

**Полтавський державний
медичний університет**

Лекція на тему:

Збудник туберкульозу

Наукова класифікація :

- ▶ Царство: *Бактерії*
- ▶ Тип: *Actinobacteria*
- ▶ Клас: *Actinobacteria*
- ▶ Порядок: *Actinomycetales*
- ▶ Родина: *Mycobacteriaceae*
- ▶ Рід: *Mycobacterium*
- ▶ Вид: *Mycobacterium tuberculosis*
Mycobacterium bovis

Патогенні для людини мікобактерії та їх властивості.

Вид	Резервуар	Патогенність для людини	Основні ураження	Можливість передачі від людини до людини
M.tuberculosis	Людина	+++	Туберкульоз	Так
M. bovis	Тварини	+++	Туберкульоз	Рідко
M. kansasii	ООС	+	Туберкульозо-подібне ураження	Дуже рідко
M.scrofulaceum	ООС	+	Лімфаденіти	Ні
M. avium	ООС,птахи	+	Туберкульозо-подібне ураження	Ні
M. fortuitum	ООС	+	Шкірні абсцеси	Ні
M. marinum	Вода,риби	+ -	Шкірні гранульоми	Ні
M. ulcerans	ООС	+ -	Шкірні виразки	Ні
M. leprae	Людина	+++	Проказа	Так



Р. Кох

У 1882 р. німецький вчений
Р. Кох надав вичерпні докази
інфекційної природи туберку-
льозу.

Термін “***туберкульоз***” (від
лат.tuberculum –бугорок) ввів
Лаеннек.

У минулому були розповсюджені
такі назви, як “сухота” (від слова
“чахнути”), “фтиза” (від
греч.phthisis - виснаження.)



Щорічно 24 березня проводиться Всесвітній день боротьби з туберкульозом. Саме 24 березня 1882 року Роберт Кох оголосив про відкриття збудника, що дало можливість вивчати паличку далі й знаходити способи боротьби з нею.

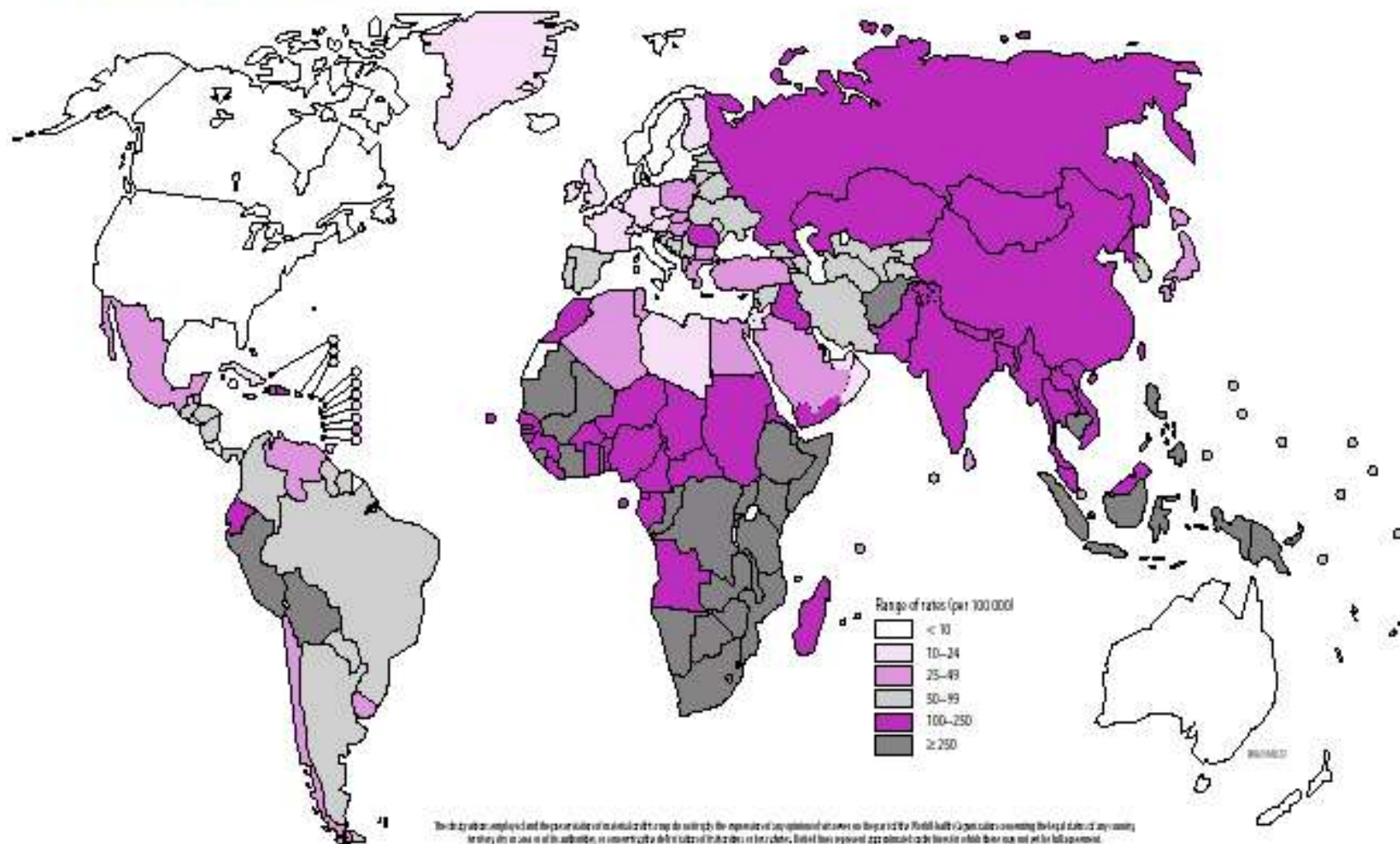
За даними ВООЗ, 2 млрд. людей (третина населення Землі) інфіковано.

На разі туберкульозом щорічно захворюють 9 млн. людей у світі, з них 3 млн. вмирають від його ускладнень.

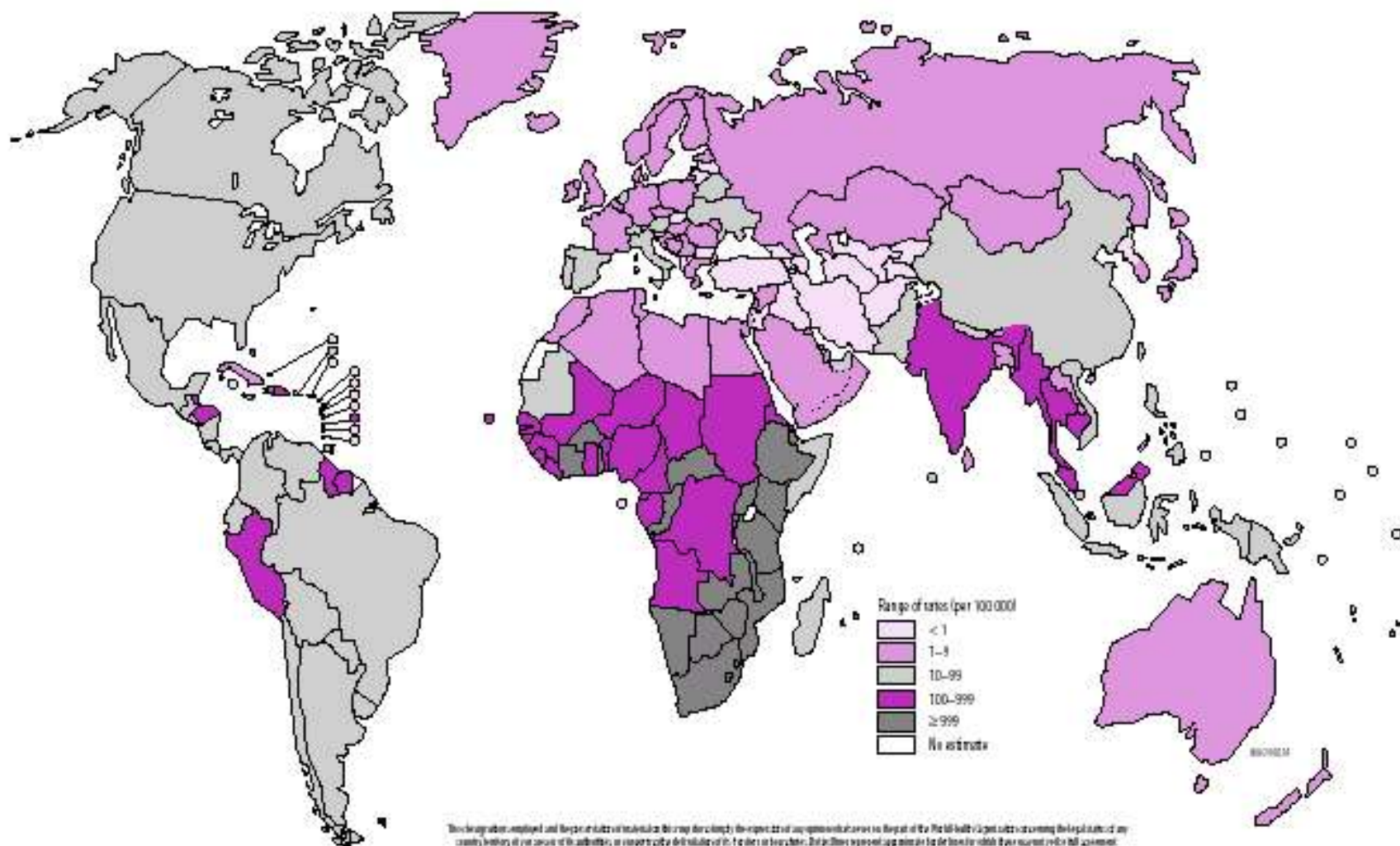
На земній кулі 15 -20 млн. хворих на туберкульоз, що виділяють збудник туберкульозу і представляють епідеміологічну небезпеку для населення.

В Україні у 1995 році ВООЗ оголосила епідемію туберкульозу.

1. Estimated TB incidence rates, 1997



2. Estimated TB/HIV co-infection rates, 1997



В Україні епідемія туберкульозу перейшла в категорію **національної проблеми**, оскільки стала важкокерованою:

Хворобою охоплено близько **700 тис.** людей, **600 тис.** перебувають на диспансерному обліку, **142 тис.** з відкритою формою туберкульозу.

Офіційне число туберкульозних хворих перевищило **1 % населення**, однак експерти не без підстави думають, що реальна кількість хворих значно більша.

