

ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗ

Μαρία Π. Τσιρώνη

Γ.Ν.ΣΠΑΡΤΗΣ

Παθολογική Κλινική

Διευθυντής : Γ. Ασημακόπουλος



David Bruce 1887

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ

A2 ΥΠΟΔΙΑΙΡΕΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

(ochrobactrum, rhizobium, rhodobacter, agrobacterium, bartonella, and rickettsia)

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΙΔΩΝ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ

6 διαφορετικά παθογόνα-4 ανθρωποζωνόσοι

- Gram αρνητικά κοκκοβακτηρίδια, μικρά, διαταγμένα κατά μονάς ή ζεύγη ή μικρά αθροίσματα
- Ακίνητα, χωρίς έλυτρο, χωρίς βλεφαρίδες
- Αερόβια, μη σπορογόνα
- Καταλάση+
- Νιτρικά +
- Ουρεάση+
- Οξειδάση+

Table 2. Nomenclature and Characteristics of *Brucella* Species.

Species	Biotype	Animal Hosts	First Described	Human Virulence ^a	Species Discrimination
<i>B. melitensis</i>	1–3	Goats, sheep, camels	Bruce, 1887	++++	Fuchsin, positive; thionine, positive; safranin inhibition, negative; H ₂ S production, negative; urease, positive in 24 hr; CO ₂ growth, negative; Tbilisi phage lysis, negative; Weybridge phage lysis, negative
<i>B. abortus</i>	1–6, 9	Cows, camels, yaks, buffalo	Bang, 1897	++ to +++	Fuchsin, positive (except biotype 2); thionine, negative (biotypes 1, 2, and 4); safranin inhibition, negative; H ₂ S production, positive (except biotype 5); urease, positive in 24 hr; CO ₂ growth, positive (biotypes 1–4); Tbilisi phage lysis, positive; Weybridge phage lysis, positive
<i>B. suis</i>	1–5	Pigs (biotypes 1–3), wild hares (biotype 2), caribou (biotype 4), reindeer (biotype 4), wild rodents (biotype 5)	Traum, 1914	+	Fuchsin, negative (except biotype 3); thionine, positive; safranin inhibition, positive; H ₂ S production, positive (biotype 1); urease, positive in 15 min; CO ₂ growth, negative; Tbilisi phage lysis, negative; Weybridge phage lysis, positive
<i>B. canis</i>	—	Canines	Carmichael and Bruner, 1968	+	Fuchsin, positive or negative; thionine, positive; safranin inhibition, negative; H ₂ S production, negative; urease, positive in 15 min; CO ₂ growth, negative; Tbilisi phage lysis, negative; Weybridge phage lysis, negative
<i>B. ovis</i>	—	Sheep	Van Drimmelen, 1953	–	Fuchsin, negative for some strains; safranin inhibition, negative; H ₂ S production, negative; urease, negative; CO ₂ growth, positive; Tbilisi phage lysis, negative; Weybridge phage lysis, negative
<i>B. neotomae</i>	—	Rodents	Stoenner and Lackman, 1957	–	Fuchsin, negative; safranin inhibition, negative; H ₂ S production, positive; urease, positive in 15 min; CO ₂ growth, negative; Tbilisi phage lysis, positive or negative; Weybridge phage lysis, positive
<i>B. pinnipediae</i> and <i>B. cetaceae</i> (provisional)	—	Minke whales, dolphins, porpoises (pinnipediae), seals (cetaceae)	Ewalt and Ross, 1994	+	Fuchsin, positive; thionine, positive; safranin inhibition, negative; H ₂ S production, negative; urease, positive; CO ₂ growth, negative for pinnipediae and positive for cetaceae; Tbilisi phage lysis, negative; Weybridge phage lysis, positive for pinnipediae and negative for cetaceae

^a Virulence is graded on a scale from no virulence (–) to the highest degree of virulence (++++).

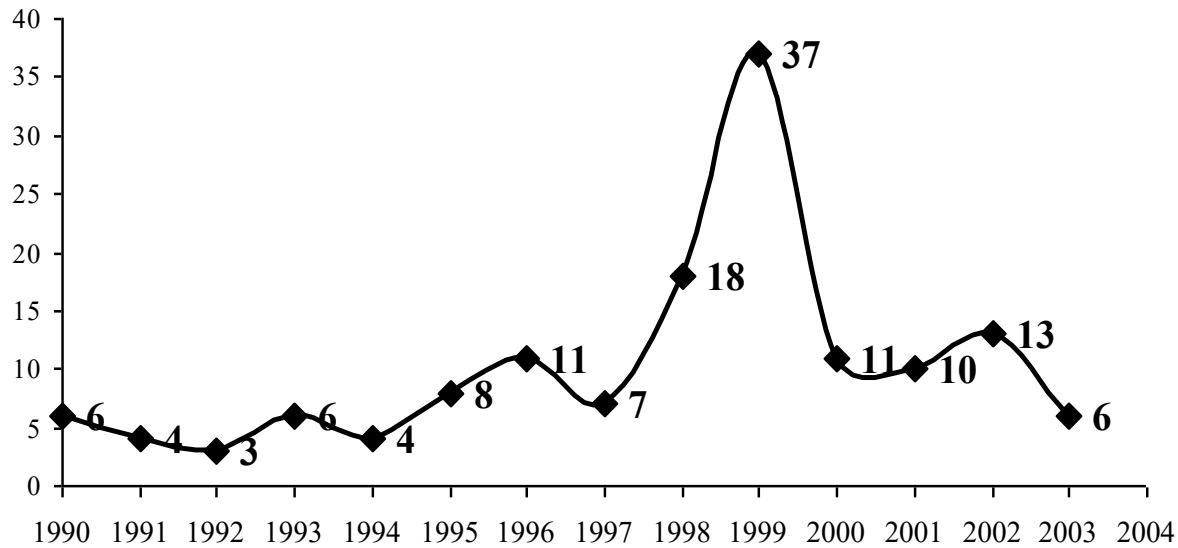
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Table 1. Annual Cases of Human Brucellosis in Various Countries, According to Year.*

