

Полтавський державний медичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Лекція на тему:

Збудники дифтерії і туберкульозу

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.

Pід 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

Види роду <i>Corynebacterium</i>	Захворювання
<i>C. diphtheriae</i>	Дифтерія
<i>C. ulcerans</i> *	Ангіна у імунodefіцитних осіб
<i>C. jeikeium</i> (група JK)	Септицемія, інфекції м'яких тканин
<i>C. urealyticum</i> (група D2)	Інфекції сечового тракту (пієлонефрит, цистит і ін. опортуністичні інфекції)
<i>C. minutissimum</i>	Еритразма, опортуністичні інфекції
<i>C. xerosis</i>	Опортуністичні інфекції
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	Ендокардит, опортуністичні інфекції
<i>C. striatum</i>	Опортуністичні інфекції
<i>Arcanobacterium</i> (ранее <i>Corynebacttriumi</i>) <i>haemolyticum</i>	Хронічні тонзиліти, ураження шкіри

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.

Морфологія

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.

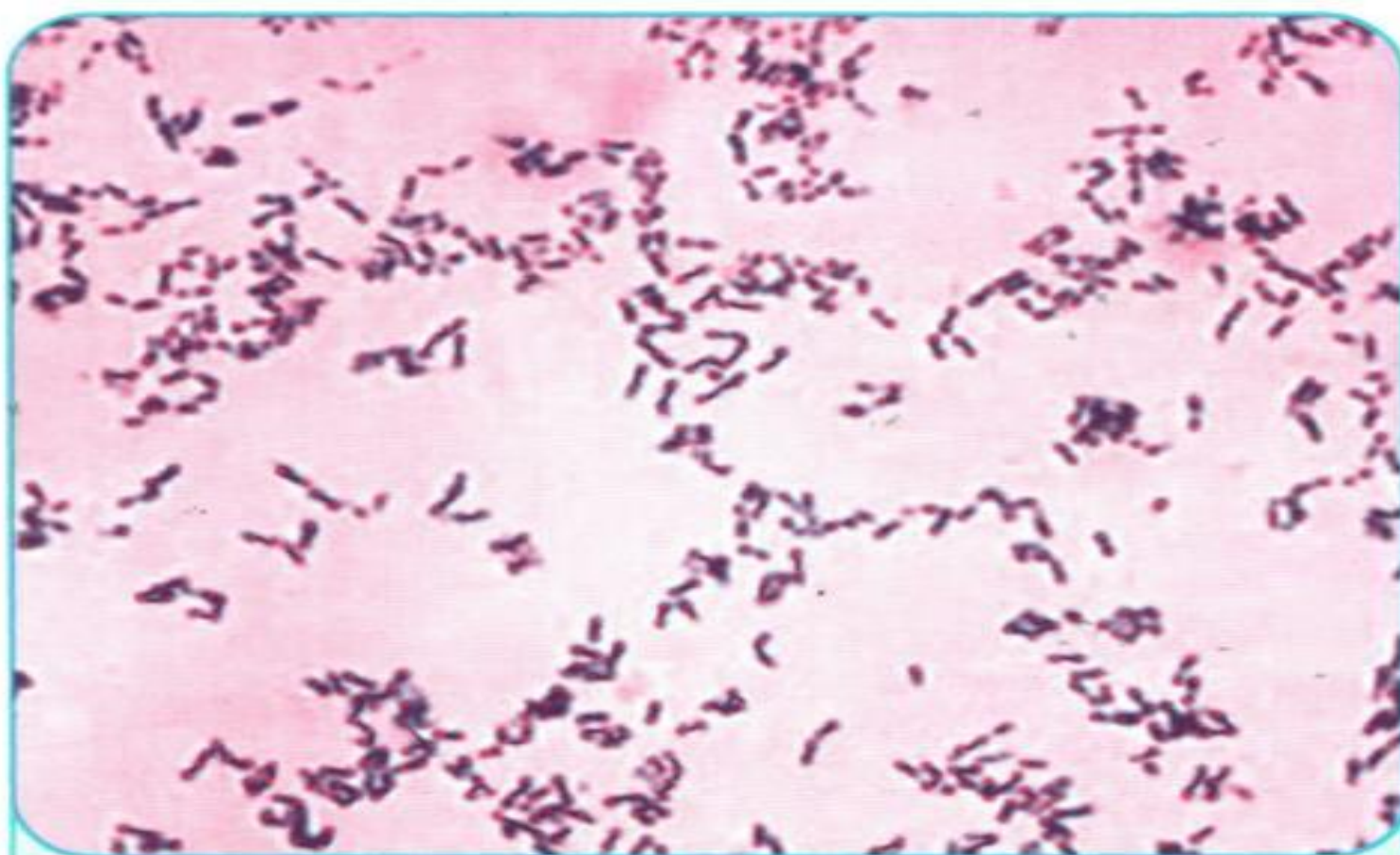


Рис. 3.88. Мазок из чистой культуры *C. diphtheriae*.
Окраска щелочной синькой Леффлера

Поліморфізм дифтерійних бактерій обумовлений перш за все незбалансованим синтезом *муреїну* в їх клітинних стінках під час культивування на штучних поживних середовищах з великою кількістю сироваткових білків.

У середовищі з оптимальним вмістом інгредієнтів, які відповідають фізіологічним потребам мікроорганізму, більшість дифтерійних клітин мають однорідну форму.

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



C.diphtheriae добре фарбуються усіма аніліновими барвниками. **Грам+.**

У кінцевих потовщеннях C.diphtheriae знаходяться зерна **Бабеша-Ернста**, що являють собою скупчення **волютину** (неорганічний поліфосфат).

Для виявлення зерен волютину використовуються забарвлення препаратів метиленовим синім за **Лефлером** або за **методом Нейсера**.

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.

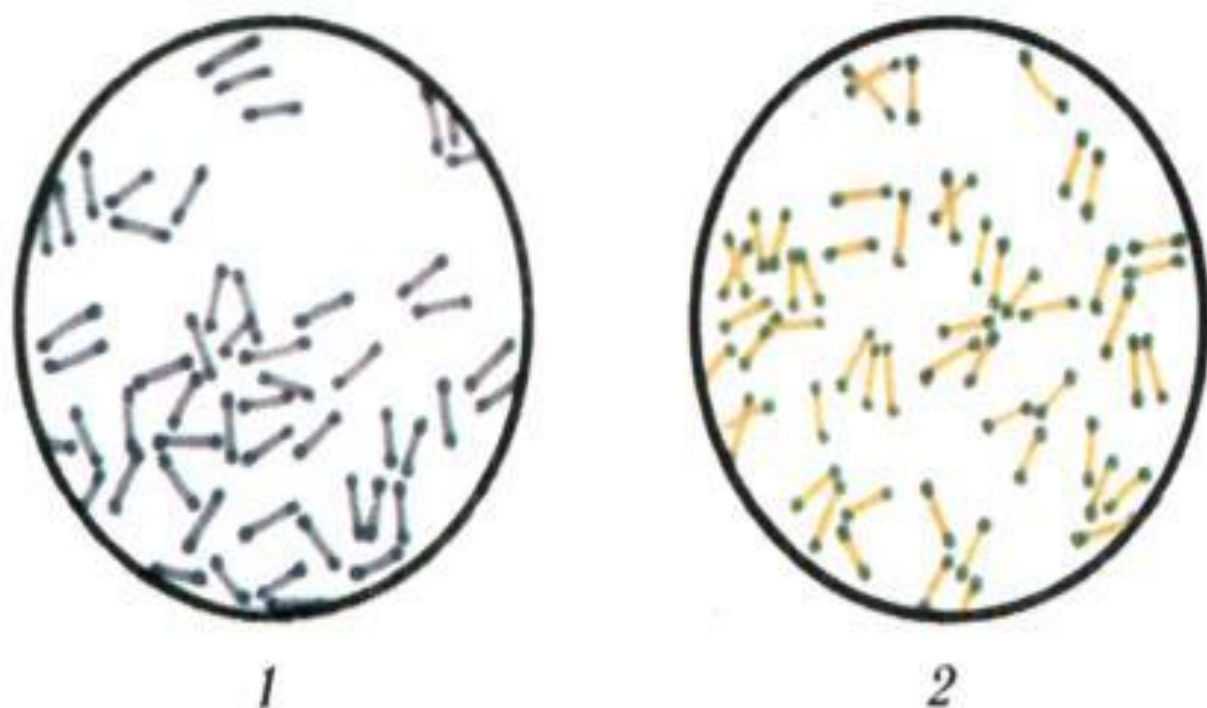


Рис. III. Коринебактерии дифтерии, окрашенные уксусно-кислым метиловым фиолетовым (1) и по методу Нейссера (2).

Культуральні ознаки

Дифтерійна паличка відноситься до аеробів або факультативних анаеробів. Оптимальна температура для росту +35-37°C, рН 7,2 – 7,6. Хемоетеротроф, каталазопозитивна.

C. diphtheriae вимогливі до умов культивування, ростуть на поживних середовищах, збагачених амінокислотами, пуриновими і піримідиновими основами, з додаванням кінської або бичачої сироватки, або гемолізованої крові.

Для культивування використовують:

- *кров'яний агар*,
- *сировотковий агар*,
- середовища с додаванням телуриту калія:
середовище Клауберга,
кров'яно-телуритовий 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*