Щорічно число хворих збільшується на **40 тис.**, вмирає **10 тис.**

Туберкульоз - одне з найбільш давніх та розповсюджених інфекційних захворювань. Це підтверджують виявлені при розкопках туберкульозні зміни у кісткових залишках людей кам'яного століття.

Гіппократ (460 - 370 до н.е.), Галей (130 -200), Ібн-Сіна (980 - 1037) та інші вчені древності діагностували та описували важкі форми туберкульозу з легеневими кровотечами, тяжкою інтоксикацією, великою кількістю мокротиння, що виділяється, значним виснаженням організму.

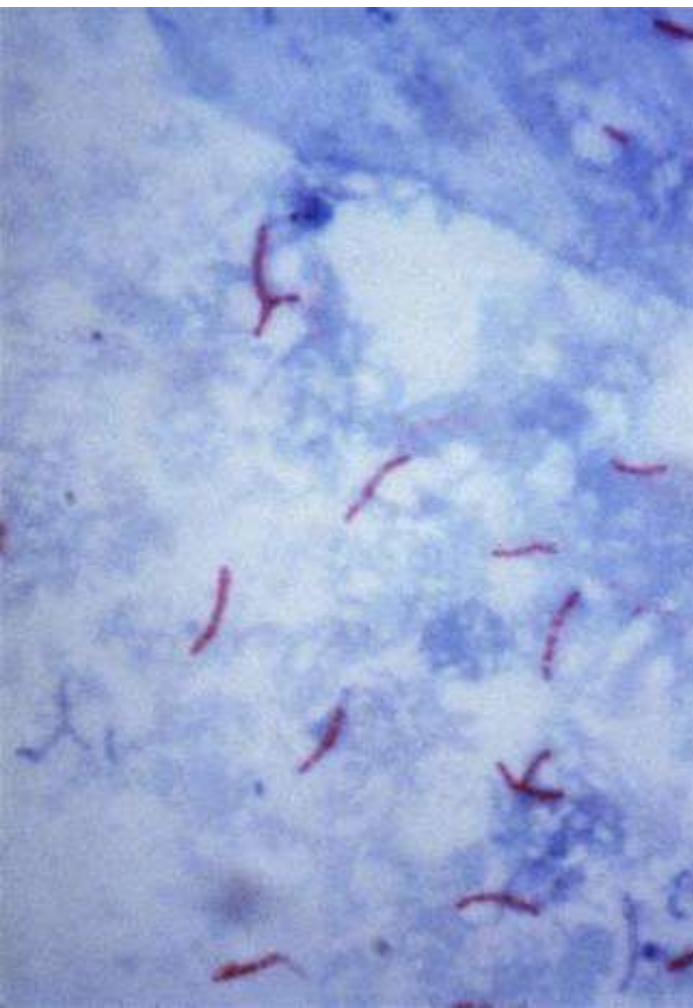
Війни, голод, економічні кризи, безробіття викликають ріст захворюваності та смертності від туберкульозу.

Збудниками туберкульозу у людини є:

M. tuberculosis (більше 90% всіх випадків туберкульозної інфекції)

M. bovis (5%)

M. africanum (близько 3%, головним чином серед населення країн тропічної Африки).



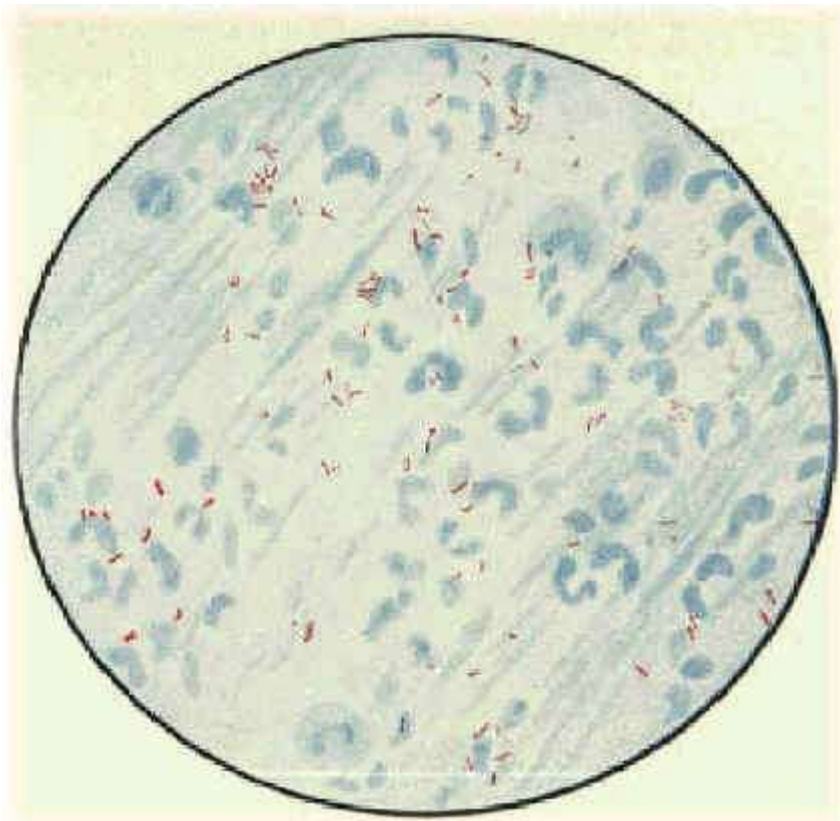
Мікобактерії туберкульозу -
грампозитивні прямі або трохи
вигнуті палички. До складу
мікобактерії входять ліпіди (10-
40%), миколова та інші жирні
кислоти, білки, полісахариди.

Джгутиків не мають, спор та
капсул не утворюють.

В мазку розташовуються поодинці або
скупченнями по 2 – 3 особини.



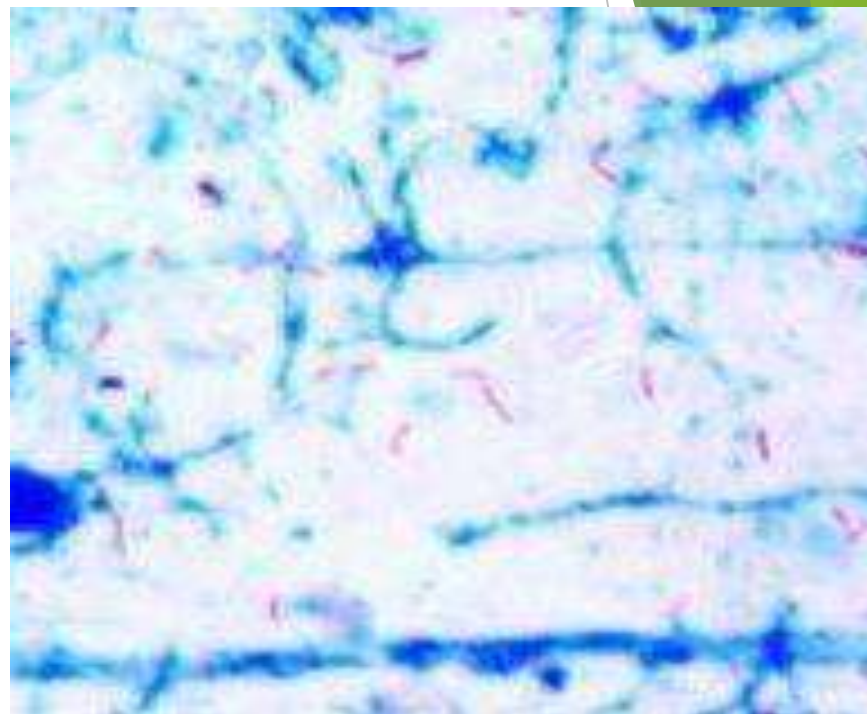
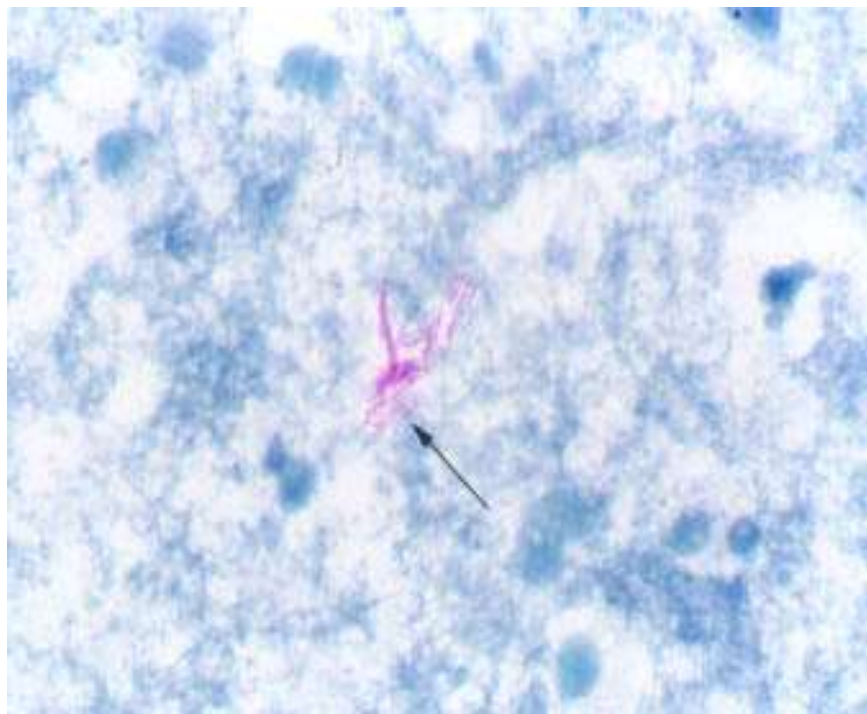
При дослідженні в електронному мікроскопі у мікобактерій виявляється наявність мікрокапсули у вигляді фібрилярного структурного утворення з кислих мукополісахаридів.



Туберкульозні мікобактерії характеризуються **“кислотостійкістю”**: 95% етиловий спирт, що містить 3% соляну кислоту (“кислий спирт”), швидко обезбарвлює всі бактерії, за виключенням мікобактерій.

Кислотостійкість пояснюється наявністю у туберкульозних мікобактерій великої кількості міколової кислоти та ліпідів.

Типові кислотостійкі мікобактерії туберкульозу погано сприймають звичайні анілінові барвники. За Грамом фарбуються “ + ”.



Для виявлення кислотостійких бактерій застосовують забарвлення за **Цилем–Нільсеном**.

