayeva F. THYMOMEGALY AND THE STATE OF HEALTH OF CHILDREN IN THE FIRST YEAR OF LIFE //Galaxy International Interdisciplinary Research Journal. – 2023. – T. 11. – №. 10. – C. 62-64.
20. Feruz O'ktam o'gli T., Mengdobilovich M. N. ANALYSIS OF GLYCEMIA AND GLUCOSURIA IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID-19 //Open Access Repository. – 2023. – T. 4. – №. 2. – C. 177-181.