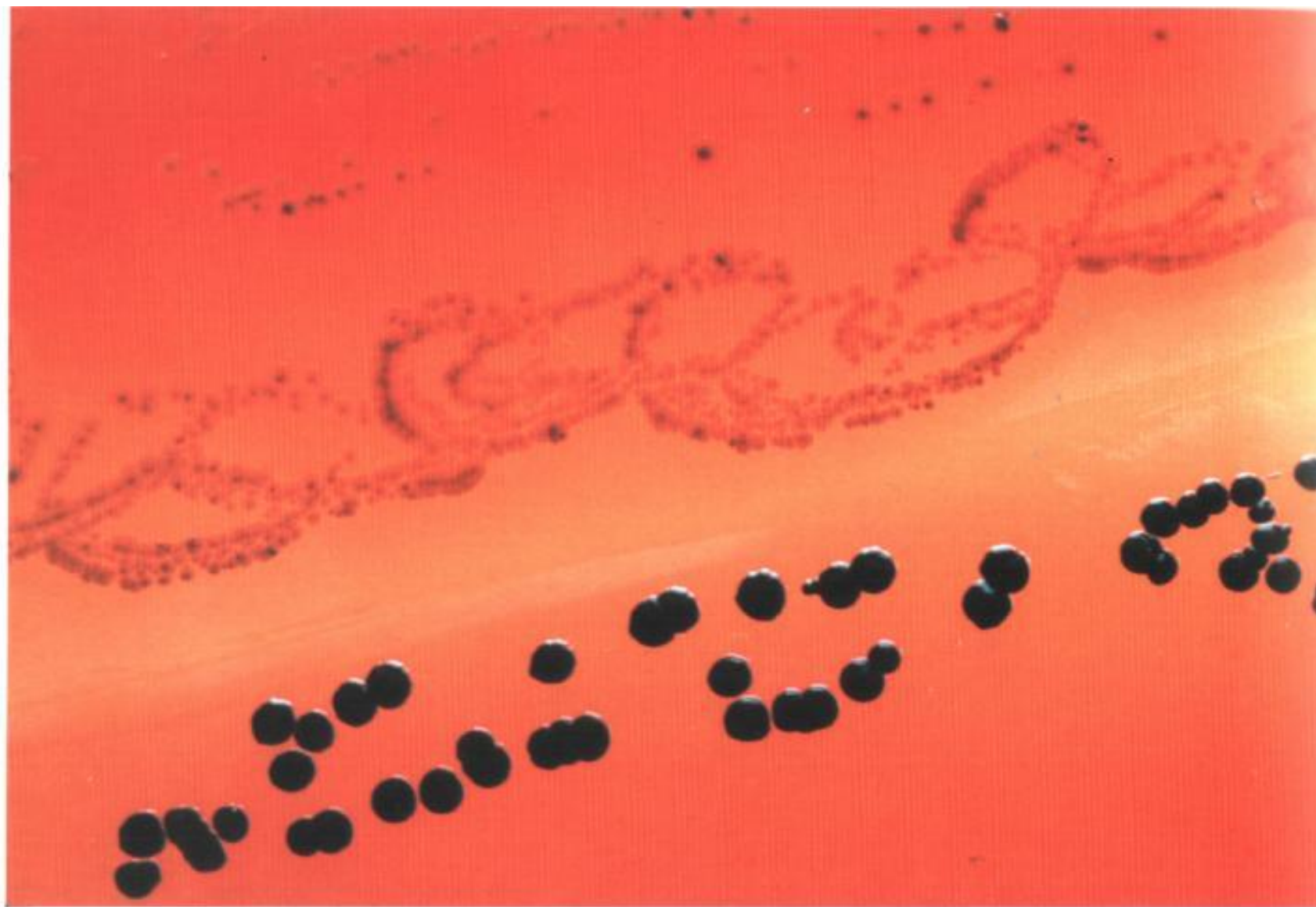
 - серовари*

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



Рис. 3.89. Колонии *C. diphtheriae gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

Біо-вар	Форма колоній	Розмір колоній	Ріст на бульйоні	Крохмаль	Глікоген	Гемолиз
gravis	R-форми колоній	2-3 мм	плівка на поверхні, бульйон прозорий	+	+	-
mitis	S-форми колоній	1-2 мм	рівномірне помутніння та осад	-	-	+
Inter-medius	R та S -форми колоній, RS-форми	до 1 мм	Помутніння, просвітління та осад	-	-	-



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*.

Важливі диференційно-діагностичні ознаки *Corynebacterium diphtheriae* :

- продукують цистіназу (позитивна цистіназна активність проявляється у вигляді потемніння середовища Пізу у вигляді “хмаринки” за ходом уколу)
- не утворюють уреазу.

Ці ознаки допомагають відрізнити збудник дифтерії від дифтероїдів, котрі не утворюють цистінази, але утворюють уреазу, яка розчеплює сечовину.



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

Молекула **дифтерійного екзотоксину** складається з двох фрагментів: А та В.

- **фрагмент А** проявляє ферментативну активність
- **фрагмент В** виконує протективну функцію.

Фрагмент **В** токсину зв'язується з рецептором клітини, а фрагмент **А** потрапляє всередину клітини. Токсин викликає інактивацію ферменту **трансфераза II**, який відповідає за подовження поліпептидного ланцюга на рибосомах.

Це призводить до припинення синтезу білка та загибелі клітини.

Дифтерійний токсин відноситься до сильно-діючих бактеріальних токсинів і поступається лише ботулінічному та правцевому токсинам.

Після додавання до токсину 0,3-0,4% розчину формаліну та наступної витримки при 38-40°C протягом 3-4 тижнів, він перетворюється в **анатоксин**, котрий зберігає антигенні та імуногенні властивості, проте втрачає токсичні властивості.

Використовується для штучної імунізації з метою утворення **антитоксичного імунітету**.

Токсигенність коринебактерій дифтерії пов'язана з явищем **лізогенії**.

Помірні фаги, в геномі яких містяться **tox+гени**, вбудовуючись в нуклеїнову кислоту бактеріальної клітини, викликають її лізогенізацію.

Лізогенні бактерії, що містять у своєму геномі профаг, набувають здатності продукувати екзотоксин.

Нелізогенні штами бактерій токсину не утворюють, тобто є нетоксигенними .

Антигенна структура

- групоспецифічні термостабільні соматичні О-антигени (полісахариди).
- варіантноспецифічні термолабільні поверхневі К-антигени (білки).
- токсини, що утворюються різними штамми біоварів *gravis* та *mitis* не відрізняються за антигенною структурою.

Резистентність *C.diphtheriae*

Відрізняються значною стійкістю до факторів оточуючого середовища:

- на плівках, видалених з мигдаликів хворих, зберігається до 3-5 міс.
- в пилу - до 2 міс.
- на дитячих іграшках - декілька діб.

Чутливий до дії високої температури та дезінфікуючих речовин (при кип'ятінні гине протягом декількох хвилин, 5% розчин карболової кислоти викликає їх загибель через 1 хв.).

Епідеміологія

Джерелом дифтерії є:

- людина, хвора маніфестною формою;
- здоровий бактеріоносій (має основне значення в епідеміологічному процесі).

Дифтерія не може бути ліквідована завдяки існуванню здорового носійства, яке активно підтримує епідемічний процес (кількість носіїв серед населення під час епідемічного благополуччя становить 2-5%).

Правільніше говорити про

- зведення захворюваності до одиничних випадків,
- попередження тяжких форм та летальних випадків,

що пов'язано з вакцинопрофілактикою.

**Наявність носійства не дозволяє
будувати оптимістичні прогнози відносно
дифтерійної інфекції.**

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

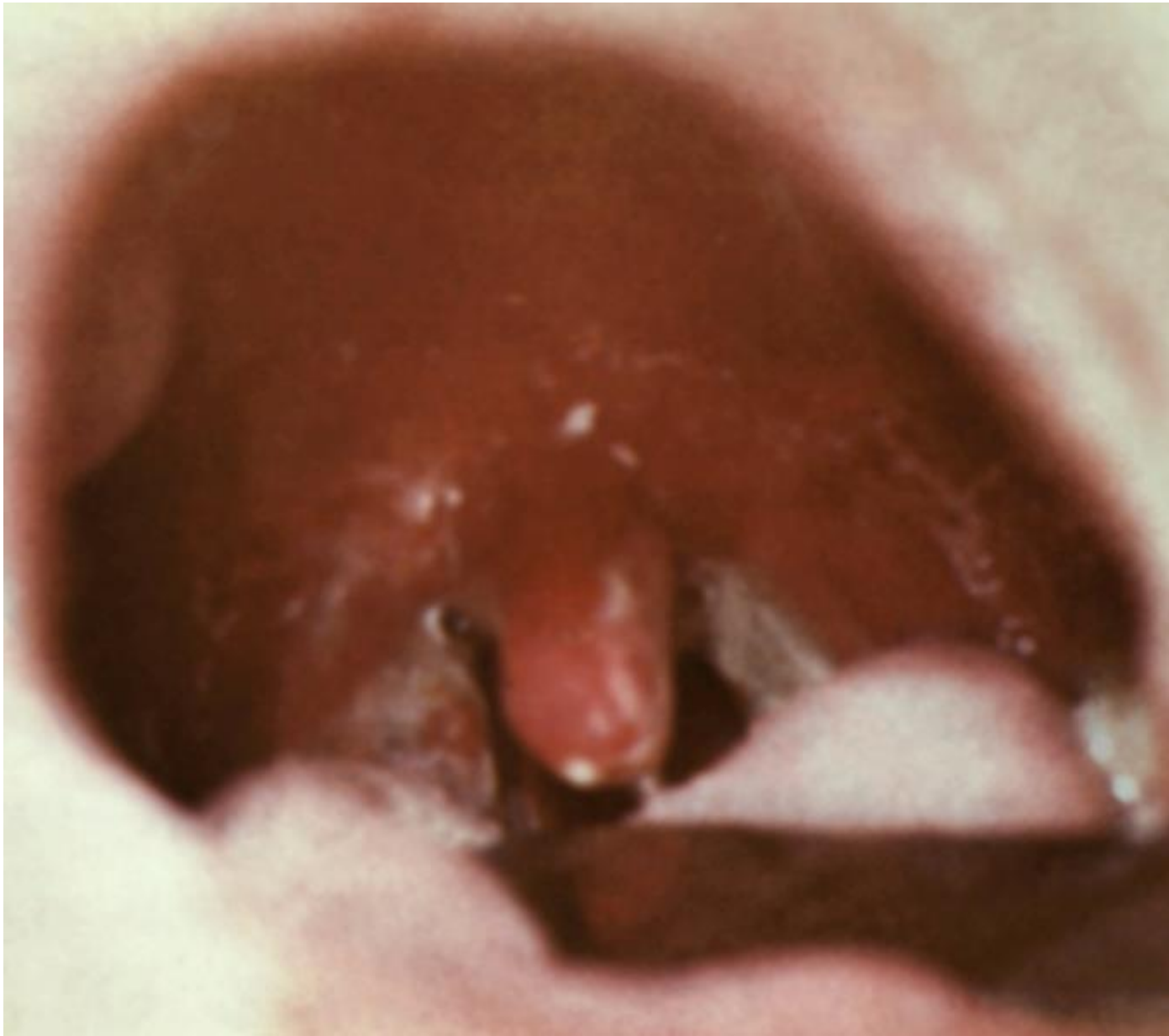
- слизова оболонка зіву, носу, гортані, трахеї, бронхів.

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.











(d)

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**). Фібринозна плівка не міцно зв'язана з підлеглою тканиною, легко відокремлюється, може відходити при кашлі.

При механічному закритті дихальних шляхів виникає достеменний **дифтерійний круп**.

У зіві, глотці, мигдаликах (багатошаровий плоский епітелій), виникає **дифтерійне запалення**. Фібринозна плівка щільно зв'язана з підлеглою тканиною.

Токсин спричиняє не лише місцеву дію, але і викликає явища загальної інтоксикації. Виникають запально-дегенеративні процеси у м'язі серця, нервових закінченнях, тканині наднирників та нирок.

Клінічна картина

Місцеві симптоми токсичних форм:

- набряк тканин мигдаликів, дужок, м'якого піднебіння,
- фібринозні нальоти,
- збільшення регіональних лімфатичних вузлів,
- набряк підшкірної основи шиї,
- дифтерійний круп (за умов ураження дихальних шляхів).