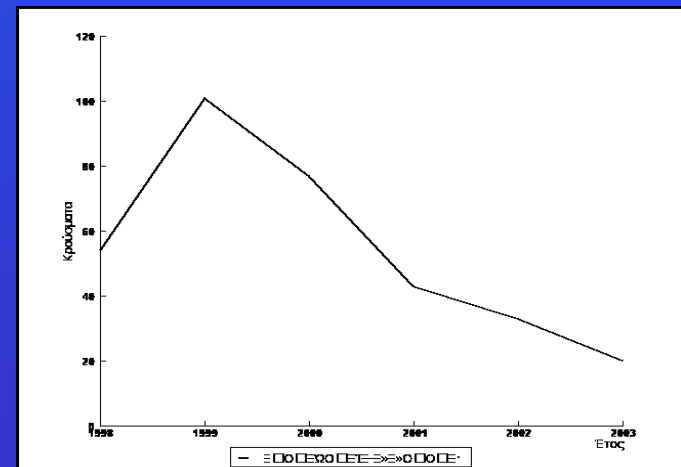
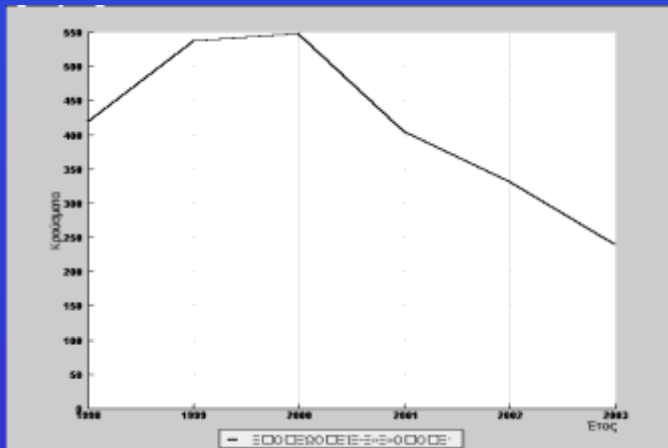
Country	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Albania	NA	155	376	458	220	NA	NA	NA
Algeria	4356	3,434	2,232	2,223	NA	3,200	NA	2,766
Argentina	NA	676	NA	353	507	NA	296	325
Australia	38	41	45	52	27	NA	40	17
Azerbaijan	NA	624	494	582	654	660	519	407
Bosnia-Herzegovina	NA	NA	NA	NA	NA	7	NA	48
Colombia	53	42	82	42	NA	27	NA	238
Germany	23	25	18	21	27	25	35	27
Greece	NA	254	435	543	545	405	327	222
Iran	NA	NA	NA	17,168	NA	NA	NA	17,765
Israel	235	151	197	163	131	70	56	56
Italy	1896	1,681	1,461	1,324	1,067	923	813	520
Jordan	957	NA	684	432	288	275	219	159
Kyrgyzstan	NA	NA	NA	973	1,219	1,819	1,771	NA
Lebanon	192	429	136	184	NA	NA	NA	NA
Mexico	3362	3,387	3,550	2,719	2,171	3,013	2,851	3,008
Peru	1691	NA	1,269	NA	1,072	372	991	NA
Portugal	866	1,409	816	683	500	381	206	139
Russia	656	461	NA	352	423	508	595	NA
Saudi Arabia	5997	15,933	5,781	NA	NA	NA	NA	NA
Spain	NA	878	1,520	1,519	1,104	887	886	596
Syria	NA	NA	NA	NA	6,487	4,500	NA	23,297
Tajikistan	257	NA	211	NA	851	752	1,071	1,471
Tunisia	490	291	206	355	NA	321	250	128
Turkey	9480	11,812	11,427	11,462	10,742	15,510	17,553	14,435
Turkmenistan	NA	496	NA	NA	264	246	NA	NA
United Kingdom	15	6	7	76	19	26	38	19
United States	112	98	79	82	87	136	125	93
Uzbekistan	707	459	494	480	NA	NA	408	NA

* Data are from the Office International des Epizooties and various national health ministries. These numbers are believed to be a massive underestimation of the true prevalence of the disease. NA denotes not available.

Figure 1. Cases per year



P. Andriopoulos, M.Tsironi , M. Perdiki, J.Tritakis. Acute Brucellosis in Lakonia Greece. A 14-year Review of Presentation, Diagnosis and Treatment. 11th ICID , March 2004,Mexico, υπό δημοσίευση



ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

- Επαγγελματική νόσος
(κτηνοτρόφοι, εργαζόμενοι σε σφαγεία, μικροβιολογικά εργαστήρια)
- Κατανάλωση μολυσμένων μη παστεριωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και κρέατος
- Άμεση επαφή με τραυματισμένο δέρμα, επιπεφυκότες, βλεννογόνους
- Εισπνοή μολυσμένου αερολύματος

Επιβίωση μικροβίου στο τυρί 2-3 μήνες

Επιβίωση μικροβίου στο υγρό έδαφος 40 ημέρες

Table 1. Patients with Acute Brucellosis.		
Demographic and Occupational Data		
	No	%
Children and Students	19 (11 M)	15%
Adults	125 (82 M)	85%
Patients Living in Rural Areas	82	57%
Patients Living in Urban Areas	62	43%
Farmers (M & F)	72	57%
People working in an office (M &F)	16	12,8%
Abattoir Workers (M)	3	2,4%
Animal breeders (M & F)	25	20%
Household Wives (F)	9	20%

P. Andriopoulos, M.Tsironi , M. Perdiki, J.Tritakis. Acute Brucellosis in Lakonia Greece. A 14-year Review of Presentation, Diagnosis and Treatment. 11th ICID , March 2004,Mexico, υπό δημοσίευση

Το όξινο περιβάλλον του στομάχου προσφέρει προστασία ,
ενώ η χρήση αντιόξινων ή H_2 αναστολέων αυξάνει την πιθανότητα
μόλυνσης.

Οι άρρενες προσβάλλονται συχνότερα
με αναλογία 5:2-5:3 σε ενδημικές περιοχές

Περίοδος επώασης:2-4 εβδομάδες(εως και 2-3 μήνες)

Οξεία νόσος

Υποξεία νόσος

Χρονία νόσος

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η βρουκέλλα

Δε φέρει κλασσικούς λοιμογόνους παράγοντες
π.χ. εξωτοξίνες-ενδοτοξίνες

Δείχνει μία τάση να διεισδύει στον άνθρωπο με
αναστολή του προγραμματισμένου κυτταρικού
θανάτου

Ο κύριος λοιμογόνος παράγοντας είναι ο λιποπολυσακχαρίτης του κυτταρικού τοιχώματος(LPS).

Φαίνεται ότι στελέχη με τραχύ (rough) LPS είναι λιγότερο λοιμογόνα για τον άνθρωπο, παρότι προσκολλώνται ευκολότερα στα κύτταρα

Τα στελέχη με λείο (smooth) LPS διεισδύουν ευκολότερα στα κύτταρα.