Культуральні властивості

M. tuberculosis - облігатні аероби, оптимум росту 37 С, оптимум рН 6,4 - 7,0.

Мікобактерії туберкульозу дуже вибагливі **гетеротрофи**, які мають потребу в глютаміновій та аспарагіновій кислоті (джерело білка), гліцерині та глюкозі (джерело вуглецю).

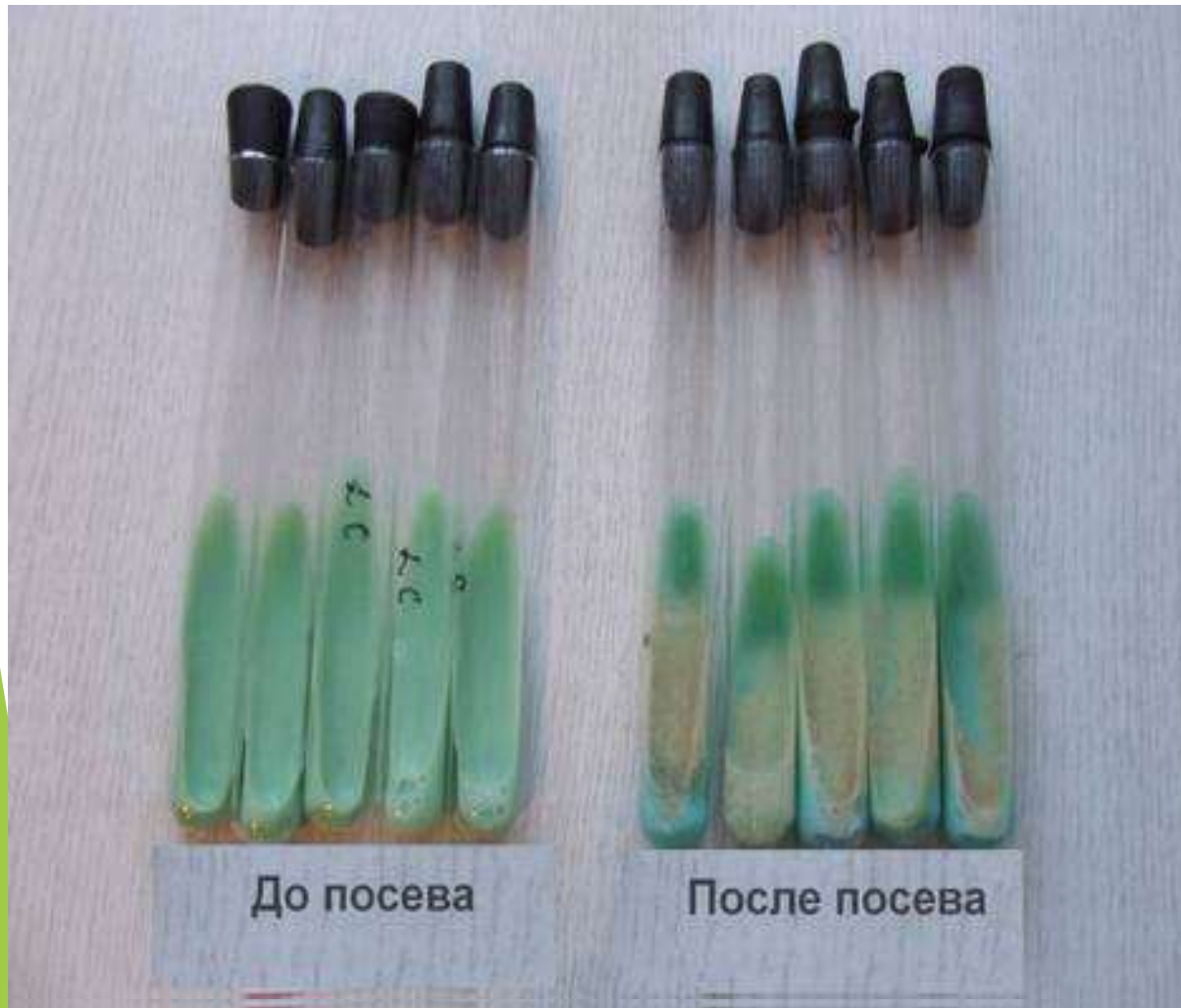
Найчастіше застосовують яєчне середовище *Левенштейна-Йенсена* і синтетичне середовище *Сотона*.

Розмножуються мікобактерії туберкульозу повільно.

В оптимальних умовах **час генерації** (період, протягом, якого здійснюється ділення клітини), **становить близько 15 год.**, тоді як бактерії багатьох інших видів діляться кожні **20-30 хв.**

Ріст туберкульозних мікобактерій можна виявити через **2-3 тижні** і пізніше - до **2-3 мес.**, особливо у перших генераціях.

На гліцериновому бульйоні та синтетичних рідких середовищах формується ламка зморшувата жовтувата плівка; бульйон залишається прозорим.



На щільних середовищах утворюються сухі лускаті R-колонії, що нагадують бородавки або кольорову капусту.

Біохімічні ознаки патогенних мікобактерій, що повільно ростуть

Активність	M.africanum	M.tuberculosis	M.bovis	M. avium	M.kansasii	M.scrofulaceum
Уреаза	+	+	+	-	+	+
Піразин-амідаза (в агарі)	+	+		+	+ -	+
Кисла фосфотаза	+	+	+	-	+	-
Відновлення нітратів	-	+	-	-	+	+ -
α-естераза	-	+	+	+	-	+ -
Каталаза	+ -	-	-	+ -	+	+
Акумуляція ніацину		+				
Гідроліз твіна (ч/з 10 діб)	+	+ -			+	

Мікобактерії туберкульозу не утворюють екзотоксинів, токсичними властивостями володіють багато хімічних компонентів клітини.

У 1890 р. Р.Кох з туберкульозних мікобактерій отримав препарат, названий **туберкуліном**.

Промисловість випускає очищені білкові деривати туберкуліну (*PPD - Purified Protein Derivative*), отримані з культурального фільтрата мікобактерій туберкульозу, які вирощені на синтетичних середовищах.

Основу туберкуліну складають туберкуло-протеїни, що мають токсичні властивості.

При внутрішньошкірному введенні туберкуліну у *інфікованих* мікобактеріями людей виникають специфічні місцеві реакції у вигляді утворення інфільтрату та почервоніння (реакція Манту).

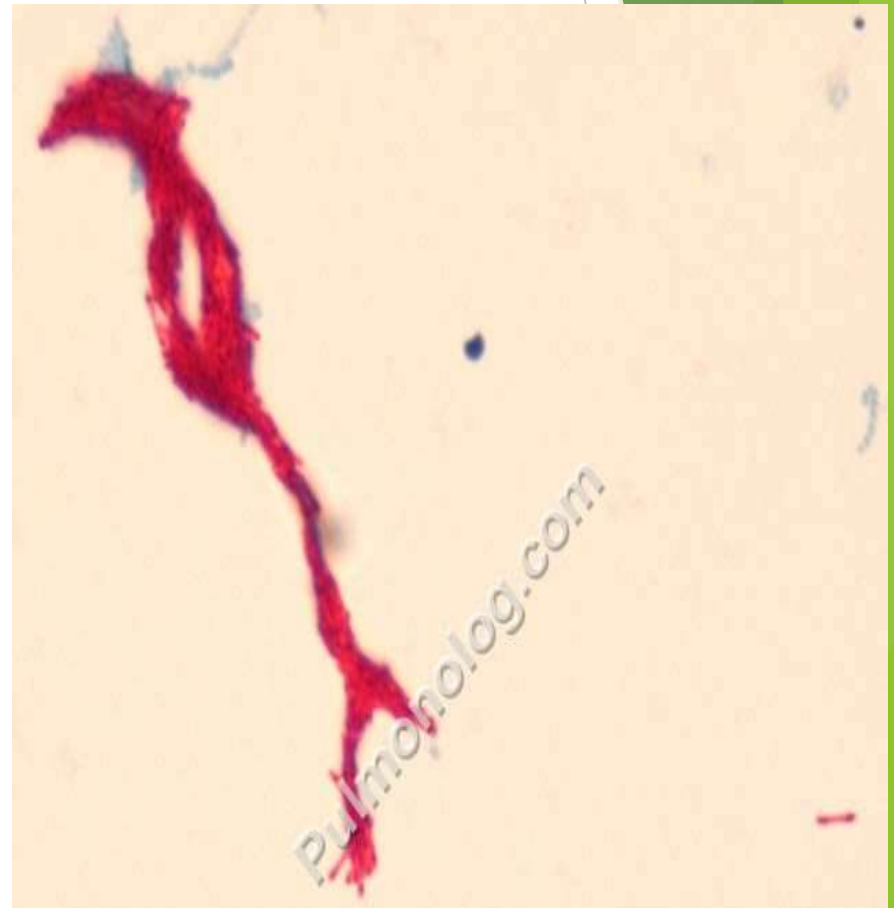
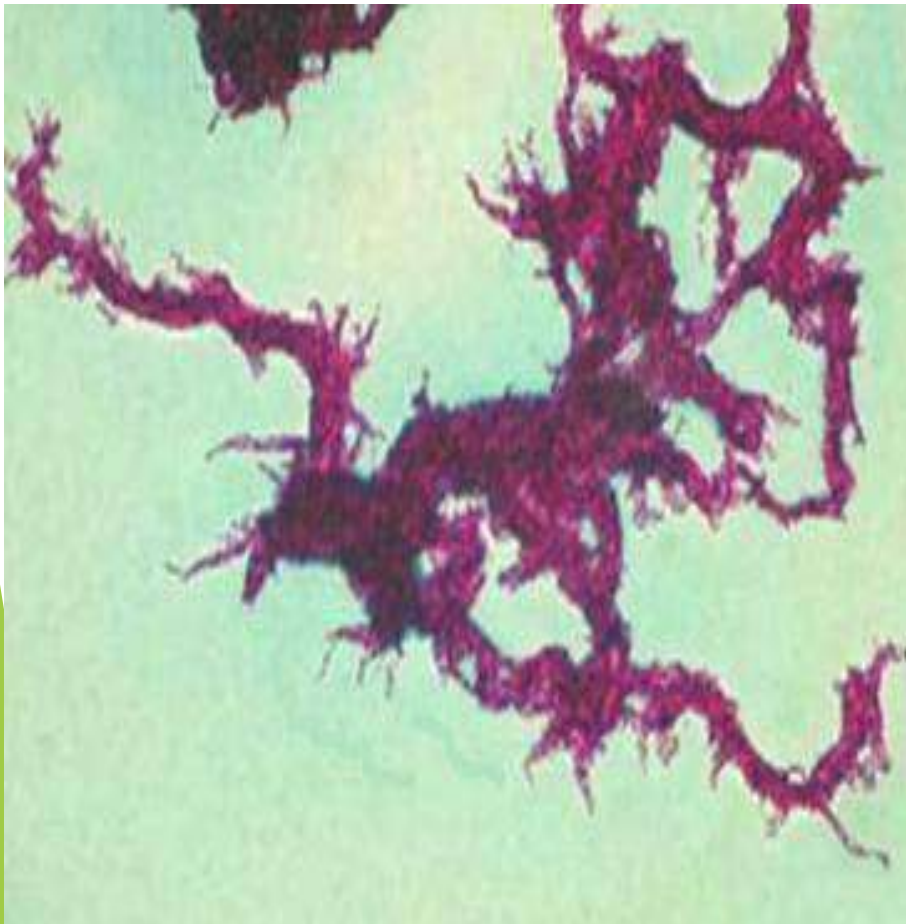


Туберкулін не має місцевої дії на шкіру здорового організму.