Стадії крупу:

- 1) крупозного кашлю,
- 2) стенозу,
- 3) асфіксії

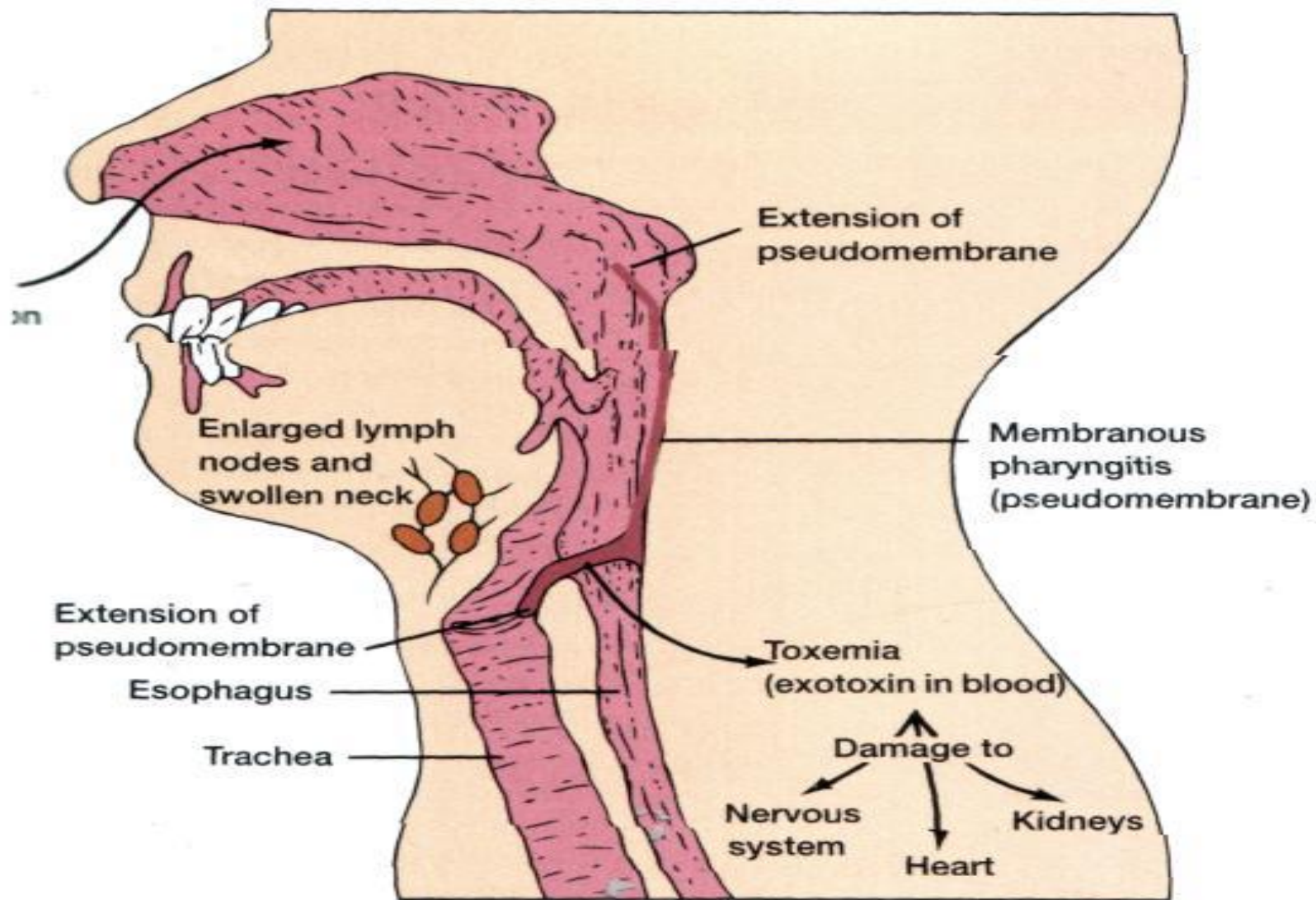


До загальних симптомів відносяться:

- підвищення температури до 40°C,
- блювота,
- сонливість,
- кволість,
- адинамія,
- головний біль.

При токсичних формах (а також за умов запізно розпочатій специфічній терапії у випадку локалізованих форм) відмічаються *ускладнення дифтерії*:

- ураження серцево-судинної системи (міокардит),
- нервової системи (параліч м'язів м'якого піднебіння та глотки),
- нирок (токсичний нефроз).



Імунитет

Несприйнятливість до дифтерії залежить від вмісту антитоксину у крові.

Антитоксичний імунітет виключає розвиток важких токсичних форм дифтерії, але не запобігає колонізації збудника на слизовій носоглотки з наступним розвитком легких локалізованих форм дифтерії і бактеріоносійства.

Характер імунітету:

- антиінфекційний,
- антитоксичний,
- антибактеріальний.

Лабораторні дослідження

Матеріал для дослідження:

- слиз та плівки із зіву, носу,
- виділення з очей, вульви, шкіри

З метою виявлення носіїв:

- виділення слизової оболонки зіву та носу.

Використовують бактеріоскопічний та бактеріологічний методи.

Бактеріоскопічний метод

Використовується як орієнтовний. Мазки фарбують метиленовим синім за Лефлером, за Нейсером та за Грамом. У мазках з плівки дифтерійні коринебактерії розташовуються у вигляді поодиноких паличок, під кутом подібно до римської цифри V, рідше скупченнями, що нагадують повсть або розкидані булавки. Забарвлення за Лефлером та за Нейсером дозволяє виявити зерна волютину.

Хибнодифтерійні бактерії та дифтероїди розташовуються паралельно частоклом и звичайно позбавлені зерен волютину.

Бактеріологічний метод

Проводять посів матеріалу на кров'яно-телуритові або сироватко-телуритові середовища (Клауберга, Мак Леода, Тинсдаля).

Використання цих середовищ має деякі переваги перед середовищем Лефлера. При цьому зменшується ріст супутньої мікрофлори, що створює сприятливі умови для росту дифтерійної палички. Тобто, підвищується висіваємість, скорочуються строки виділення чистої культури для подальшої ідентифікації та визначення токсигенності.

Типові колонії пересівають на середовище Лефлера для отримання чистої культури. Виділену культуру ідентифікують за культуральними, біохімічними, серологічними та токсигенними ознаками.

Ставлять реакцію аглютинації за допомогою, якої встановлюють серовар.

Велике значення має визначення токсигенності. Дифференціацію токсигених та нетоксигених штамів проводять методом *in vitro* (**реакція преципітації в агарі**) та *in vivo* (шляхом зараження морських свинок).

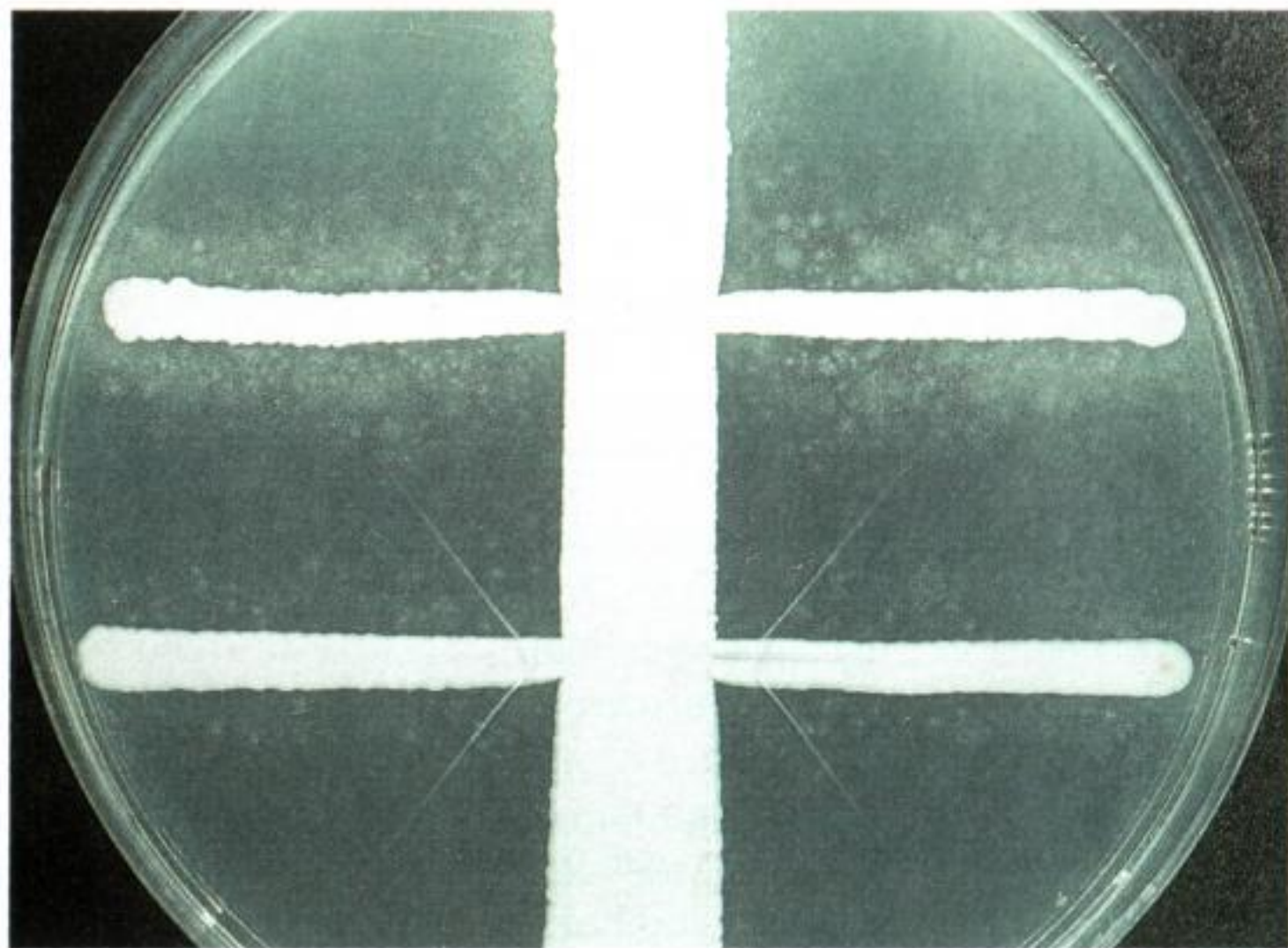
4. *Визначення токсигенності*

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.



Оцінка антитоксичного імунітету:

Дифтерія розвивається тільки у осіб, які не мають антитоксину або з низькими його концентраціями – менш 0,03 АО/мл.

Кількість антитоксину визначається:

- Реакцією пасивної гемаглютинації з антигеном діагностиком (РПГА);
- Реакцією нейтралізації цитотоксичної дії дифтерійного токсину у культурі тканин;
- Радіоімунним аналізом (РІА);
- Імуноферментним аналізом (ІФА).

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.

Антибактеріальна терапія не зменшує дифтерійну інтоксикацію,

проте при тяжких формах дифтерії у поєднанні з вторинною бактеріальною інфекцією, рекомендується застосування антибіотиків.

В окремих випадках для утворення власного антитоксину рекомендується вводити дифтерійний анатоксин.

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)*.

Одним із суттєвих недоліків специфічної профілактики дифтерії є те, що використання анатоксину призводить до утворення анитоксичного імунітету, але не впливає на збудник захворювання, отже, не попереджає носійство токсигенних та нетоксигенних коринебактерій у щеплених людей.