Μετά την είσοδο στον ανθρώπινο οργανισμό,
το μικρόβιο

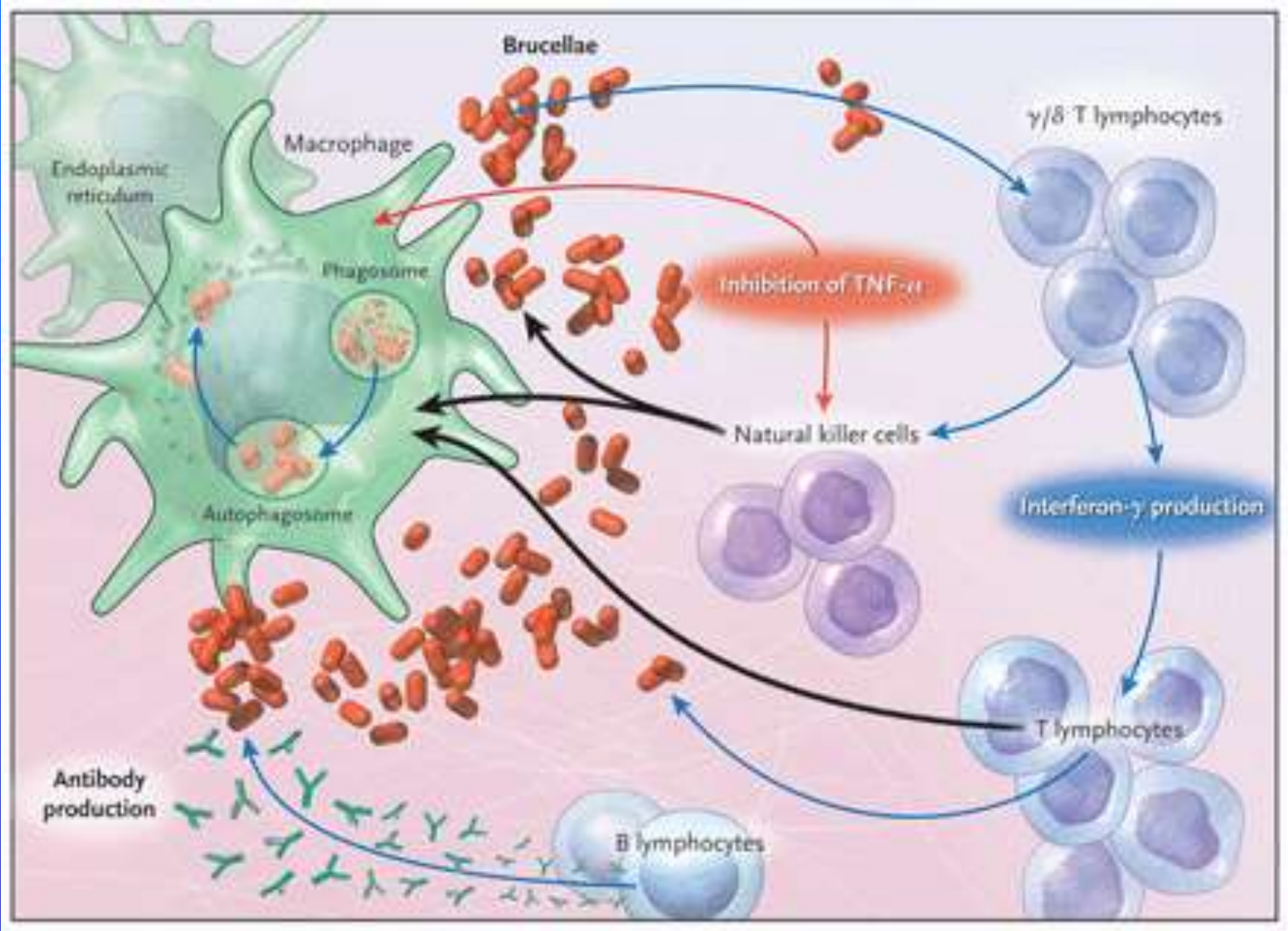
προσλαμβάνεται από τα κατά τόπους λεμφοκύτταρα,
μεταφέρεται από τους περιοχικούς λεμφαδένες στη
συστηματική κυκλοφορία

και διασπείρεται ,με τροπισμό για το ΔΕΣ
(ήπαρ,σπλήνας,μυελός)

Ο κύριος λοιμογόνος παράγοντας είναι ο λιποπολυσακχαρίτης του κυτταρικού τοιχώματος(LPS).

Φαίνεται ότι στελέχη με τραχύ (rough) LPS είναι λιγότερο λοιμογόνα για τον άνθρωπο, παρότι προσκολλώνται ευκολότερα στα κύτταρα

Τα στελέχη με λείο (smooth) LPS διεισδύουν ευκολότερα στα κύτταρα.



Η βρουκέλλα διεισδύει στον βλεννογόνο και τα φαγοκύτταρα φαγοκυτταρώνουν τον μικροοργανισμό.

Για την ενδοκυττάρωση χρειάζεται ενέργεια και οι αναστολείς του μεταβολισμού της ενέργειας και της ενδοκύττωσης μέσω υποδοχέων μπορούν να αναστείλουν αυτή τη λειτουργία.

Η βρουκέλλα έχει ένα σύστημα δύο στοιχείων, το **BvrS/BvrR**, που κωδικοποιεί ένα αισθητήρα της κινάσης της ιστοδίνης και ελέγχει την έκφραση των μοριακών στοιχείων που είναι υπεύθυνα για τη διείσδυση στο κύτταρο.

Μετά τη διείσδυση μόνο το 15-30% των μικροοργανισμών επιβιώνει της φαγολυσosomalικής δραστηριότητας,

με τη δημιουργία ενδοκυττάρων διαμερισμάτων «φιλοξενίας», με ιδιαίτερα όξινο περιβάλλον.

Η ενδοκυττάρια κίνηση της βρουκέλλας υπαγορεύεται από την επαγωγή ενός *virB* operon μέσω ενός εκκριτικού συστήματος τύπου IV

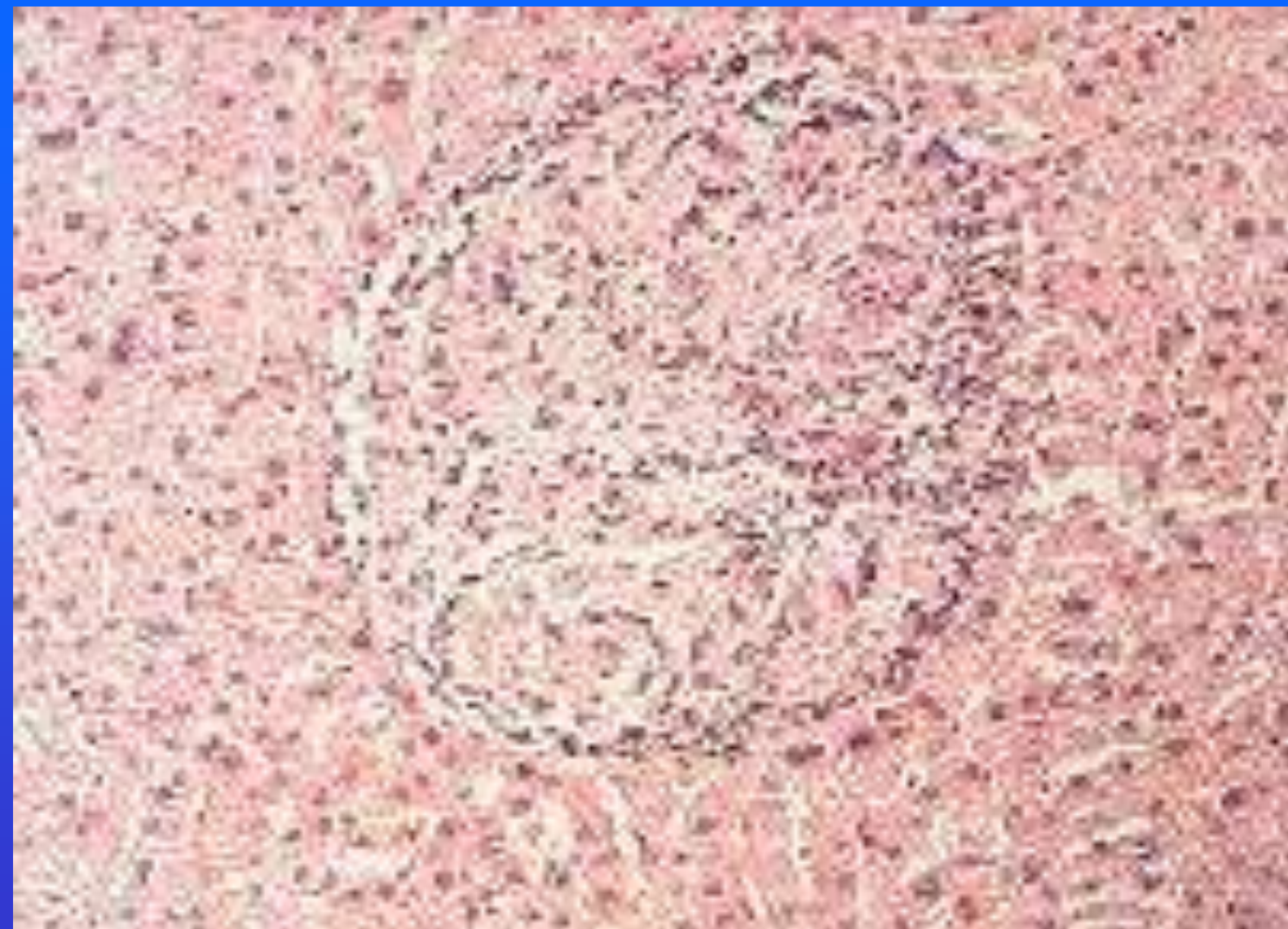
Η αναπαραγωγή γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο χωρίς να προσβάλλεται η ακεραιότητα του κυττάρου-ξενιστή.