Мікобактерії містять велику кількість ліпідів, жирних кислот та воску. Ці речовини, що локалізуються в клітинних стінках забезпечують:

- високу резистентність до фізичних та хімічних факторів,
- вірулентність,
- захист мікобактерій від фагоцитозу,
- повільний ріст на поживних середовищах,
- кислотостійкість,
- утворення гранульом та їх казеозний розпад.

Вірулентні штами туберкульозних мікобактерій містять корд-фактор, який є гліколіпідом. Корд-фактор обумовлює вірулентність, склеювання мікобактерій та ріст їх у вигляді кіс та джгутів.



Антигенна структура

Антигени мікобактерії містять протеїни, полісахариди, ліпіди, фосфатиди.

Туберкулопротеїни, які складають основу туберкуліну, є головними носіями антигенних властивостей МБТ і проявляють специфічність у *реакціях підвищеної чутливості уповільненого типу*.

З полісахаридами зв'язане виявлення *антитіл* у сироватці крові хворих на туберкульоз.

Резистентність

Мікобактерії туберкульозу стійкі до різних факторів зовнішнього середовища.

- ґрунті, воді, в житлових приміщеннях, в деяких продуктах бактерії залишаються життєздатними біля **1 року**,
- у книгах - до **4 місяців**,
- в вуличному пилу до **8 - 12 днів**.

Пряме сонячне світло вбиває МБТ протягом **1,5 години**, а ультрафіолетові промені за **2-3 хв**.

Дезінфектанти, що містять хлор, убивають МБТ протягом **5 годин**.

Джерелом інфекції є хворі люди і тварини. За умов активної форми туберкульозу з наявністю запально-деструктивних змін вони виділяють мікобактерії у навколишнє середовище. **Більше 80%** населення інфікується туберкульозними мікобактеріями у ранньому віці.

Зараження туберкульозом відбувається ***повітряно-крапельним, повітряно-пиловим шляхами.***

Близький контакт (наприклад, у сім'ї) та *інтенсивна експозиція* (наприклад, у медичних працівників) сприяє передачі інфекції.

Велика рогата худоба (молоко корів) може бути джерелом інфекції, якщо не здійснюється належний контроль і молоко не пастеризується.

Зараження може відбуватися **аліментарним шляхом** при вживанні харчових продуктів, інфікованих туберкульозними мікобактеріями.

Можливо також **внутрішньоутробне** інфікування плоду через плаценту

Патогенез

Первинне зараження найчастіше відбувається у дитячому віці, рідше - у юнацькому, і рідко - у дорослих.

Туберкульозне захворювання у інфікованих людей розвивається лише у 0,4-0,5% випадків.

Це пояснюється відносною уродженою резистентністю до туберкульозу.

З усіх органів і систем організму частіше уражуються легені. Ураження інших органів розвивається нерідко, як ускладнення легеневого процесу.

У легенях в місцях заглиблення інфекції (вхідні ворота) утворюється туберкульозне запальне вогнище - **інфекційна гранульома** (первинний афект), описаний Гоном (1912).

Потім розвивається специфічний запальний процес у **регіональних лімфатичних вузлах** і спостерігається **сенсibiliзація організму**.

Формується так званий первинний туберкульозний комплекс.

У переважній більшості випадків первинне вогнище має доброякісний перебіг. Воно розсмоктується, уражена ділянка кальцинується і рубцюється.

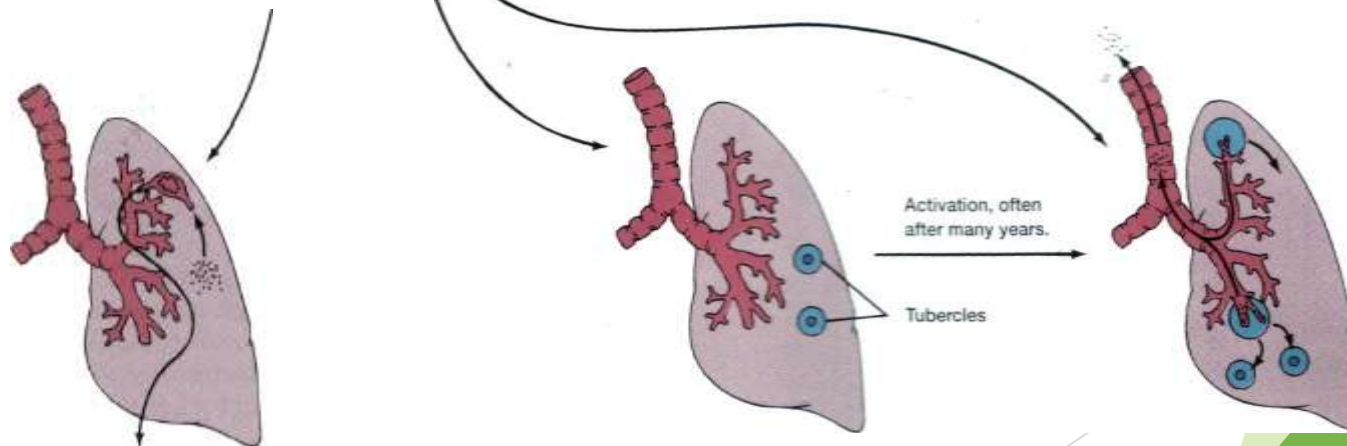
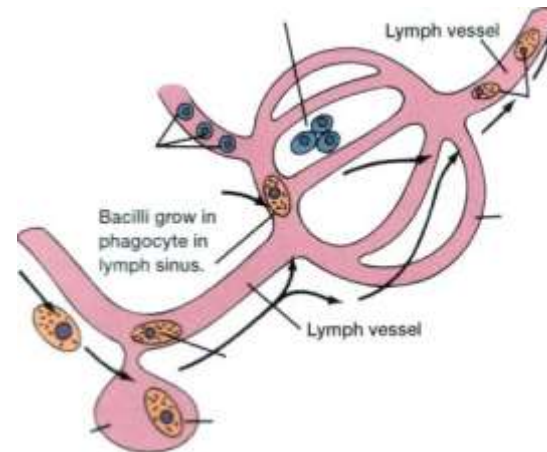
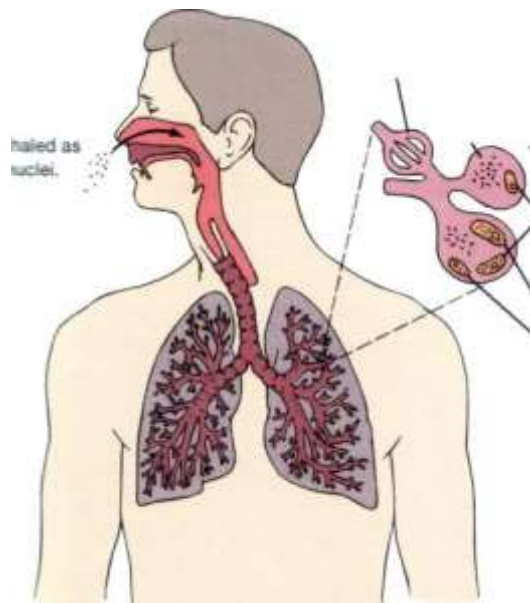
Однак цей процес не завершується повним звільненням організму від збудника.

У первинному вогнищі і лімфатичних вузлах туберкульозні бактерії можуть зберігатися багато років, іноді протягом всього життя.

При несприятливих умовах, особливо на тлі поганих соціальних факторів (недостатнє й неповноцінне харчування, незадовільні житлові умови,) може наступити **активація збудника й генералізація процесу.**

Найбільше часто зустрічається туберкульоз легенів.

Генералізація інфекції призводить до розвитку позалегенових форм туберкульозу: шкіри, кісток, суглобів, нирок та інших органів.