Наукова класифікація мікобактерій:

- 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



R. Koch

У 1882 р. німецький вчений ***R. Koch*** надав вичерпні докази інфекційної природи туберкульозу.

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.

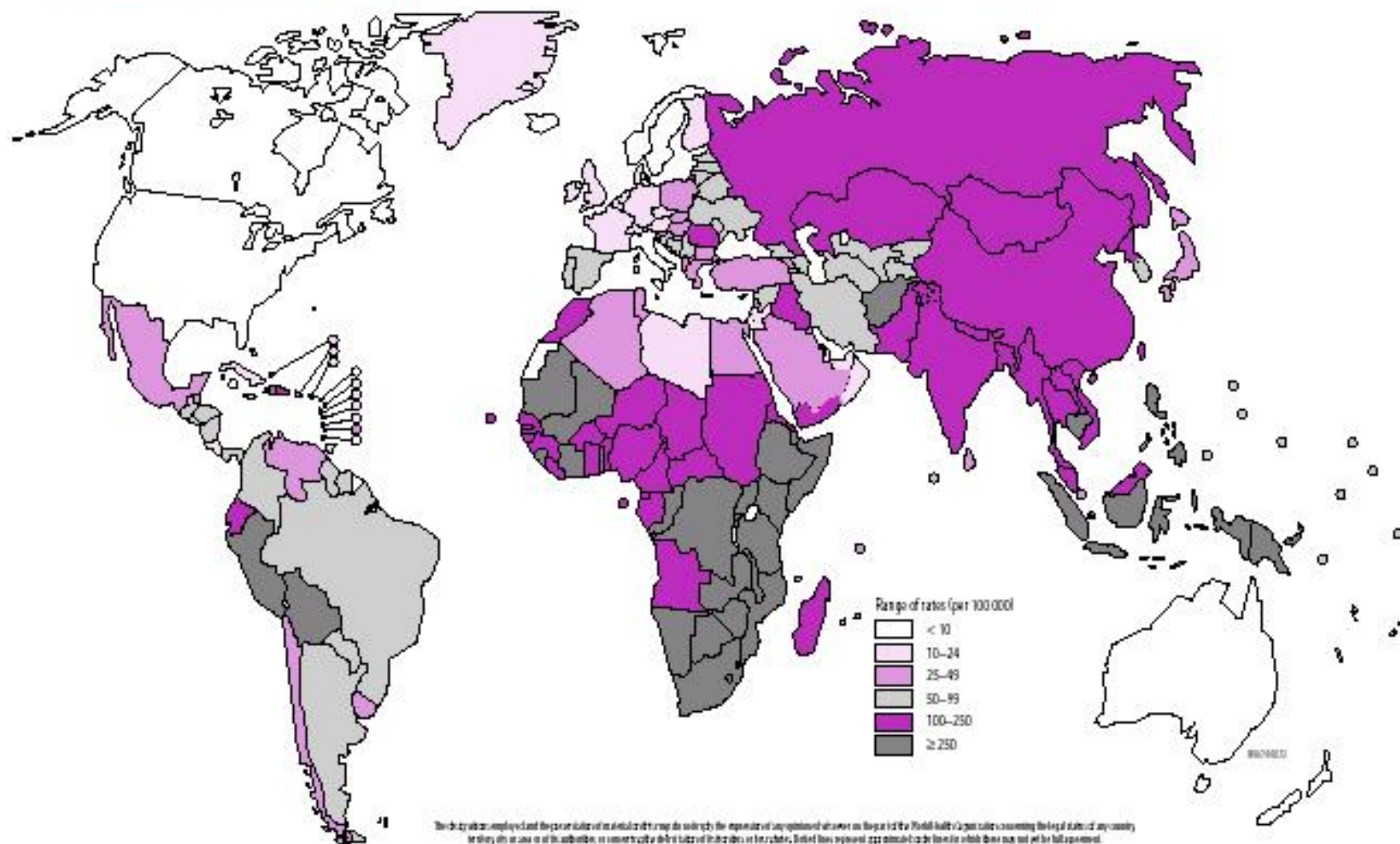
За даними ВООЗ, **2 млрд.** людей (третина населення Землі) **інфіковано.**

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

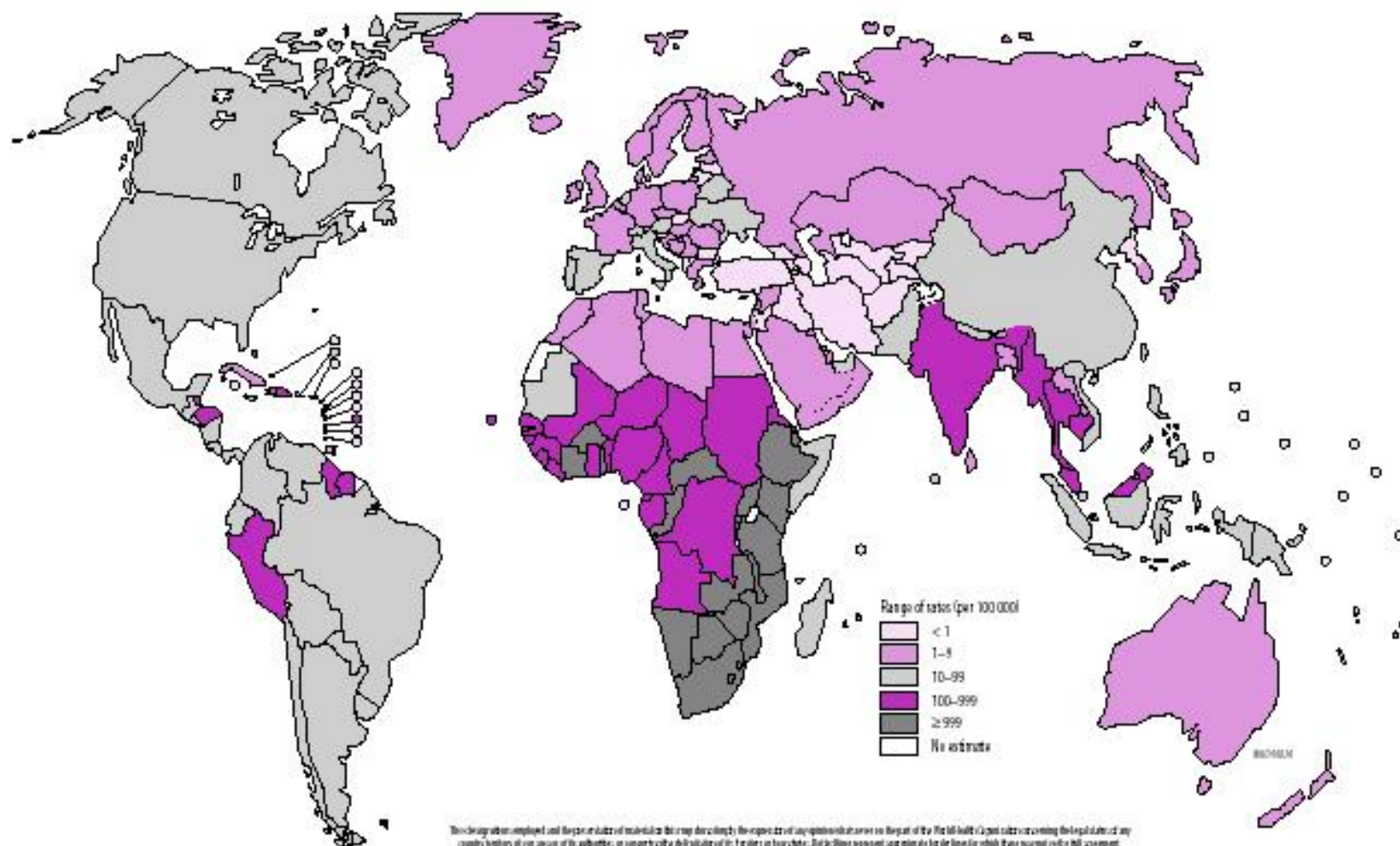
На земній кулі **15 -20 млн.** хворих на туберкульоз, що виділяють збудник туберкульозу і представляють епідеміологічну небезпеку для населення.

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 легeneвими кровотечами, тяжкою інтоксикацією, великою кількістю мокротиння, що виділяється, значним виснаженням організму.

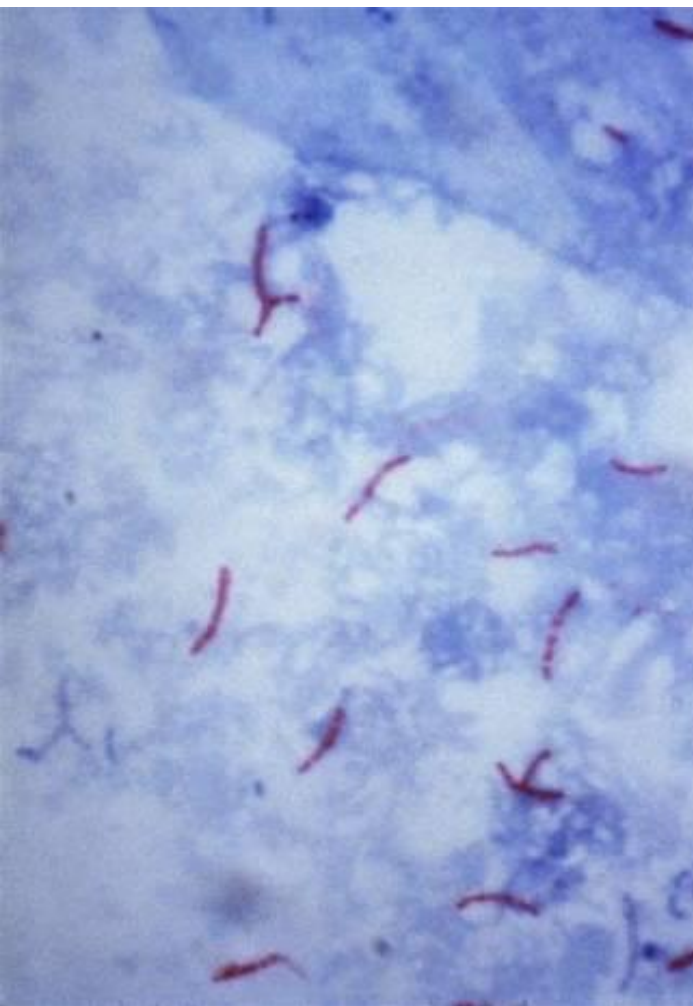
Війни, голод, економічні кризи, безробіття викликають ріст захворюваності та смертності від туберкульозу.

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).