Μετά την αναπαραγωγή
οι βρουκέλλες απελευθερώνονται με τη βοήθεια των
αιμολυσινών
και
προκαλούν κυτταρική νέκρωση.

Ο οργανισμός απαντά

με σχηματισμό κοκκιώματος

με λεμφοκύτταρα και επιθηλιοειδή γιγαντοκύτταρα



Η βρουκέλλα είναι ανθεκτική στην καταστροφή από τα πολυμορφοπύρρηνα, λόγω καταστολής

του συστήματος myeloperoxidase–hydrogen peroxide–halide system ,

της δισμουτάσης του χαλκού –υπεροξειδίου του ψευδαργύρου και

της παραγωγής αναστολέων της adenylyate monophosphate και της guanyl monophosphate.

Τα CD4 λεμφοκύτταρα έχουν περιορισμένο ρόλο,δρώντας

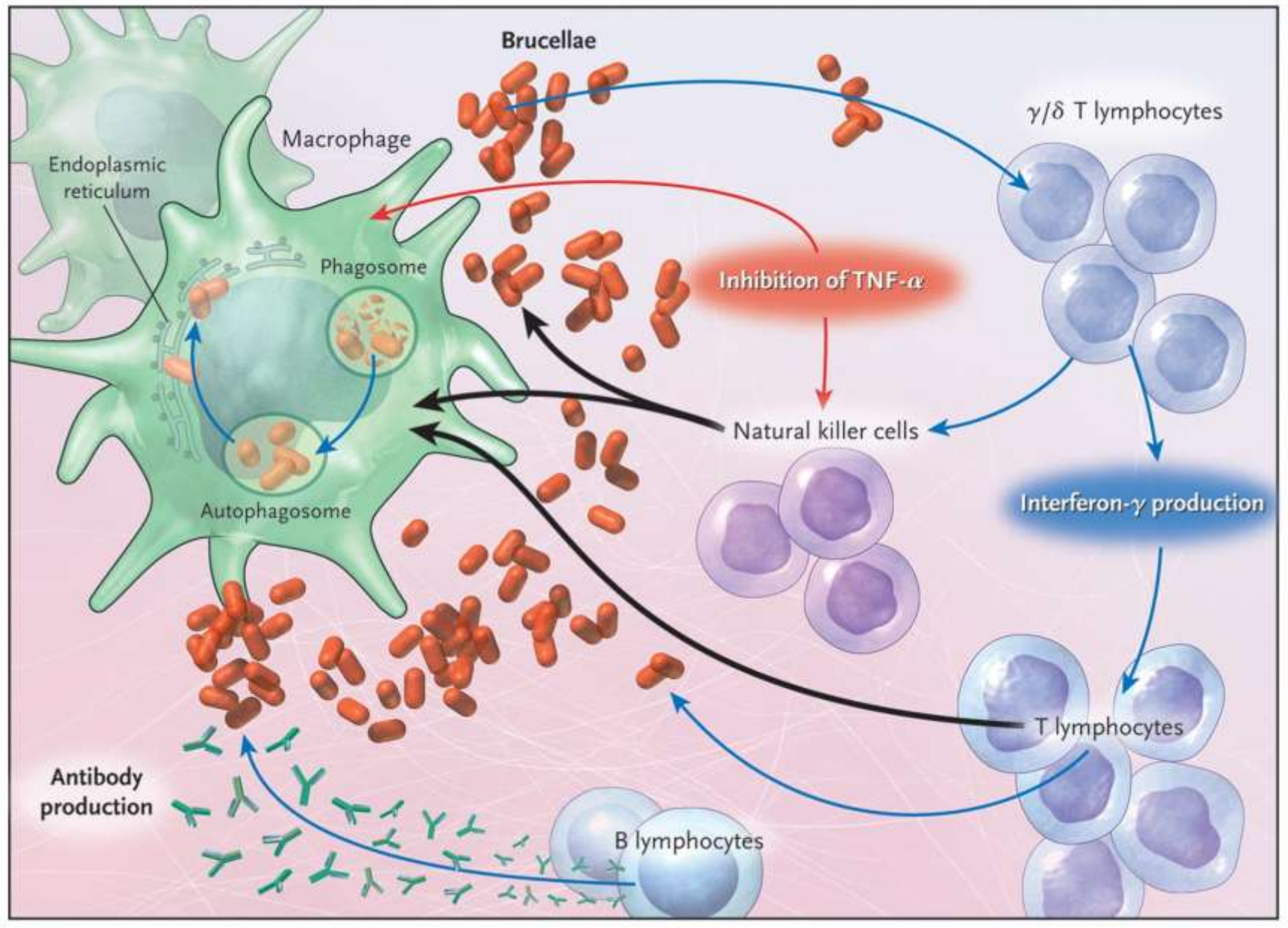
διευκολύνοντας την κλωνική έκπτυξη άλλων
κυτταρολυτικών κυττάρων(CD8) ή

επιρρεάζοντας την κυτταρολυτική δραστηριότητα.

Πιθανά τα T λεμφοκύτταρα έχουν ρόλο-κλειδί στην
άμυνα έναντι της βρουκέλλας.

1.Bertotto A, Gerli R, Spinozzi F, et al. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute Brucella melitensis infection. Eur J Immunol 1993;23:1177-1180.

2.Ottonnes F, Dornand J, Naroeni A, Liautard JP, Favero J. V gamma 9V delta 2 T cells impair intracellular multiplication of Brucella suis in autologous monocytes through soluble factor release and contact-dependent cytotoxic effect. J Immunol 2000;165:7133-7139.



Οι ανοσοσφαιρίνες τάξης M κατά των λιποπολυσακχαριτών εμφανίζονται κατά την πρώτη εβδομάδα της λοίμωξης και οι G ακολουθούν κατά τη δεύτερη εβδομάδα, με κορύφωση την 4^η εβδομάδα.

Η λήψη αντιβιοτικών μειώνει τους τίτλους των ανοσοσφαιρινών.

Ο τίτλος των M παραμένει υψηλότερος αυτού των G για διάστημα πλέον των 6 μηνών .

Η εμφάνιση ανοσοσφαιρινών A σε συνδυασμό με την παρουσία ανοσοσφαιρινών G για διάστημα πλέον των 6 μηνών συνηγορεί υπέρ χρονιότητας της λοίμωξης.

Η ιντερφερόνη γ

παίζει ρόλο κλειδί στην παθογένεια της βρουκέλλωσης.

Τα επίπεδα INF- γ είναι ιδιαίτερα αυξημένα στην βρουκέλλωση.