Імунітет

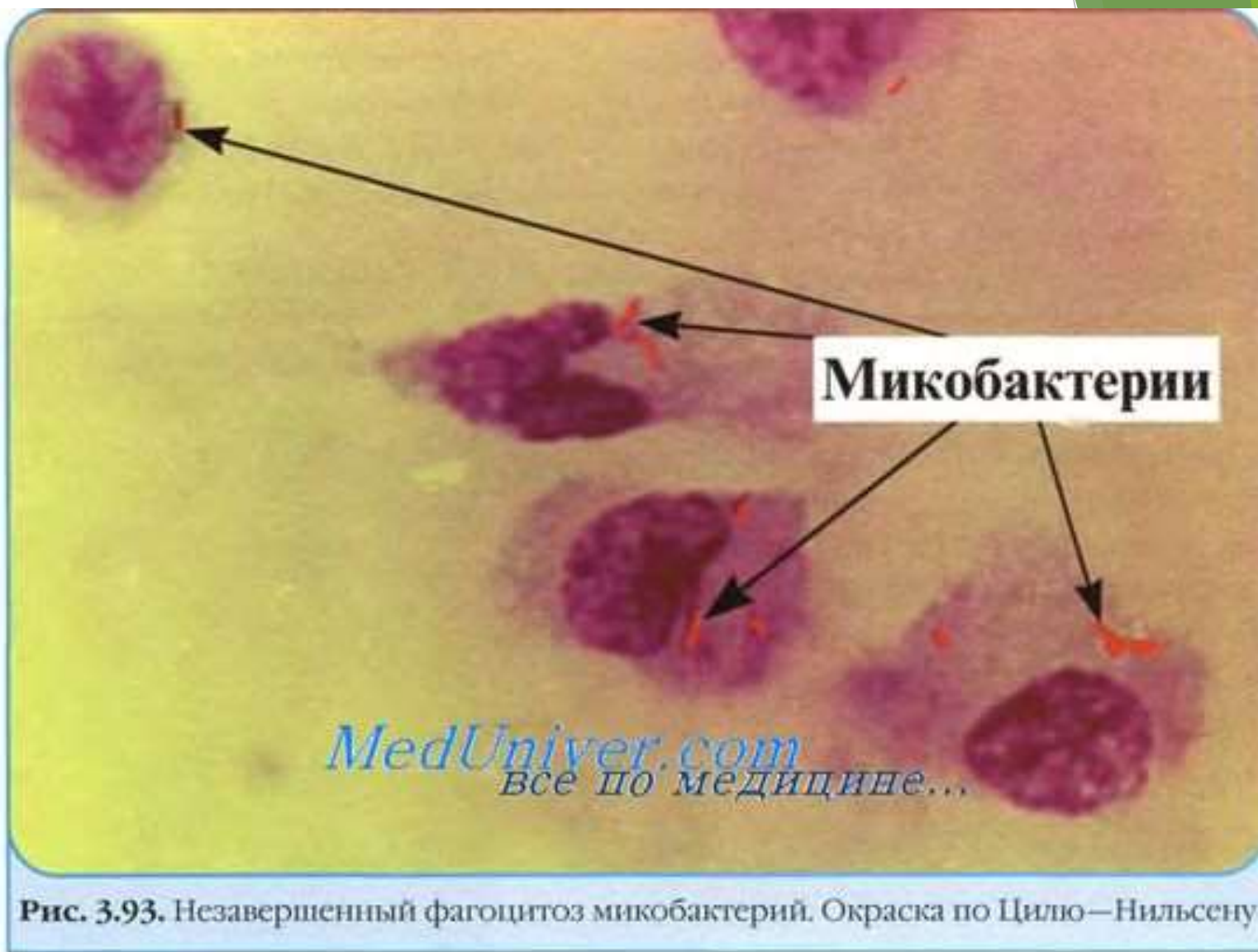
При туберкульозі імунітет формується на тлі первинного інфікування організму мікобактеріями, які тривалий час зберігаються в ньому. Така форма імунітету називається **нестерильним** і виражається у стійкості організму до суперінфекції.

Антитіла, що утворюються до мікобактерій туберкульозу є тільки «свідками» імунітету, не мають інгібуючого впливу на збудника й не відбивають його напруженості. Велике значення має **клітинний імунітет**.

Т-лимфоцити після контакту з антигенами мікобактерій продукують імуноцитокіни, що підсилюють фагоцитарну активність макрофагів.

Фагоцитоз при туберкульозі носить незавершений характер, оскільки мікобактерії можуть розмножуватися в макрофагах і частково їх руйнують.

Збереження живих мікобактерій у тканинах забезпечує підвищену опірність до суперінфекції, а також «імунологічну пам'ять».



Важливе значення у формуванні імунітету при туберкульозі має алергія, що розвивається за типом гіперчутливості уповільненого типу.

Захисна роль гіперчутливості уповільненого типу проявляється в обмеженні розмноження мікобактерій, фіксації їх у вогнищах інфекції, утворенні інфекційних гранульом за участю Т-лимфоцитів, макрофагів та інших клітин.

Мікробіологічна діагностика туберкульозу

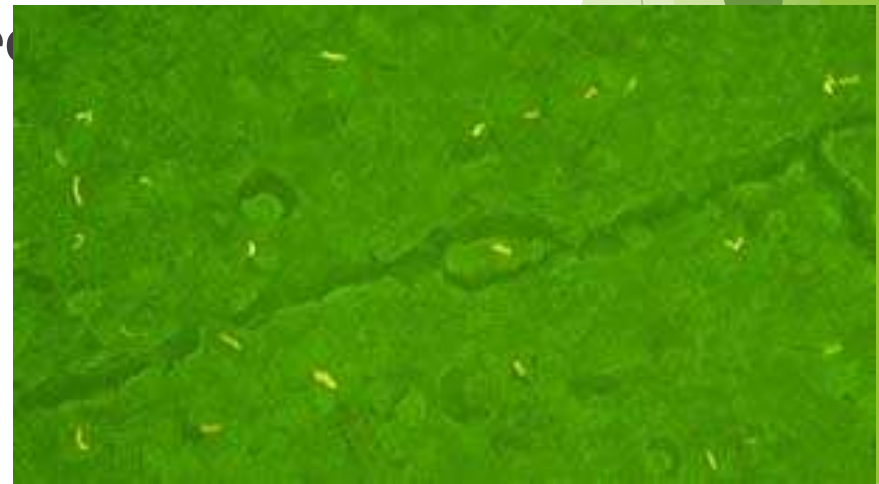
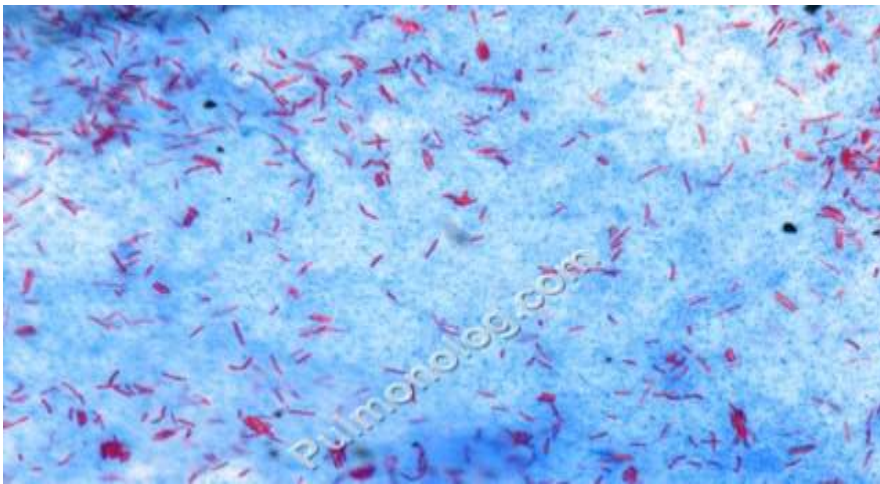
Досліджуваний матеріал:

Мокротиння, сеча, гній та інше.

I етап

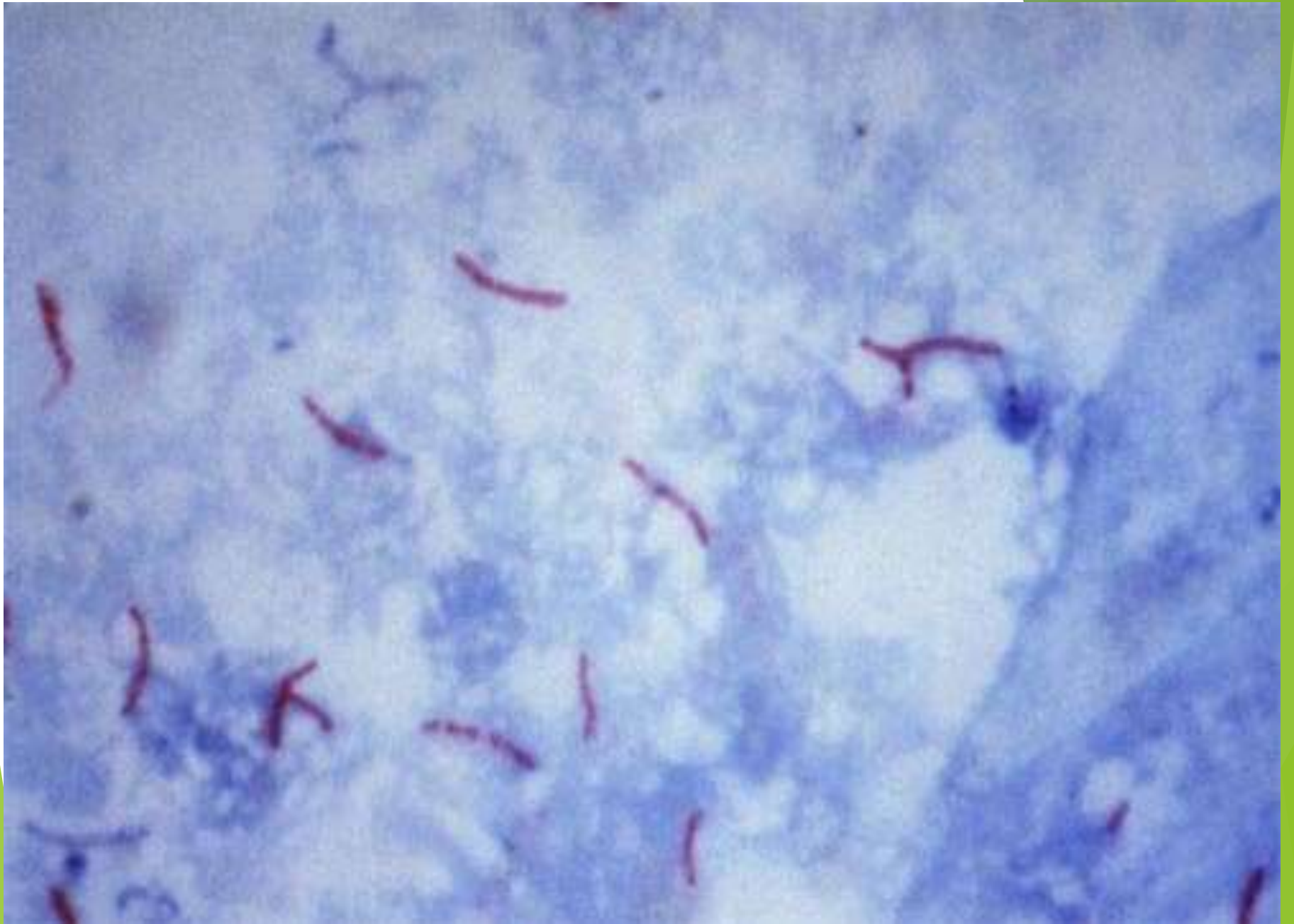
1. Орієнтовна мікроскопія

- забарвлення за Цілем - Нільсеном: на синьому фоні
яскраво-червоні палички, які лежать окремо або
скупченнями;