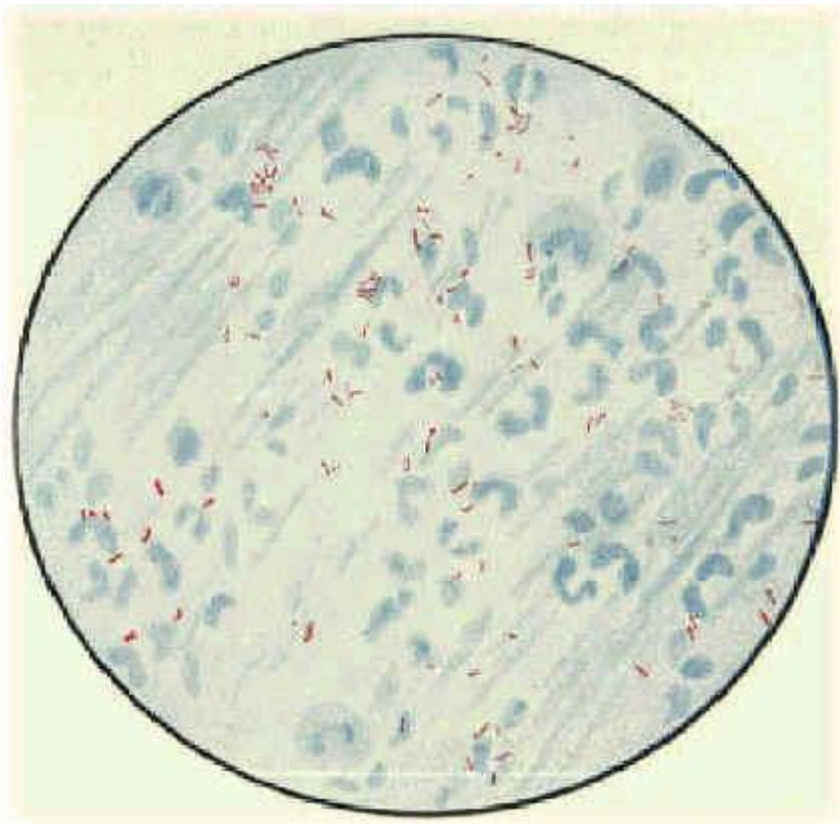
Мікобактерії туберкульозу - грампозитивні прямі або трохи вигнуті палички. До складу мікобактерії входять ліпіди (10-40%), миколова та інші жирні кислоти, білки, полісахариди.

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.



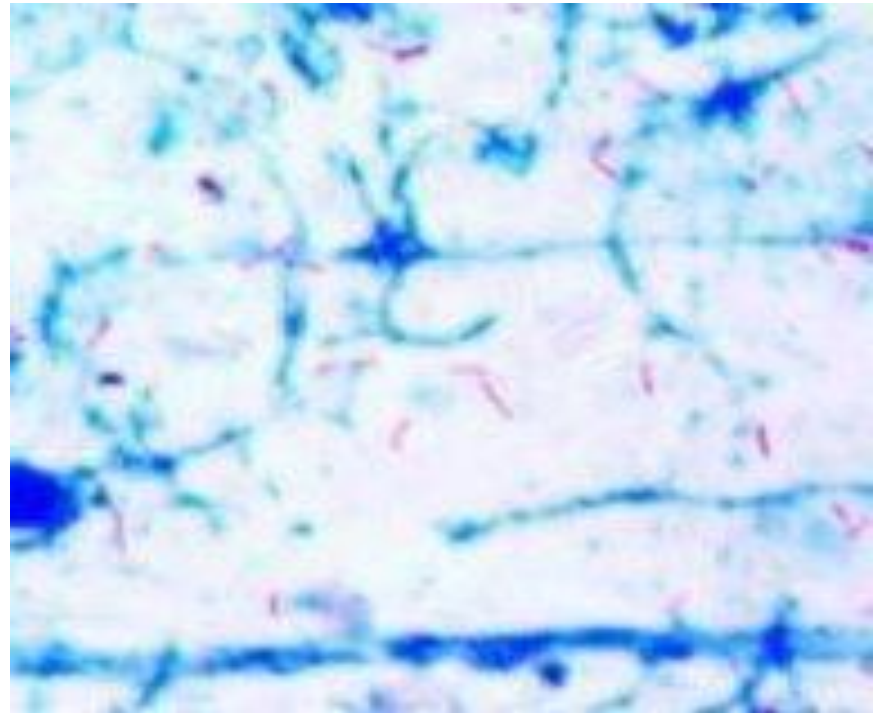
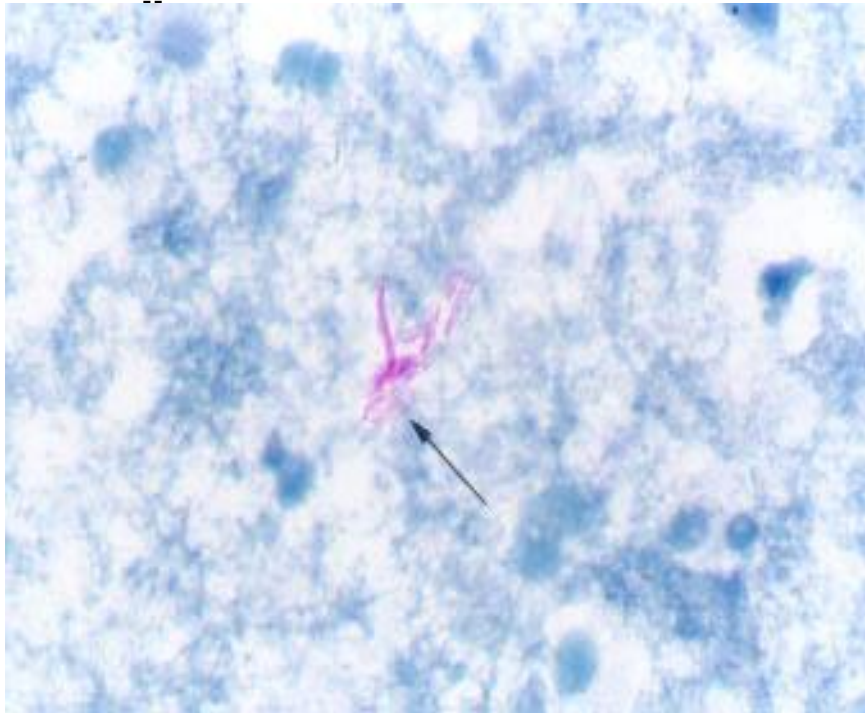
Туберкульозні мікобактерії характеризуються

“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 кислостійкі мікобактерії туберкульозу погано сприймають звичайні анілінові барвники. За Грамом не фарбуються, але Г +



Для виявлення кислостійких 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 зморшкувата 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.tuberculo- sis	M.bovis	M. avium	M.kansasii	M.scrofulac- eum
Уреаза	+	+	+	-	+	+
Піразин- амідаза (в агарі)	+	+		+	+ -	+
Кисла фосфотаза	+	+	+	-	+	-
Відновлення нітратів	-	+	-	-	+	+ -
α-естераза	-	+	+	+	-	+ -
Каталаза	+ -	-	-	+ -	+	+
Акумуляція ніацину		+				
Гідроліз твіна (ч/з 10 діб)	+	+ -			+	

Патогенність

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**).

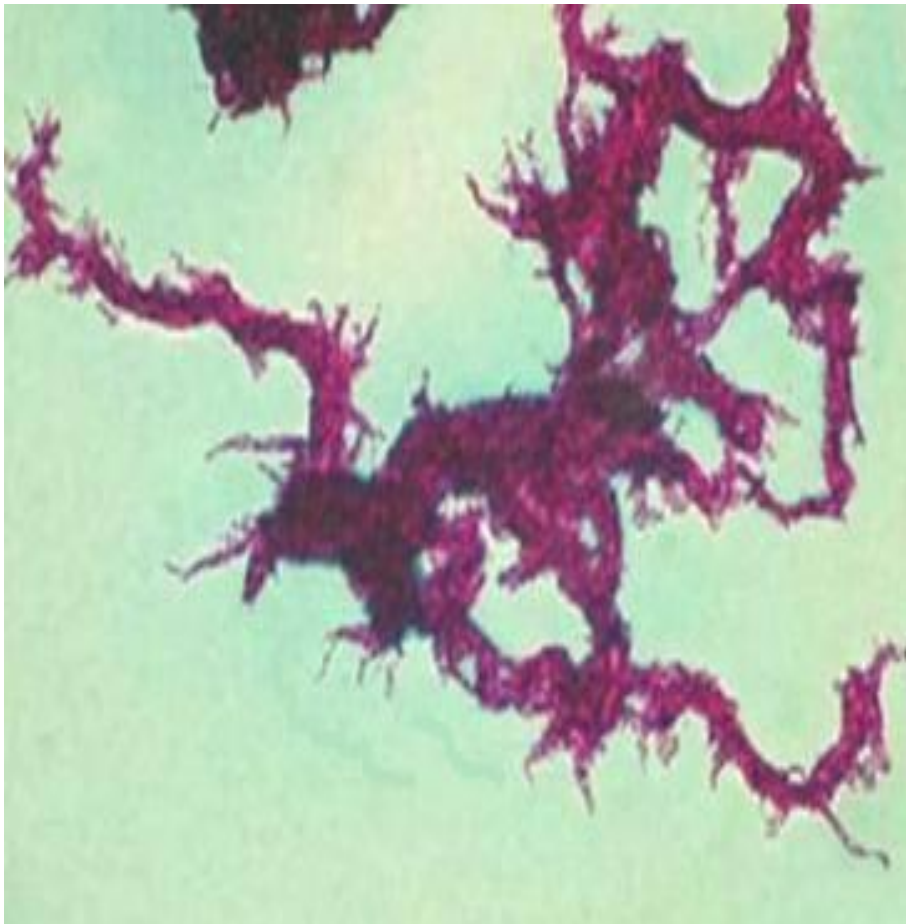


Туберкулін не має місцевої дії на шкіру здорового організму.

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**.

Епідеміологія

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).