- Ενεργοποιεί τα μακροφάγα
- Επιρρεάζει την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και προϊόντων αζώτου
- Προάγει την απόπτωση, ευοδώνοντας την κυτταρική διαφοροποίηση και την παραγωγή κυτοκινών
- Αυξάνει την έκφραση των αντιγόνο-παρουσιαστικών μορίων

1. Yingst S, Hoover DL. T cell immunity to brucellosis. Crit Rev Microbiol 2003;29:313-331

2. Zhan Y, Cheers C. Endogenous gamma interferon mediates resistance to Brucella abortus infection. Infect Immun 1993;61:4899-4901.

SAA

Υψηλές τιμές SAA σε δείγματα ασθενών με οξεία βρουκέλλωση συσχετίστηκαν με εντοπισμένη λοίμωξη και αναιμία.

M. Tsironi, P. Andriopoulos, E. Hantzi, M. Kalkani, G. Assimakopoulos, I. Papassotiriou Serum amyloid A and brucellosis . 15th ECCMID, Copenhagen, 2-5 April 2005.

TNF-α και βρουκέλλωση

Αν και σε ζωικά μοντέλα φαίνεται ότι επάγεται η έκφραση του, Στον άνθρωπο η αναστολή της παραγωγής του TNF-α είναι ένα πρώιμο, κριτικό στάδιο της νόσου. Η αναστολή αυτή, πιθανά συνδέεται με τη διαταραγμένη ενεργοποίηση και κυτταροτοξική δραστηριότητα των NK κυττάρων.

Τα αποτελέσματα μελετών είναι αντικρουόμενα.

Σε άλλες μελέτες,

τα επίπεδα TNF-α είναι μη ανιχνεύσιμα κατά την οξεία λοίμωξη, ενώ σε κάποιες άλλες,

αυξάνονται σε γραμμική σχέση με την αύξηση της ιντερφερόνης γ και άλλων φλεγμονωδών δεικτών.

1. Demirdag K, Ozden M, Kalkan A, Godekmerdan A, Sirri Kilic S. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;39:149-153.

2. Ahmed K, Al-Matrouk KA, Martinez G, Oishi K, Rotimi VO, Nagatake T. Increased serum levels of interferon-gamma and interleukin-12 during human brucellosis. Am J Trop Med Hyg 1999;61:425-427

Η ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

–αν και εξαιρετικά χρήσιμη στη διάγνωση–

ΔΕΝ ΔΙΕΥΚΡΙΝΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Γενικά συμπτώματα και κλινικά ευρήματα

- ❖ Πυρετός (ΜΕΛΙΤΑΙΟΣ ΠΥΡΕΤΟΣ)
- ❖ Κεφαλαλγία
- ❖ Κακουχία
- ❖ Μυαλγίες
- ❖ Αρθραλγίες
- ❖ Δύσοσμη εφίδρωση
- ❖ Λεμφαδενοπάθεια
- ❖ Ηπατομεγαλία
- ❖ Σπληνομεγαλία
- ❖ Εξανθημα

Table 2. Clinical Manifestations		
	No. of patients	%
Symptoms		
Fever	144	100
Malaise	140	97.2
Sweats	138	95.8
Arthralgias	125	86.8
Low back pain	104	72.2
Headache	95	65.9
Findings		
Splenomegaly	74	51.3
Osteoarticular involvement	60	41.6
Hepatomegaly	36	25
Genitourinary involvement	12	13
Cholecystitis	3	2.08
Mammary Abscess	1	0.69
Acute abdomen	1	0.69
Cervical lymphadenitis	45	31.2

P. Andriopoulos, M.Tsironi , M. Perdiki, J.Tritakis. Acute Brucellosis in Lakonia Greece. A 14-year Review of Presentation, Diagnosis and Treatment. 11th ICID , March 2004,Mexico, υπό δημοσίευση

ΕΠΙΠΛΕΓΜΕΝΗ/ΕΝΤΟΠΙΣΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ

Οστά-Αρθρώσεις

- Περιφερική αρθρίτις ,μη διαβρωτική (γόνατα,πηχεοκαρπική,ισχία,ποδοκνημική)
- Ιερολαγονίτις
- Σπονδυλίτις (α/α- Pons sign-,σπινθηρογράφημα,MRI)

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ- HLA-B39??

Bravo MJ, Colmenero JD, Alonso A, Caballero A. HLA-B*39 allele confers susceptibility to osteoarticular complications in human brucellosis. J Rheumatol 2003;30:1051-1053.

Καρδιαγγειακό σύστημα

- Ενδοκαρδίτιδα(αορτική βαλβίδα)
- Μυοκαρδίτιδα
- Περικαρδίτιδα
- Πνευμονικά σηπτικά έμβολα

Αναπνευστικό σύστημα

- Πνευμονία
- Πνευμονίτιδα
- Πλευριτική συλλογή

Γαστρεντερικό σύστημα

- Ηπατίτις
- Αποστήματα ήπατος-κοκκιώματα
- Αλιθιασική χολοκυστίτις
- Ασκίτης-Περιτονίτις

Κ.Ν.Σ.(Νευροβρουκέλλωση 5-7%)

- Μηνιγγίτιδα
- Εγκεφαλίτιδα
- Μηνιγγοεγκεφαλίτιδα
- Αποστήματα
- Απομυελίνωση

Ουρογεννητικό σύστημα

- Ορχεοεπιδιδυμίτιδα
- Προστατίτιδα
- Πυελονεφρίτιδα
- Αυτόματες αποβολές

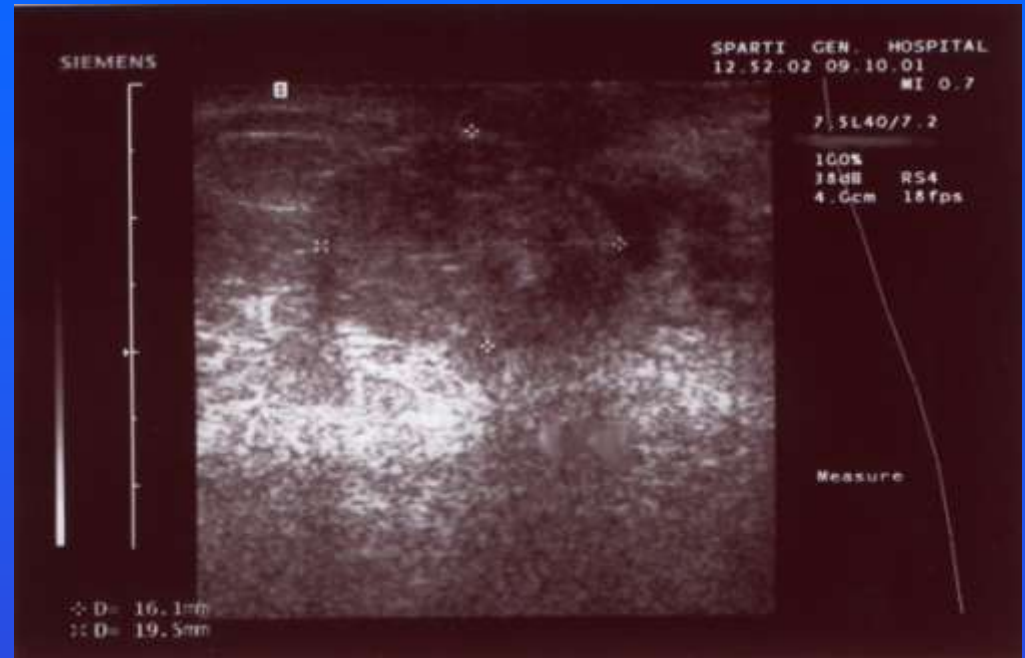
Αιμοποίηση

- Λευκοπτενία
- Σχετική λεμφοκυττάρωση
- Θρομβοπτενία
- Αναιμία
- ΠΑΝΚΥΤΤΟΠΕΝΙΑ
(Μυελική καταστολή, ΔΕΠ,
αιμοφαγοκυττάρωση, υπερσπληνισμός)

ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΣΒΛΗΘΕΙ ΚΑΘΕ ΙΣΤΟΣ

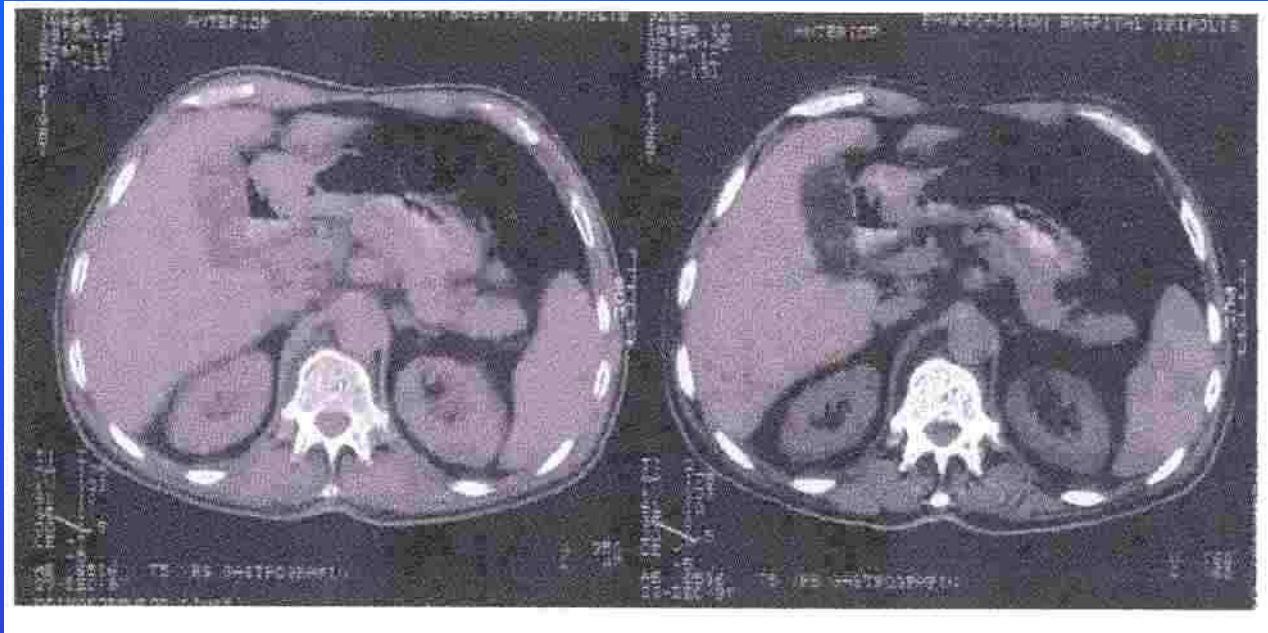
Complications of Brucella infection, involving various systems.

Table 3 Localized infection		
	No. of patients	%
Osteoarticular involvement	60	41.6
Spondylitis	41	28.4
Spondylitis with neurological impairment¹	3	2.08
Hip	12	8.3
Sacroiliitis	9	6.2
Knee	8	5.5
Shoulder	3	2.08
Wrist	3	2.08
Ankle	1	0.69
Sternoclavicular	1	0.69
Hematological complications	28	19.4
Normocytic anemia	24	16.6
Neutropenia	6	4.16
Thrombocytopenia	2	1.38
Genitourinary involvement	12	13
Epididymoorchitis	11	7.6
Prostatitis	1	0.69
Gastrointestinal involvement	15	10.4
Hepatitis	9	6.2
Cholecystitis	3	2.08
Diarrhea	2	1.38
Peritonitis	1	0.69



- **U/S showing thickening of the subcutaneous tissues and multiple abscess formations.**

Tsironi M, Andriopoulos P, Kalkani M, Asimakopoulos G. Human mammary abscess caused by Brucella melitensis: a case report. Int J Infect Dis. 2003 Sep;7(3):236.



Andriopoulos P, Tsironi M, Asimakopoulos G. Acute abdomen due to *Brucella melitensis*. *Scand J Infect Dis*. 2003;35(3):204-5.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Το μικρόβιο απομονώνεται
στο αίμα ,στον μυελό των οστών ,σε άλλα υγρά του
οργανισμού και σε βιοψίες ιστών.

Τα δείγματα πρέπει να μεταφέρονται άμεσα στο
εργαστήριο ή να φυλάσσονται στους 4° C.

Το εργαστήριο πρέπει να ενημερώνεται για την πιθανότητα
βρουκέλλωσης

- Για λόγους ασφαλείας
- Και ανάγκη χρήσης ειδικών υλικών και συνθηκών

- Χρώση Gram

- Αχνά βαμμένα μικρά κοκκοβακτηρίδια ως «λεπτοί κόκκοι άμμου»

- Δοκιμασία οξειδάσης θετική

- Δοκιμασία καταλάσης θετική

- (ΠΡΟΣΟΧΗ :ΔΗΜΙΟΥΡΓΕΙ ΑΕΡΟΛΥΜΑ)

- Ταυτοποίηση με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά



Gram stain of *Brucella*

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Θετικές σε συχνότητα 15-80%

Η καλλιέργεια του μυελού είναι η πλέον ευαίσθητη καλλιέργεια

Διφασικά υλικά (υγρής-στερεής φάσης)

Φιάλες Castaneda (7^η- 21^η ημέρα)

Η επώαση γίνεται στους 35 ° C για 4-6 εβδομάδες

Ατμόσφαιρα CO₂ (Br. Abortus)