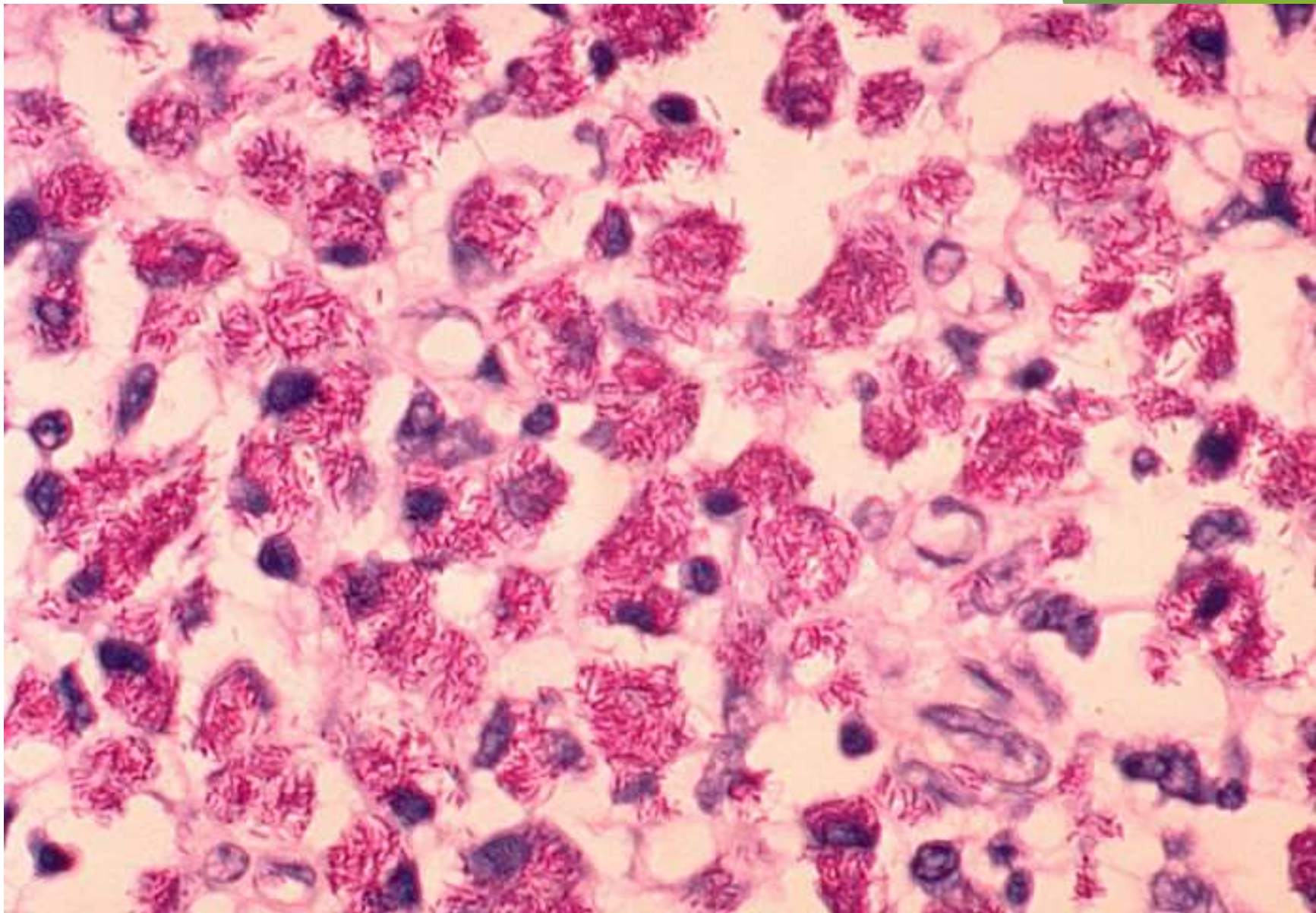


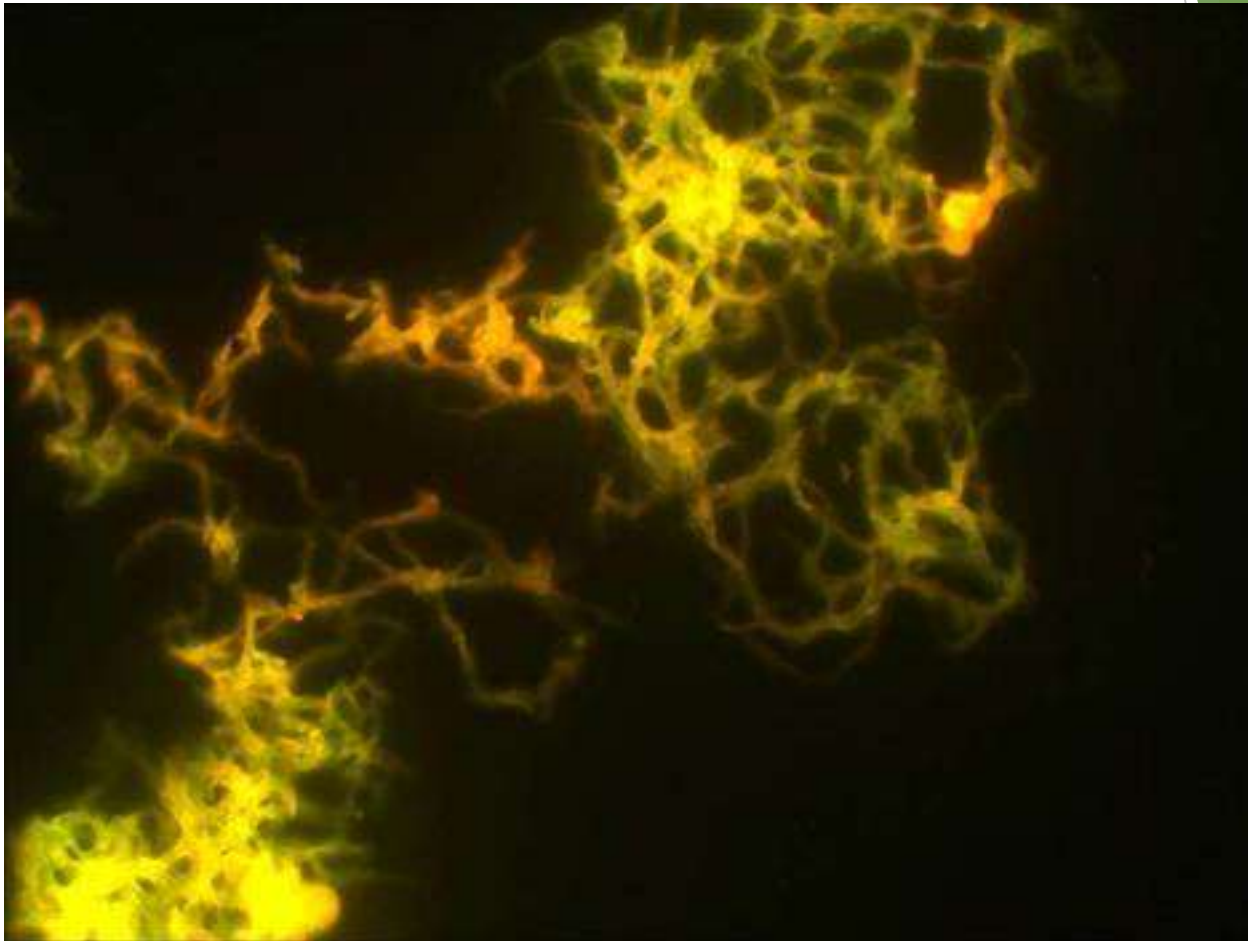
Недоліки мікроскопічного метода:

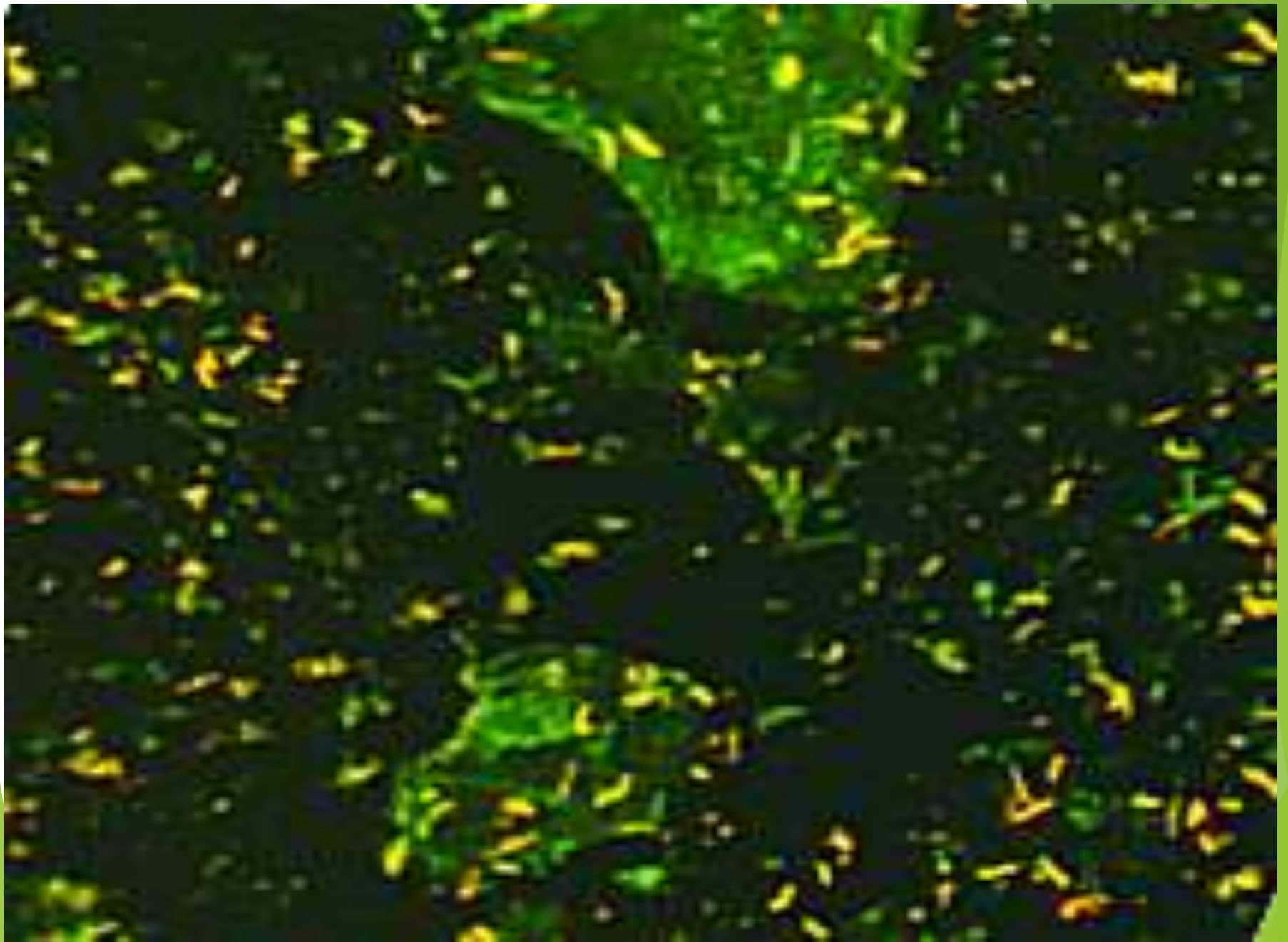
- туберкульозні палички можна знайти, якщо їх багато у досліджувальному матеріалі (100 тис. на 1 мл),*
- існують атипові мікобактерії, що не викликають туберкульоз (викликають мікобактеріози).*