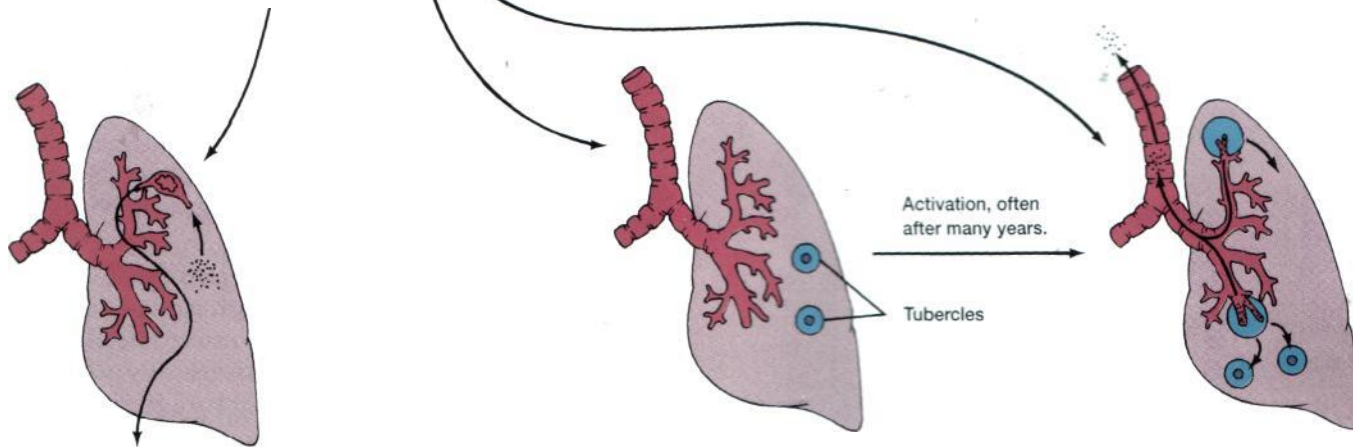
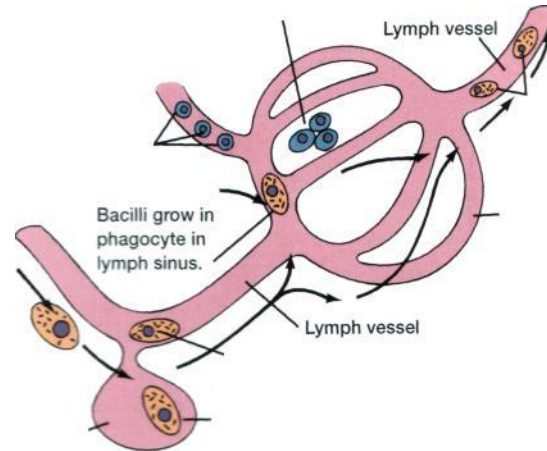
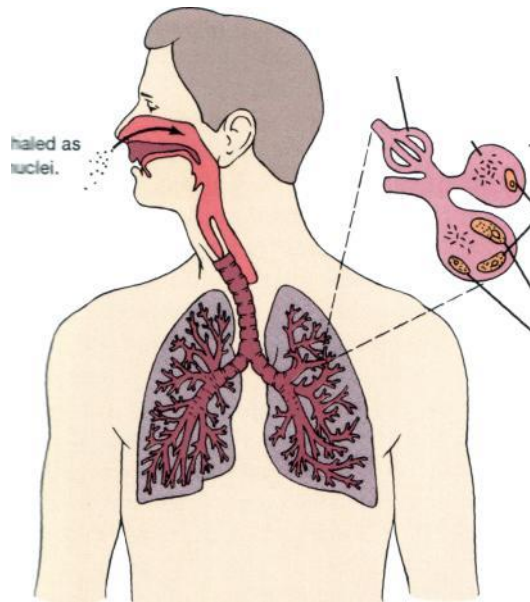
Потім розвивається специфічний запальний процес у **регіональних лімфатичних вузлах** і спостерігається **сенсibiliзація організму**.

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.



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**».

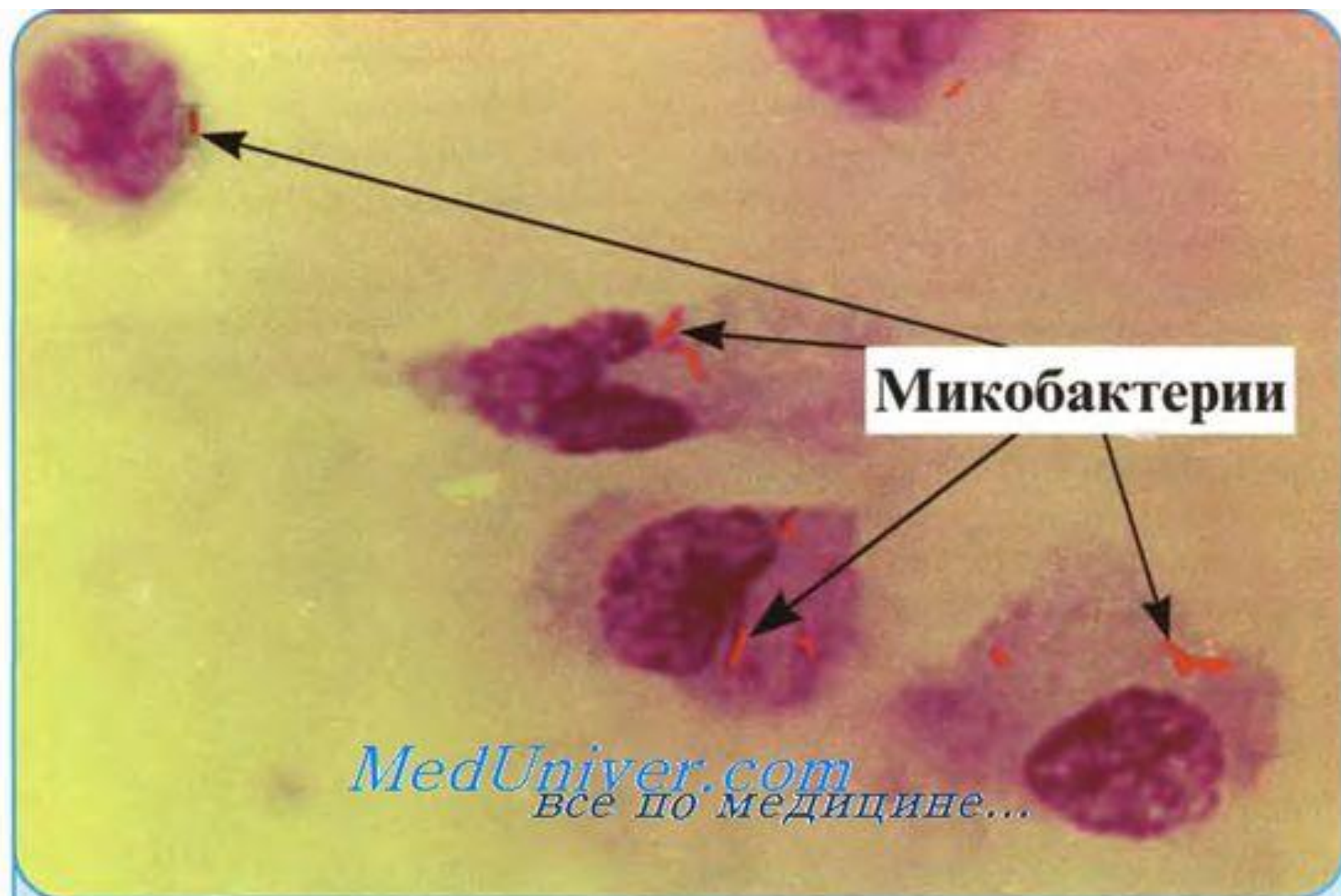


Рис. 3.93. Незавершенный фагоцитоз микобактерий. Окраска по Цилю—Нильсену

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

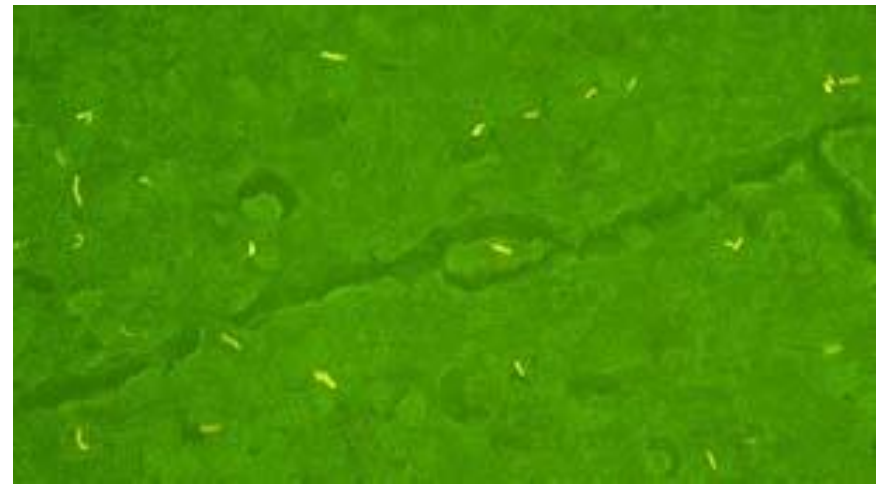
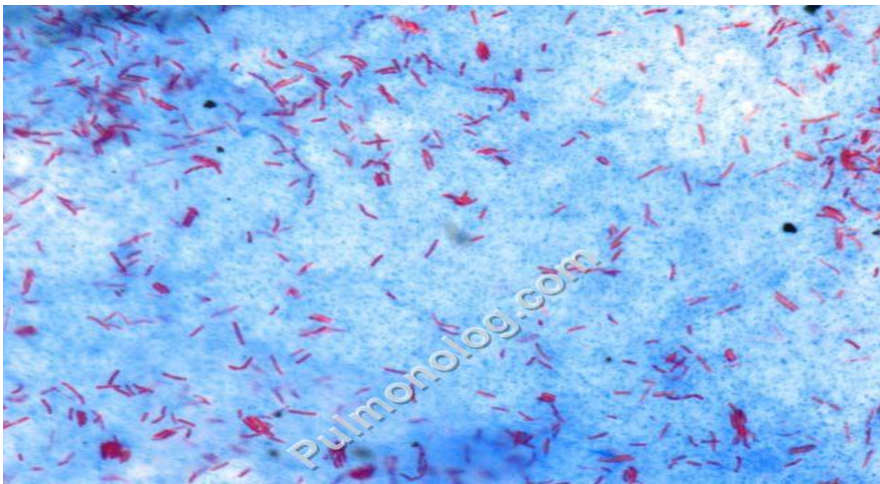
Досліджуваний матеріал:

Мокротиння, сеча, гній та інше.