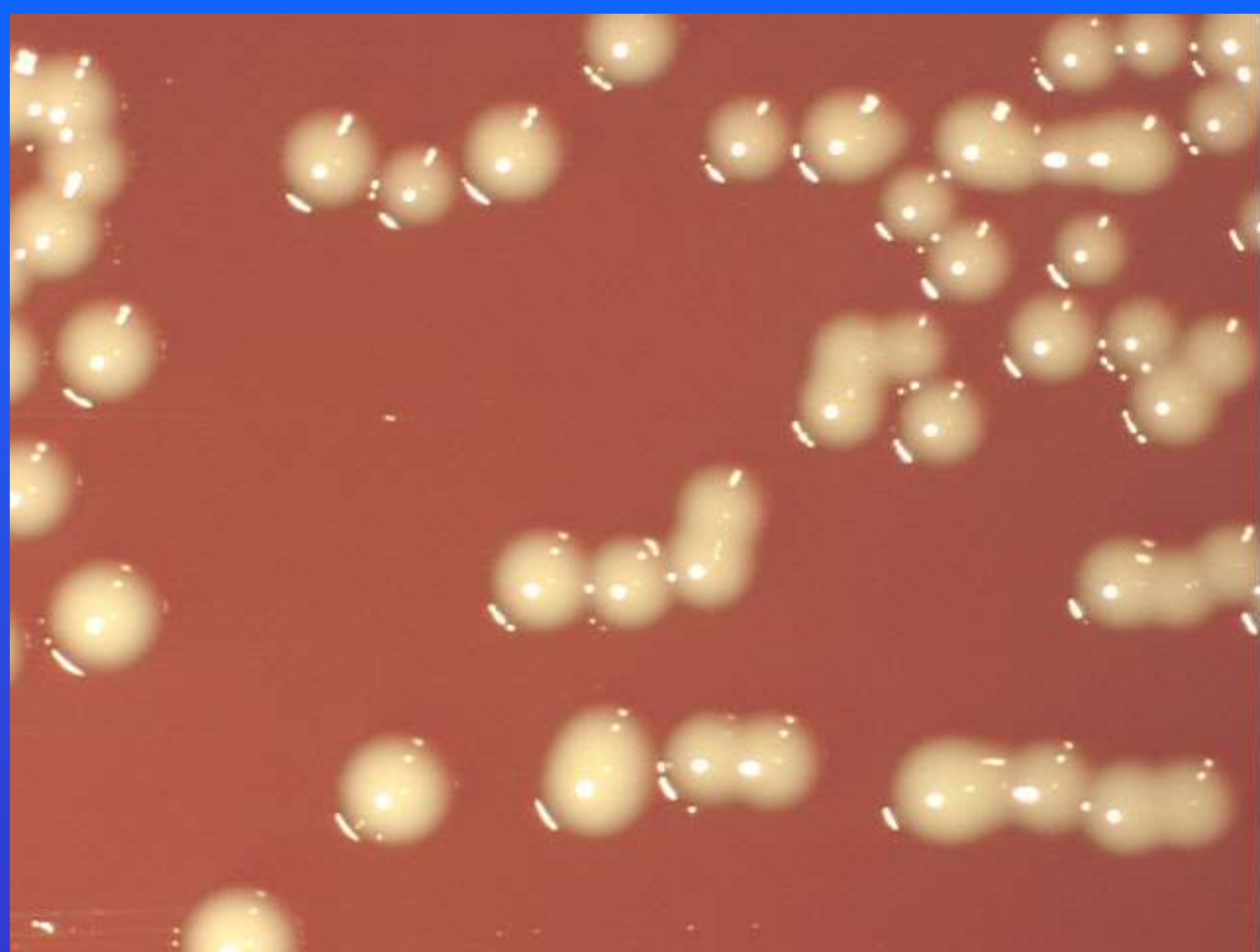
Τυφλές ανακαλλιέργειες σε αιματούχο ή σοκολατόχρωο άγαρ.

Αυτόματα συστήματα αιμοκαλλιεργείων-3 ημέρες

(BacT/Alert, BACTEC 9000 series, Vital, ESP)

1. Fokas S., Fokas S., Kalkani M., Tsironi M., Koutsoumpou S., Dionissopoulou M. Detection of Brucella melitensis by Vital System. Brucellosis 2003 .International Research Conference, Spain.

Bannatyne RM, Jackson MC, Memish Z. Rapid diagnosis of Brucella bacteremia by using the BACTEC 9240 system. J Clin Microbiol 1997;35:2673-2674



Πίνακας 19-1. Χαρακτήρες για τή διάκριση τῶν βρουκελλῶν

	Ἀνάπτυξη παρουσία		Παραγωγή H ₂ S	Ἀτμόσφαι- ρα CO ₂
	Θειονίνης (1:25.000)	Βασικῆς φουξίνης (1:50.000)		
<i>B. abortus</i>	-	+	++	+
<i>B. melitensis</i>	-	+	-	-
<i>B. suis</i>	+	-	+	-
<i>B. canis</i>	+	-	-	-

ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ

- Tube agglutination test-Wright
- Rose-Bengal
- Anti-Brucella Coombs test
- ELISA

Συγκολλητινοαντίδραση Wright (serum agglutination test ,SAT)

Br. Abortus strain 119.

Ανιχνεύονται αντισώματα IgG ΚΑΙ IgM(οχι Br. Canis).

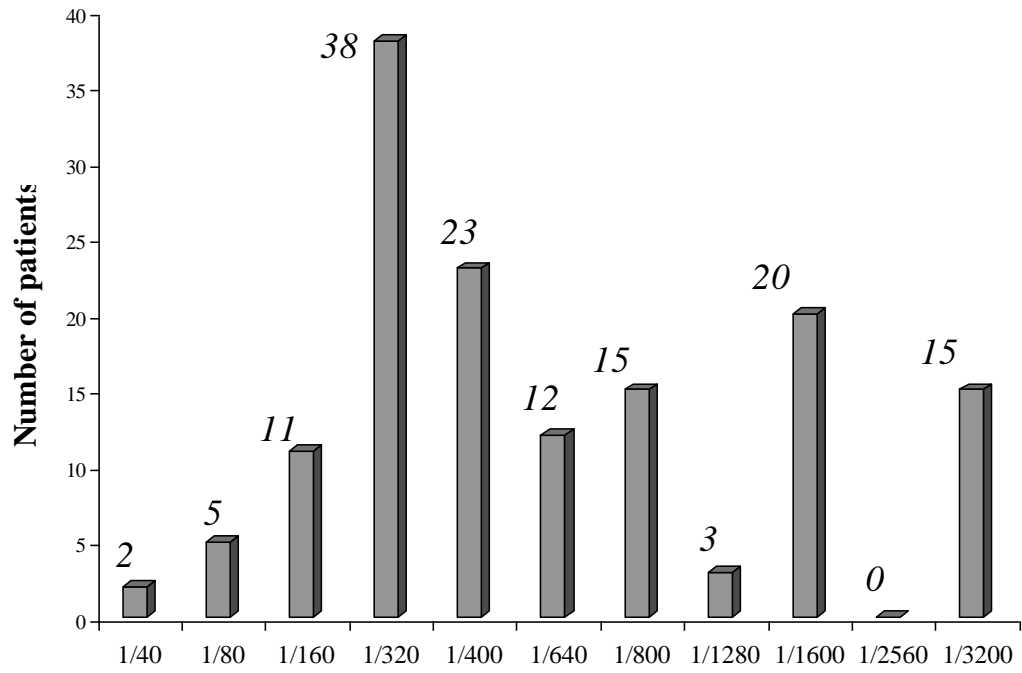
Μετρά IgG ,IgM αντισώματα

Η προσθήκη 2-μερκαπτοαιθανόλης διασπά τα IgM
και μετρώνται μόνο τα IgG.

Τίτλος $>1/160$ θεωρείται διαγνωστικός ,
αν συνυπάρχει και κλινική εικόνα

Σε ενδημικές περιοχές ο τίτλος 1/320 θεωρείται πιο ειδικός

Figure 2. STA Titers



ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

- Δεν ανιχνεύεται Br. Canis

- Διασταυρούμενη αντίδραση με τις ανοσοφαιρίνες Μ των : *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O116 και O157, *Salmonella urbana*, *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholerae*, *Xanthomonas maltophilia*, *Afipia clevelandensis*

- Μη ανίχνευση ορομετατροπής λόγω
Πρώιμης εξέτασης
Φαινόμενου προζώνης

- Οι συγκολλητινοαντιδράσεις δεν είναι κατάλληλες για την παρακολούθηση των ασθενών, αφού οι τίτλοι παραμένουν υψηλοί επί μακρόν.