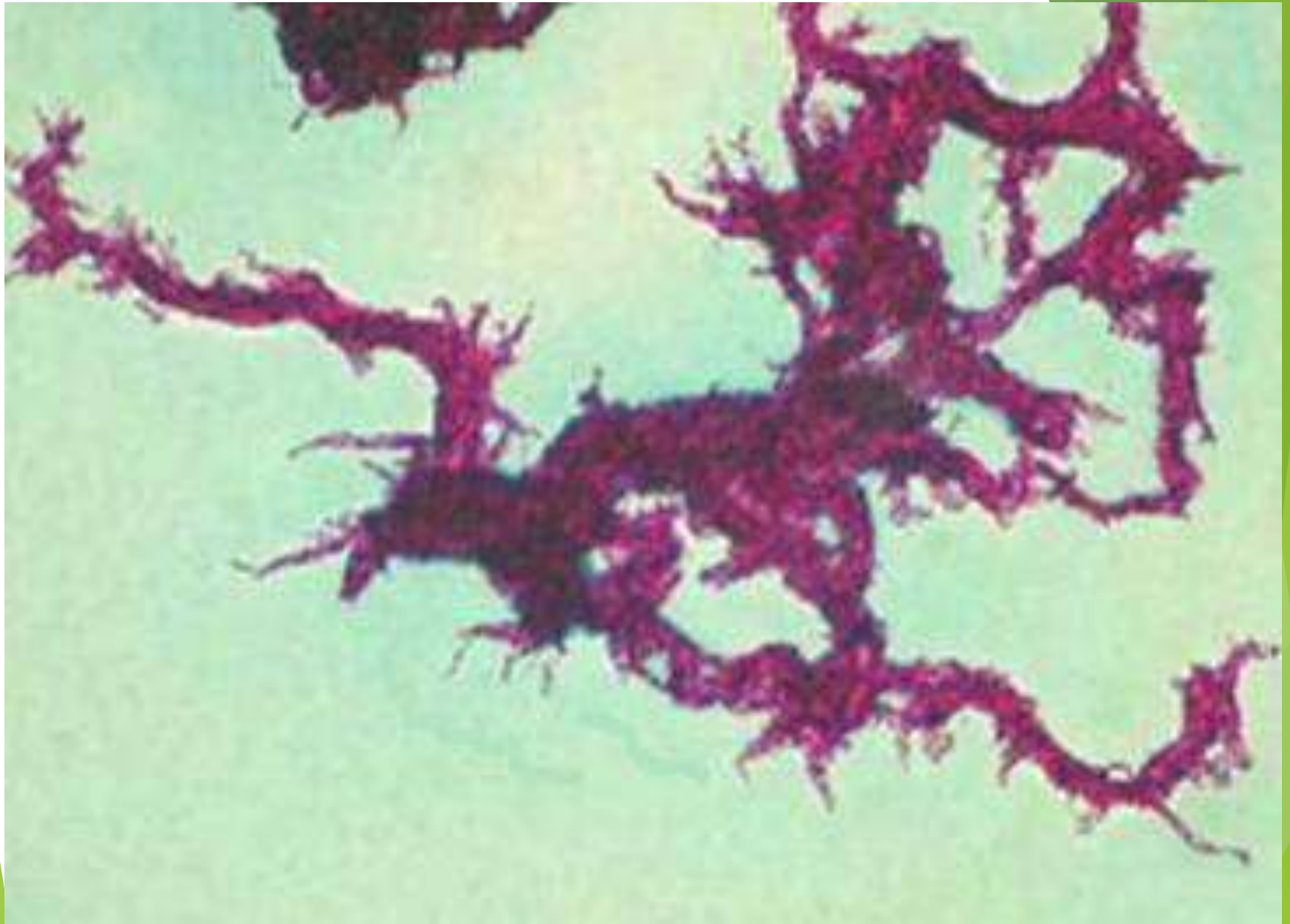
2. Бактеріологічний метод є основним у лабораторній діагностиці туберкульозу

Досліджуваний матеріал обробляють 10% H_2SO_4 для видалення супутньої мікрофлори, центрифугують, осад нейтралізують та використовують для посіву.

Посів на середовище Левенштейна-Йєнсена

для отримання чистої культури. Інкубують при температурі 37°C 4-6 тижнів.

Для прискореного виявлення мікобактерій роблять посіви за методом Прайса, що дозволяє одержати мікрокультури туберкульозних бактерій і визначити наявність корду-фактора, коли мікобактерії розташовуються у формі кіс і джгутів.



У деяких випадках, наприклад, при туберкульозі нирок, застосовують **біологічну пробу** - зараження морських свинок з наступним виділенням чистої культури.

Шкірно-алергічні туберкулінові проби (реакція Манту) ставлять з метою виявлення осіб, інфікованих туберкульозними мікобактеріями, для оцінки перебігу туберкульозного процесу у хворих, а також для контролю ефективності вакцинації і відбору осіб для ревакцинації BCG.





II етап

1. Ідентифікація чистої культури:

1.1. За морфологічними та тинкторіальними ознаками

Забарвлення за Цілем - Нільсеном: яскраво-червоні палички, які розташовуються окремо або скупченнями.

1.2. За культуральними властивостями (характер та швидкість росту на живильних середовищах).

На рідких живильних середовищах через 5 - 7 днів вони дають ріст у вигляді сухої зморшкуватої плівки кремового кольору.



На щільних живильних середовищах на 3-му тижні культивування колонії мають вигляд світло-кремового зморшкуватого сухого нальоту з нерівними краями (R- форми).

1.3. За біохімічною активністю

Проба на нікотинову кислоту: *M.tuberculosis* - добре синтезують нікотинову кислоту,
M.bovis - погано.

2. Визначення чутливості до антибіотиків

При культивуванні або за допомогою ПЦР.

- ▶ В останні роки застосовуються молекулярно-генетичні методи:
полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)

Біологічний метод

2-3 мл обробленого кислотою досліджуваного матеріалу вводять підшкірно морській свинці з негативною туберкуліновою пробою.

Генералізована відповідь розвивається через 1,5 міс., якщо тварина не гине, її забивають, роблять посіви.

Метод дозволяє виявити 1-5 мікобактерій в 1 мл досліджувального матеріалу.

Профілактика

Для специфічної профілактики використовують живу вакцину БЦЖ - BCG (Bacille Calmette-Guerin).

Штам BCG був селекціонований Кальметтом і Гереном шляхом чисельних пересівів туберкульозних бактерій бичачого типу (*M.bovis*) на картопляно-гліцеринові середовища з додаванням жовчі.

Ними було зроблено 230 пересівань протягом 13 років і виділений мутант зі зниженою вірулентністю.

У нашій країні вакцинуються проти туберкульозу всі немовлята на 5-7-й день життя.

Ревакцинацію проводять особам з негативною туберкуліною пробою з інтервалом в 5-7 років до 30-літнього віку.

Цим створюється інфекційний (нестерильний) імунітет, при якому виникає реакція гіперчутливості уповільненого типу.

За систематикою бактерій *Бергі* 1984 р.
коринебактерії відносяться до:

ц. *Procariotae*

отр II *Bacteria*

гр. 15

Коринебактерії не по'єднані в родину, оскільки до цього часу не знайдено загальних для них ключових ознак.

Pið Corynebacterium

- 1) Коринебактерії, патогенні для людини та тварин
(21 вид) - *C. diphtheriae*
- 2) Коринебактерії непатогенні або умовно-
патогенні: дифтероїди (нормальна мікрофлора)
 - C. pseudodiphtheriae* (*C. hofmani*)
 - C. ulcerans*
 - C. xerosis*
 - C. pseudotuberculosis*

Дифтерія – гостра інфекційна хвороба, викликана токсигенними коринебактеріями дифтерії, передається повітряно-крапельним шляхом, характеризується місцевим фібринозним запаленням переважно слизових оболонок рото- та носоглотки, а також явищами загальної інтоксикації з ураженням серцево-судинної, нервової та видільної систем.

Ушкоджуюча дія на органи та тканини обумовлена токсином, що виділяється збудником у місці його локалізації.

Corynebacterium diphtheriae (лат.: *coryna* - булава, *diphthera* – плівка)

- прямі або трохи зігнуті палички з потовщеннями на одному або обох кінцях, що надає їм схожість з булавою.
- нерухомі, спор та капсул не утворюють.
- характерний поліморфізм: поряд з типовими довгими витонченими паличками можна знайти короткі, товсті, кокоподібні, сегментовані, гілчасті форми.