I етап

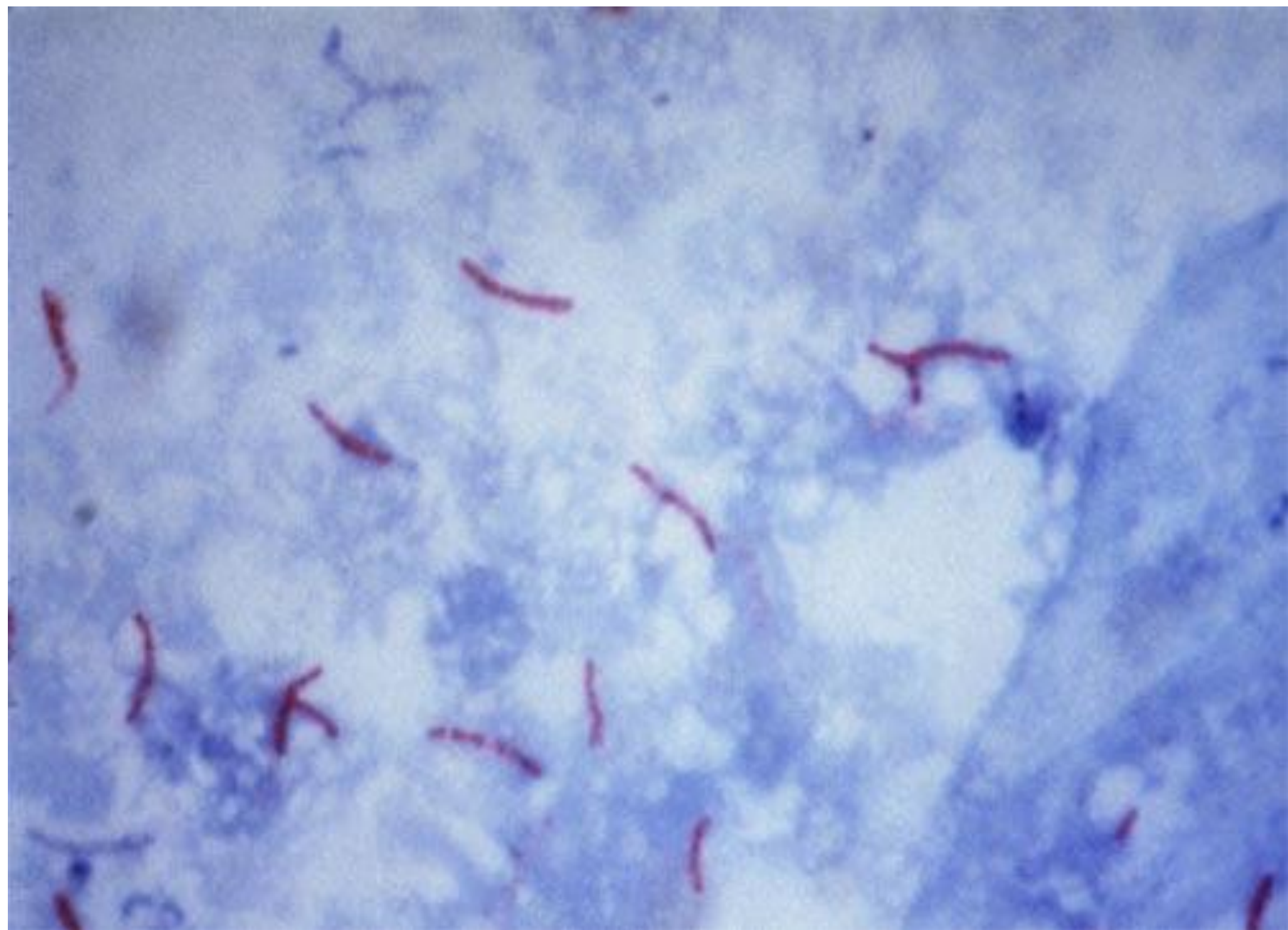
1. Орієнтовна мікроскопія

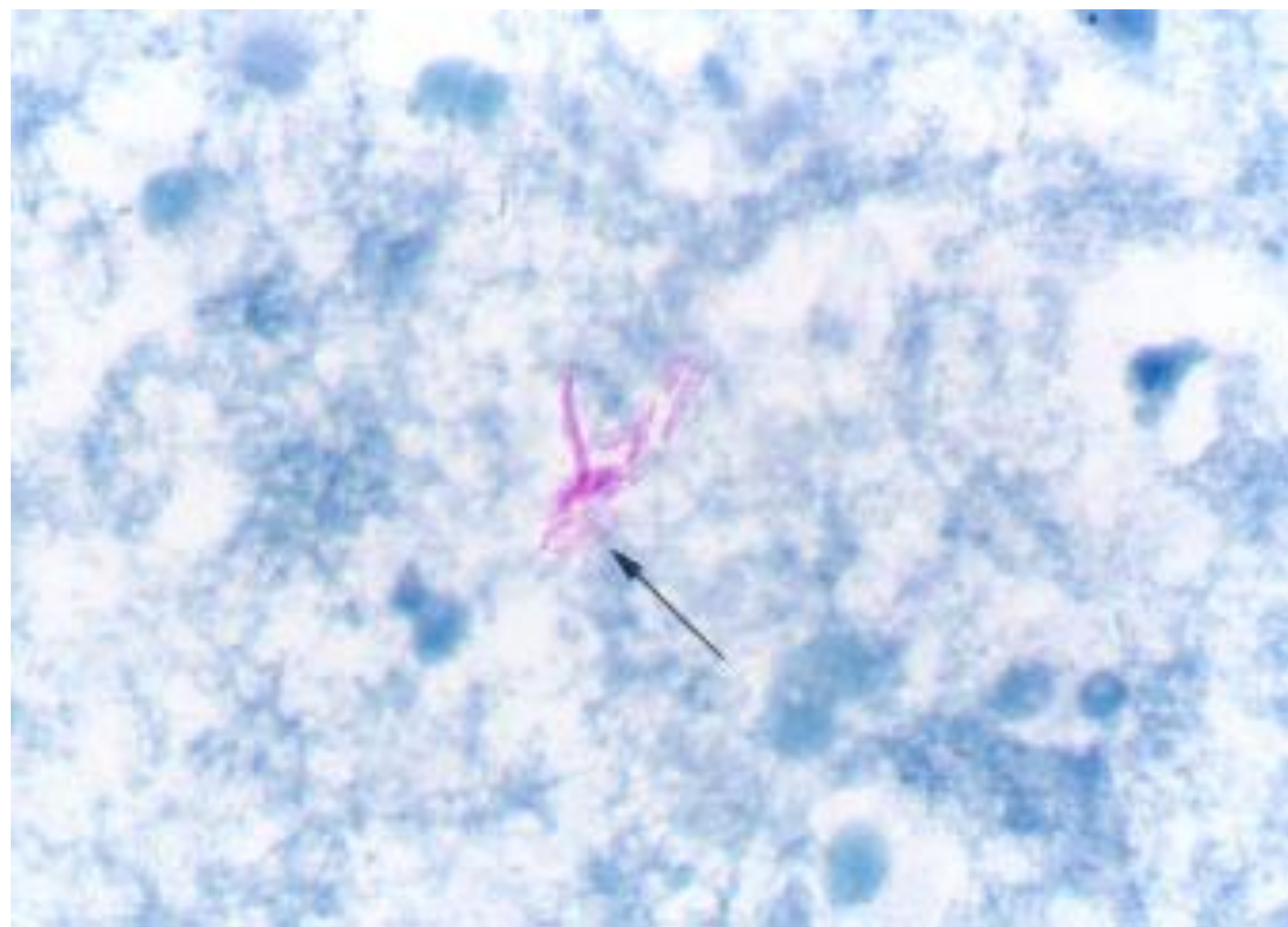
- забарвлення за Цілем – Нільсеном: на синьому фоні яскраво-червоні палички, які лежать окремо або скупченнями;
- із застосуванням люмінесцентних барвників.