Al Dahouk S, Tomaso H, Nockler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis -- a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. Clin Lab 2003;49:577-589.

Μέθοδοι Elisa

Οι τεχνικές ELISA χρησιμοποιούν κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες ως αντιγόνα.

Μετρούν ανοσοσφαιρίνες M, G, A

Η μέθοδος έχει υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα από την Wright, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις νευροβρουκέλλωσης

Almuneef M, Memish ZA. Prevalence of Brucella antibodies after acute brucellosis. J Chemother 2003;15:148-151

Araj GF, Lulu AR, Khateeb MI, Saadah MA, Shakir RA. ELISA versus routine tests in the diagnosis of patients with systemic and neurobrucellosis. APMIS 1988;96:171-176

PCR

Είναι ταχεία μέθοδος

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε ιστός

Δίνει αποτελέσματα εντός 10 ημερών από τη μόλυνση

Αναπτύχθηκε το 1990 και ως στόχοι χρησιμοποιούνται δύο αλληλουχίες

- 16S rRNA gene sequence (genus-specific homology)
- *BCSP31* gene (πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης της *Br. Abortus*)

Φαίνεται ότι το 16S rRNA έχει υψηλότερη ευαισθησία

Navarro E, Escribano J, Fernandez J, Solera J. Comparison of three different PCR methods for detection of *Brucella* spp in human blood samples. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002;34:147-151

■ Real-time PCR (30 minutes).

Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Baeza G, Morata P. Comparison between LightCycler Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) assay with serum and PCR-enzyme-linked immunosorbent assay with whole blood samples for the diagnosis of human brucellosis. *Clin Infect Dis* 2005;40:260-264.

■ PCR ELISA

■ multiplex PCR (brucellosis, Q fever, plague, anthrax)

McDonald R, Cao T, Borschel R. Multiplexing for the detection of multiple biowarfare agents shows promise in the field. *Mil Med* 2001;166:237-239.

Αν και η μέθοδος είναι πολλά υποσχόμενη,
θα πρέπει
να ελεγχθούν οι μέθοδοι και
να συσχετίζονται αποτελέσματα -κλινική εικόνα

Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4:115-123.

ΥΠΟΤΡΟΠΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Συχνότητα 10% στον πρώτο χρόνο

ΑΙΤΙΕΣ

1. Ανεπαρκής θεραπεία

2. Συσχέτιση με τα χαρακτηριστικά της αρχικής λοίμωξης:

- Διάρκεια συμπτωμάτων πριν την αγωγή μικρότερη των 10 ημερών
- Άρρεν φύλο
- Βακτηραιμία θρομβοκυττοπενία

Ariza J, Corredoira J, Pallares R, et al. Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. Clin Infect Dis 1995;20:1241-1249.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΣΤΟΧΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

Διείσδυση στα μακροφάγα

Δράση στο όξινο ενδοκυττάριο περιβάλλον

ΟΧΙ ΜΟΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΓΩΓΗΣ > 8 ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ

Table 4. Antibiotics Used in the Treatment of Brucellosis in Humans.

Antibiotic	Minimum Inhibitory Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Dose	Combinations
Doxycycline	0.06–1	100 mg twice daily for 6 wk	Doxycycline combined with streptomycin, with rifampin, with gentamicin, or with ciprofloxacin; doxycycline and streptomycin combined with rifampin or trimethoprim–sulfamethoxazole; doxycycline combined with rifampin and trimethoprim–sulfamethoxazole
Streptomycin	0.25–16	15 mg/kg of body weight intramuscularly for 2–3 wk	Streptomycin and doxycycline; streptomycin and doxycycline combined with rifampin or trimethoprim–sulfamethoxazole
Rifampin	0.1–2	600–1200 mg/day for 6 wk	Rifampin and doxycycline; rifampin and doxycycline combined with streptomycin or trimethoprim–sulfamethoxazole; rifampin and ofloxacin; rifampin and ciprofloxacin
Gentamicin	0.25–2	5 mg/kg/day in 3 divided intravenous doses for 5–7 days	Gentamicin and doxycycline
Trimethoprim–sulfamethoxazole	0.38–8	960 mg twice daily for 6 wk	Trimethoprim–sulfamethoxazole combined with doxycycline, with rifampin, or with streptomycin; trimethoprim–sulfamethoxazole and doxycycline combined with streptomycin or with rifampin
Ofloxacin	0.1–2	400 mg twice daily for 6 wk	Ofloxacin and rifampin
Ciprofloxacin	0.25–1	500 mg twice daily for 6 wk	Ciprofloxacin with doxycycline or rifampin

ΟΔΗΓΙΕΣ Π.Ο.Υ.(1986)

1. Δοξυκυκλίνη (6 εβδομάδες) +στρεπτομυκίνη (2-3 εβδομάδες)
2. Δοξυκυκλίνη (6 εβδομάδες) +ριφαμπικίνη (6 εβδομάδες)

Με το σχήμα Δοξυκυκλίνη (6 εβδομάδες) +στρεπτομυκίνη (2-3 εβδομάδες), η συχνότητα υποτροπών είναι μικρότερη

Solera J, Martinez-Alfaro E, Saez L. Meta-analysis of the efficacy of rifampicin and doxycycline in the treatment of human brucellosis. Med Clin (Barc) 1994;102:731-738.

ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΤΗ ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΔΟΞΥΚΥΚΛΙΝΗΣ

Η χορήγηση ριφαμπικίνης σε ενδημικές περιοχές ενέχει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικών μυκοβακτηριδίων

Ασθενείς > 14 ετών

1gr streptomycin IM για 21 ημέρες ΚΑΙ
200 mg doxycycline για 8 εβδομάδες.

Ασθενείς < 14 ετών

Rifampicin ΚΑΙ co-trimoxazole για 6 εβδομάδες

ΥΠΟΤΡΟΠΗ (2.77%) :

ΜΗ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

(φωτοευαισθησία-διάρκεια αγωγής)

1. Andriopoulos P, Masouridi S., Kalkani M., Rigas S., Assimakopoulos G., Tsironi M. Treatment of acute tuberculosis. A review of 143 hospitalized patients . 5th European congress of chemotherapy and infection. 17-20 October 2003, Rhodes, Greece.

ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΑΓΩΓΕΣ

- Άλλες αμινογλυκοσίδες(γενταμικίνη-νετιλμικίνη)
- Trimethoprim–sulfamethoxazole :σε τριπλά σχήματα
- Κινολόνες(σιπροφλοξασίνη-οφλοξασίνη).
Ως μονοθεραπεία έχουν συχνότητα υποτροπής 21%

ΕΠΙΠΛΕΓΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ

- ❖ Νευροβρουκέλλωση :τριπλό σχήμα,8-12 εβδομάδες
- ❖ Σπονδυλίτιδα:Διάρκεια αγωγής 3 μήνες
- ❖ Εγκυμοσύνη: ριφαμπικίνη
- ❖ Παιδιά <8 ετών: ριφαμπικίνη,τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη, αμινογλυκοσίδες

ΕΜΒΟΛΙΑ

- *B. abortus* strain 19 (Soviet Union)
- strains *B. abortus* 104M (China)
- *B. melitensis* strain M15 (France)

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

- ✓ rfbK μεταλλάξεις της *B. melitensis*
- ✓ πρωτεΐνη 25 της εξωτερικής μεμβράνης
- ✓ κυτταροπλασματική πρωτεΐνη BP26



Brucella abortus