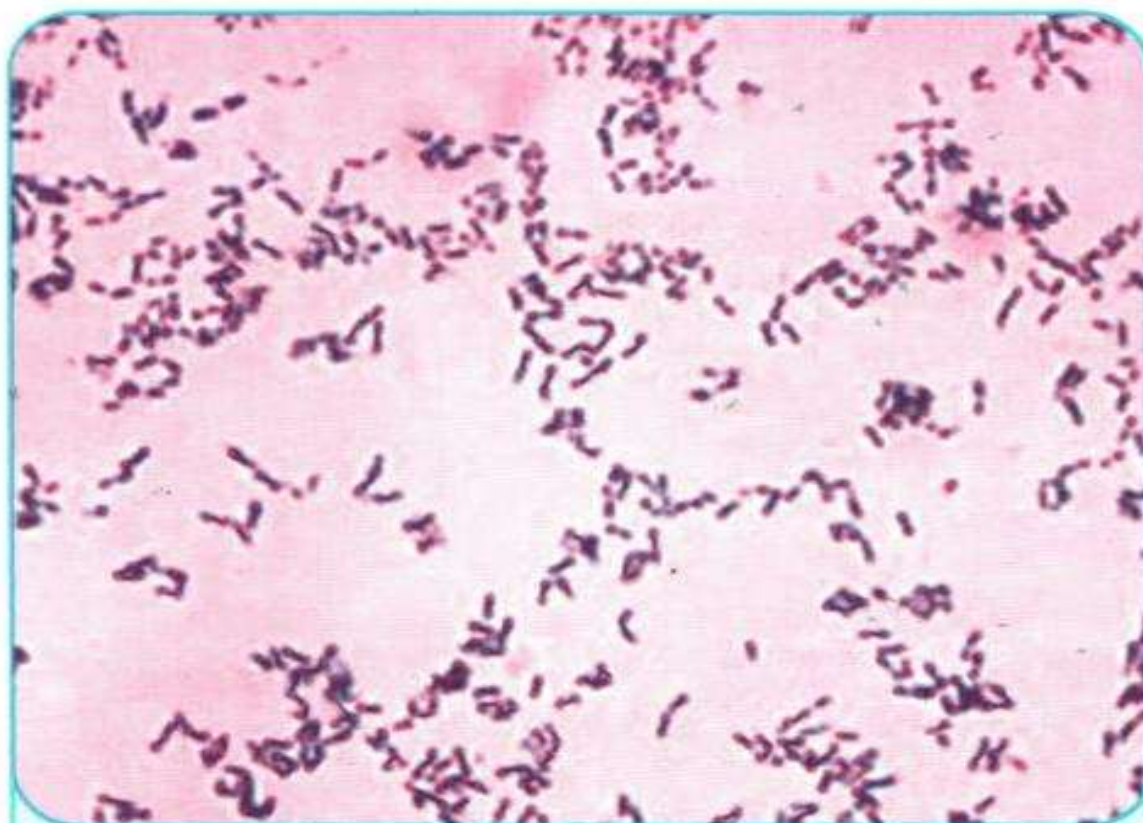


Рис. 3.88. Мазок из чистой культуры *C. diphtheriae*.
Окраска щелочной синькой Леффлера

Коринебактерії дифтерії у мазках часто розміщуються попарно, під гострим або прямим кутом відносно один одного, у вигляді римської цифри V, що пояснюється своєрідним типом поділу клітин шляхом зламу або розщеплення.

Дифтероїди у мікропрепаратах розміщуються у вигляді “частокола” з декількох паралельно розташованих клітин

Гранули волютину розташовуються в булавовидних потовщеннях на кінцях.

За *методом Лефлера* вони зафарбовуються в темно-синій колір та різко контрастують з блідо-синім фоном мікробної клітини.

За *Нейсером* волютин зафарбовується в синьо-чорний колір, мікробна клітина - в світло-коричневий.

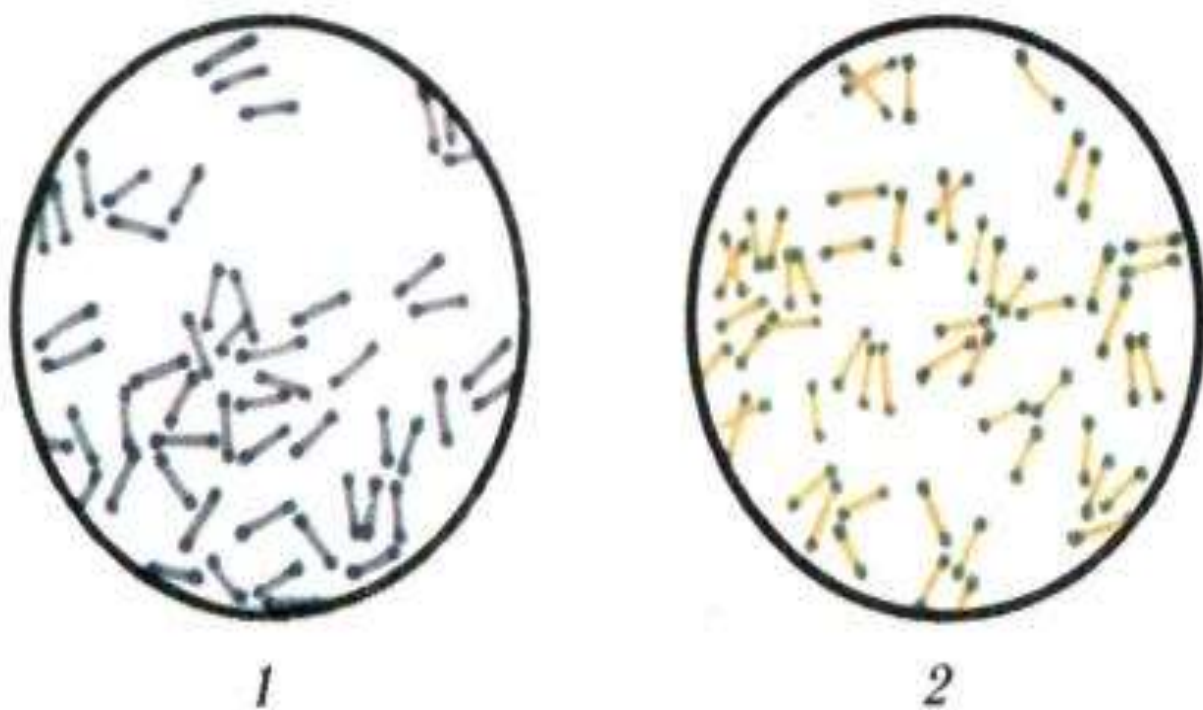


Рис. III. Коринебактерии дифтерии, окрашенные уксусно-кислым метиловым фиолетовым (1) и по методу Нейссера (2).

Для культивування використовують:

- *кров'яний агар,*
- *сировотковий агар,*
- середовища с додаванням телуриту калія:
середовище Клауберга,
кров'яно-телуристовий агар
- середовище *Лефлера* (3 частини бичачої згорнутої сироватки та 1 частина 1% цукрового бульйону),
- середовище *Ру* (кінська або бичача згорнута сироватка)

Вид *Corynebacterium diphtheriae*
неоднорідний, він поділяється на:

- 3 культурально-біохімічних типи або біовари:

gravis (грубий, важкий)

mitis (тонкий)

intermedius (проміжний)

- 2 різновиди -

- *токсигенні, нетоксигенні*

серовари

- *фаговари* (за допомогою яких встановлюють джерела інфекції).

Важка форма дифтерії може бути викликана будь-яким типом дифтерійної палички, так як і легка форма.

Але при важких формах дифтерії та летальних випадках паличка типу *gravis* виділяється відносно частіше, ніж паличка типу *mitis*.

Фактори патогенності	Біологічний ефект
Дифтерійний екзотоксин (гістотоксин) складається з А- та В-суб`одиниць	Порушує синтез білка, уражує клітини міокарду, наднирників, нервових гангліїв
Некротоксин	Викликає некроз клітин у ділянці локалізації збудника
Антифагоцитарний фактор	Порушує фагоцитоз
Нейрамінідаза	Фактор агресії та інвазії
Гіалуронідаза	Фактор інвазії, підвищує проникність кровоносних судин, що веде до набряку тканин
Корд-фактор	Фактор адгезії, колонізації

Збудник виділяється з організму хворого або носія із слизом носоглотки.

Дифтерійна інфекція передається:

- **повітряно-крапельним** шляхом,
- **контактно-побутовим** шляхом (іграшки, посуд, книги, харчові продукти, інфіковані дифтерійними паличками).

Захворювання розвивається у осіб, які **не мають антитоксичного імунітету**.

Найбільш частий результат інфікування – бактеріоносійство.

Патогенез

Вхідними воротами інфекції є

- слизова оболонка зіву, носу, гортані, трахеї, бронхів.

Найбільш часто виникає дифтерія зіву (90% від усіх випадків).

Друге місце займає дифтерія носу.

Дифтерія очей, шкіри, зовнішніх статевих органів, вух, ран, порожнини рота відносяться до рідкісних локалізацій.

У місці вторгнення

- збудник розмножується з виділенням екзотоксину та факторів інвазивності,
- розвивається фібринозний запальний процес з некрозом епітелію слизової оболонки.

У дихальних шляхах (одноклітинний циліндричний епітелій), некрозу піддається лише епітеліальний шар (*крупозне запалення*). Фібриозна плівка не міцно зв'язана з підлеглою тканиною, легко відокремлюється, може відходити при кашлі.

При механічному закритті дихальних шляхів виникає достеменний дифтерійний круп.

Визначення токсигенності

Реакція преципітації в агарі:

- Смужку фільтрувального паперу, змочену протидифтерійною антитоксичною сироваткою, розміщують на поверхню агару.
- Посів культур проводять штрихом під прямим кутом до смужки фільтрувального паперу або "бляшками".
- При дифузії в середовище токсина та антитоксина в місцях їх еквівалентного співвідношення у токсигенних штамів утворюється преципітат у вигляді білих смуг.

Імуноферментний метод (ІФА):

- За допомогою моноклональних антитіл. Чутливість методу складає 2-6 нг/мл. На постановку реакції потрібно не більше 5 годин.

Лікування

Головне у лікуванні всіх форм дифтерії:
нейтралізація дифтерійного токсина
антитоксичною протидифтерійною
сироваткою.

З лікувальною метою використовують
високоочищену конячу гіперімунну сироватку
“ Діаферм ”.

Основна умова:

Максимально раннє від початку захворювання застосування сироватки, особливо при токсичних формах дифтерії.

При важких токсичних формах ефективно введення сироватки в перші години захворювання, призначення її в 1-2-й день не завжди попереджає ускладнення, а при гіпертоксичних формах - летальний результат. Це пояснюється тим, що дифтерійний токсин, вибірково вражаючи нервову, серцево-судинну і адреналову системи, швидко фіксується клітинами.

Антитоксична сироватка здатна нейтралізувати токсин, що вільно циркулює у крові; на зв'язаний клітинами токсин вона не діє.

Профілактика

Для профілактики дифтерії використовують *адсорбовану кашлюково-дифтерійно-правцеву вакцину (АКДП)* вакцинацію розпочинають з 3- х місячного віку.

Ревакцинацію проводять у 2 роки, 6 та 11 років.

Використовується також адсорбований *дифтерійний анатоксин (АД)*, адсорбований *дифтерійно-правцевий анатоксин (АДП-анатоксин)*.

- Дякую за уваги