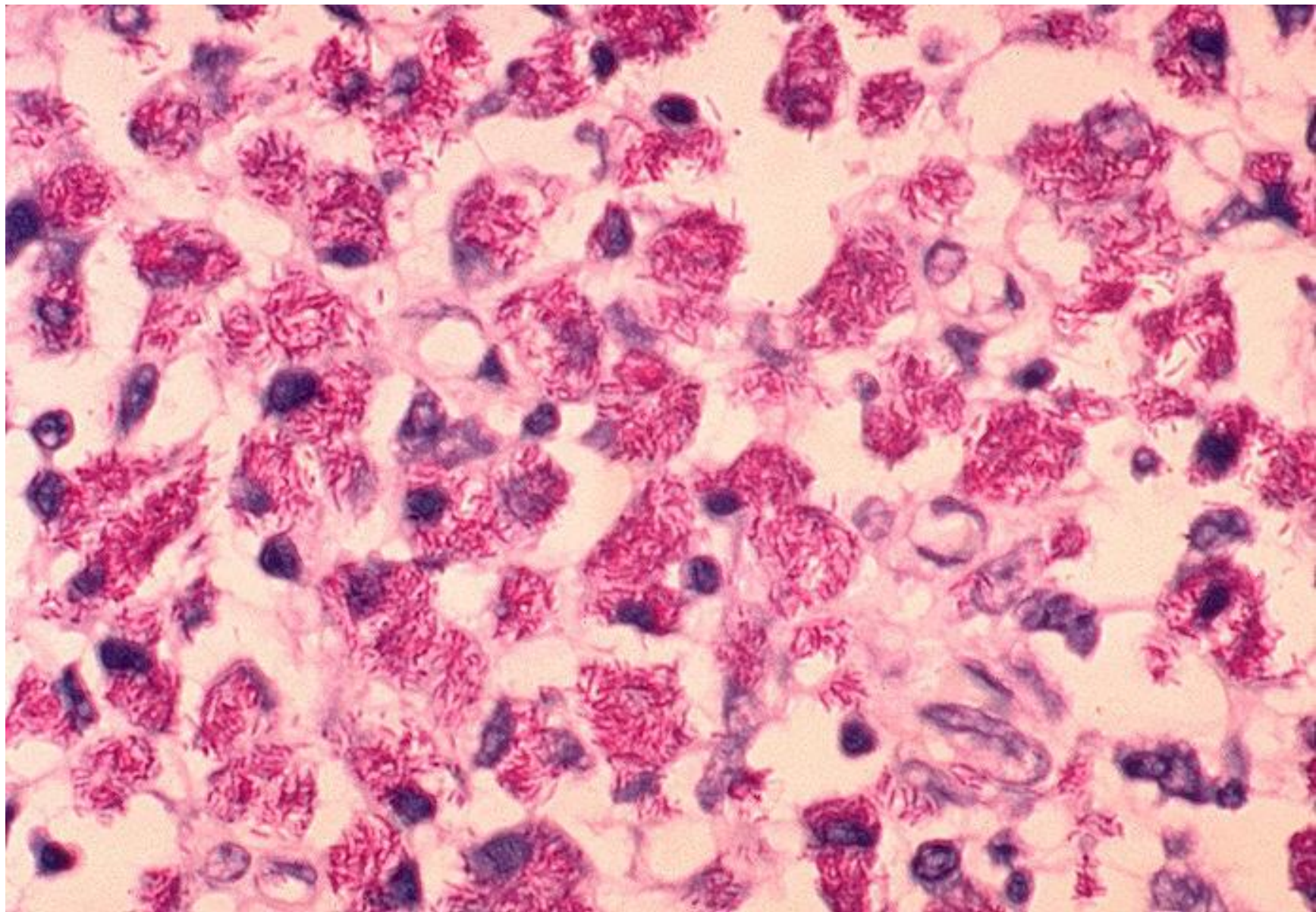


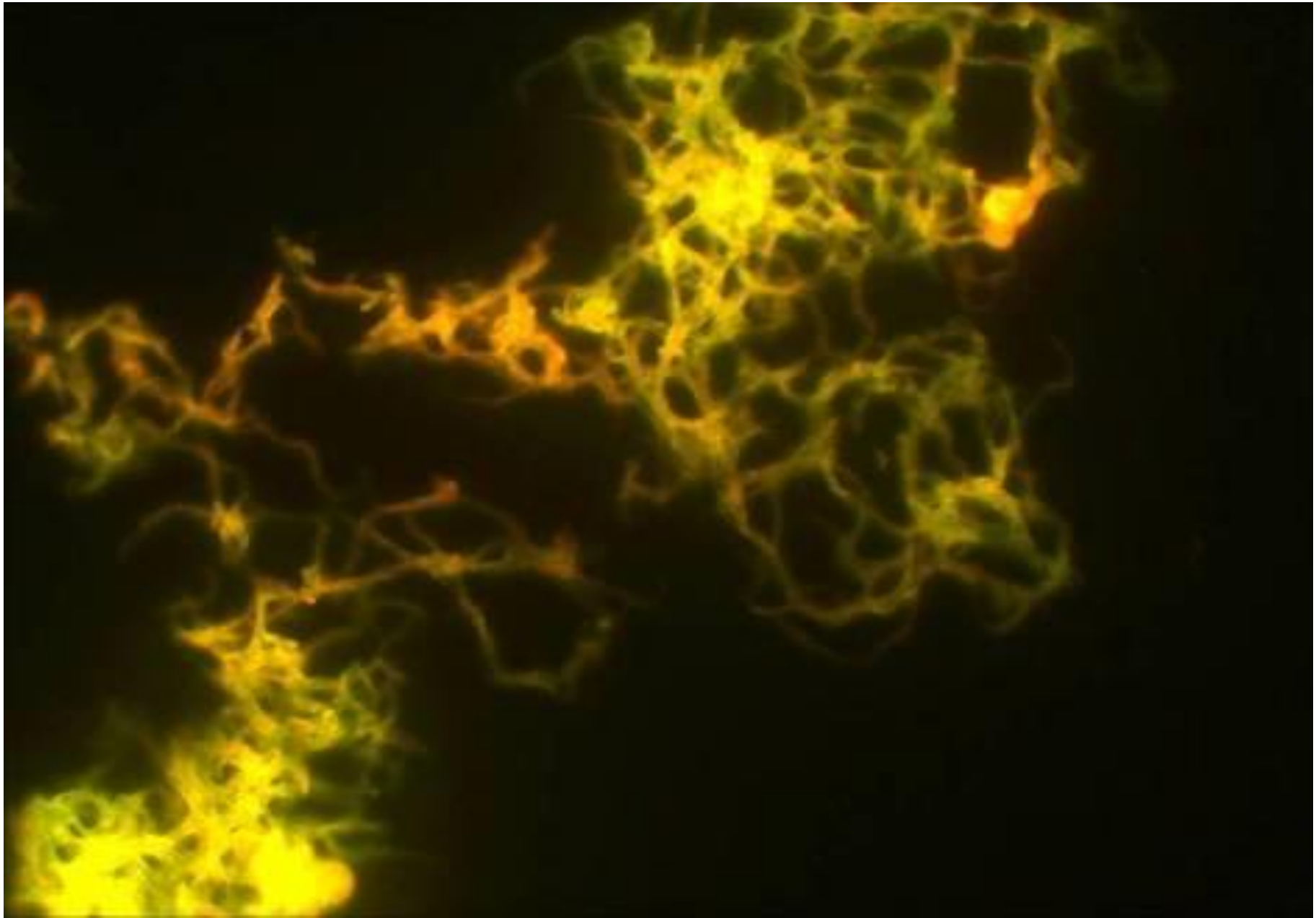
Недоліки мікроскопічного метода:

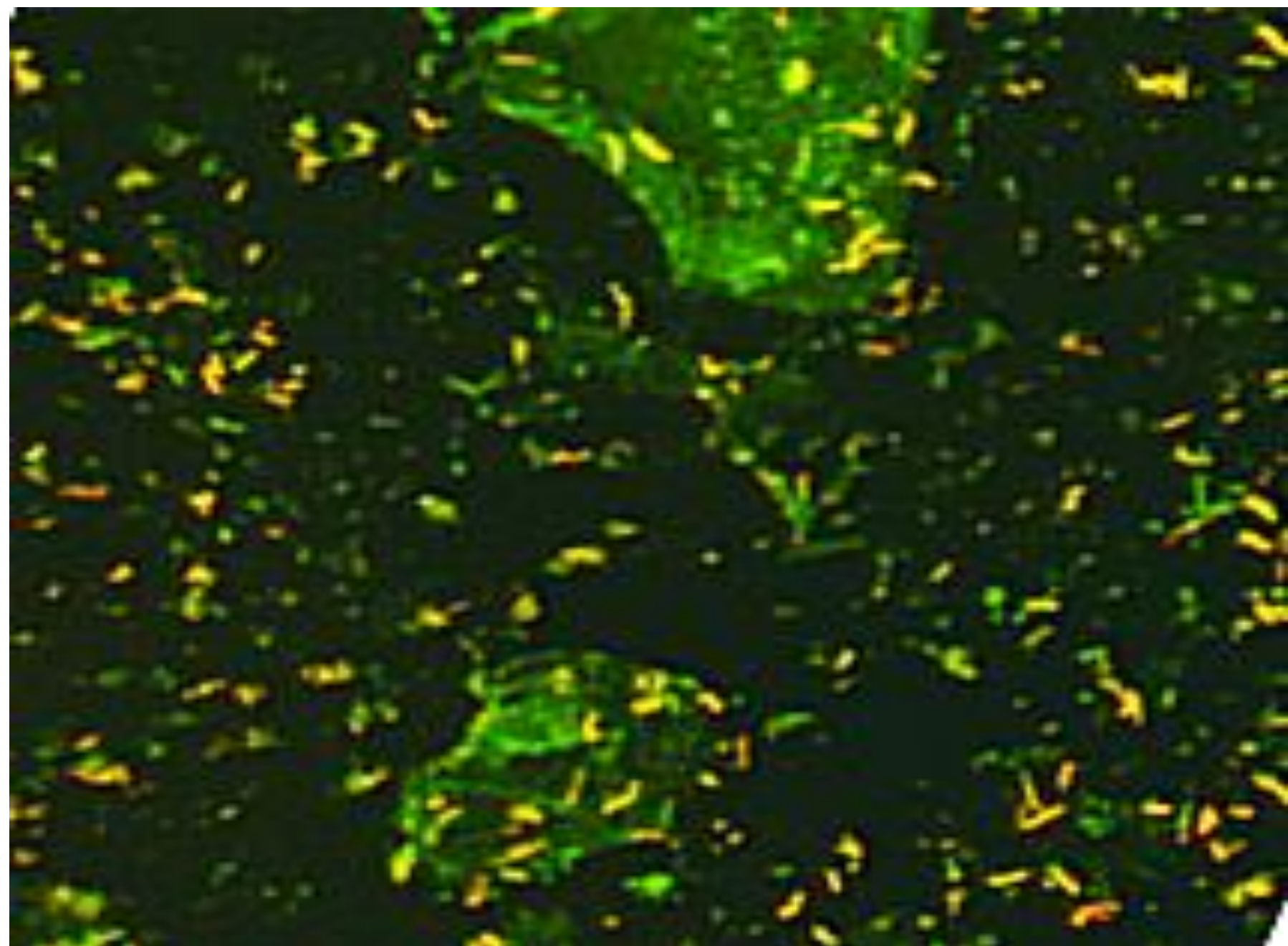
- туберкульозні палички можна знайти, якщо їх багато у досліджувальному матеріалі (100 тис. на 1 мл),*
- існують атипові мікобактерії, що не викликають туберкульоз (викликають мікобактеріози).*









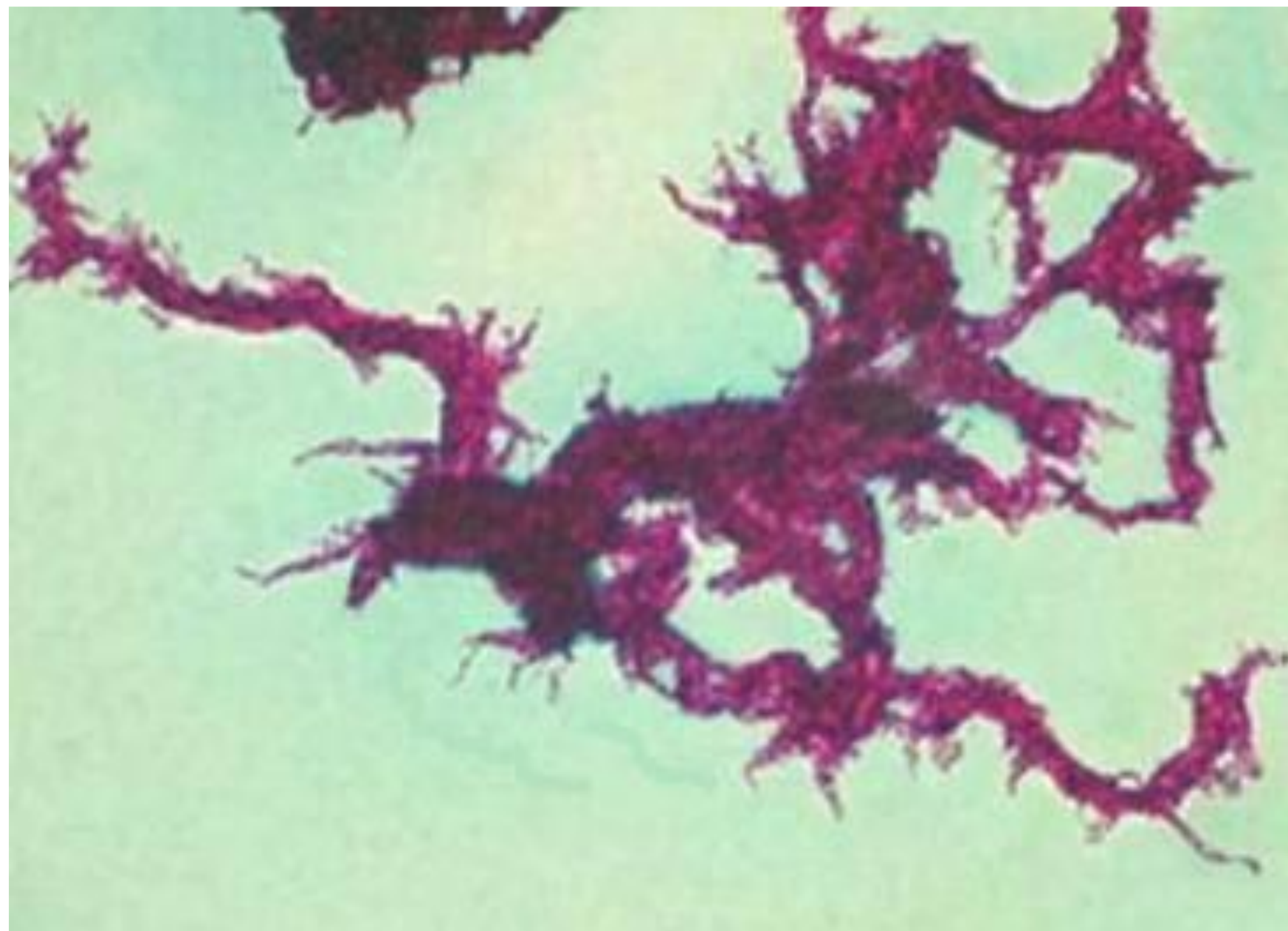


2. Бактеріологічний метод є основним у лабораторній діагностиці туберкульозу

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 туберкуліновою пробою** з інтервалом в 5-7 років до 30-літнього віку.

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