



Кафедра фтизиопульмонологии
МГМСУ им. А.И.Евдокимова

ЛЕКЦИЯ:

**ВОЗБУДИТЕЛЬ
ТУБЕРКУЛЁЗА**

**Заслуженный врач РФ
Заведующий кафедрой, профессор
Мишин Владимир Юрьевич
2013 год**

ВВЕДЕНИЕ
ВО
ФТИЗИАТРИЮ

Туберкулёз самый страшный враг человека
от появления до настоящего времени



«Каждые
10 секунд
в Мире
от туберкулёза
умирает
один человек»
(ВОЗ, 2012)

Туберкулёз относится к наиболее древним заболеваниям на Земле

- ▶ **150-65 миллионов лет назад** у **динозавров** был туберкулёз, подтвержденный характерным поражением окаменелых костей (Джон Такрей – *Возраст Земли – Институт геологических наук – Лондон – 1980. – С. 21.*)!
- ▶ **400-300 тысяч лет назад** у **неандертальцев** был туберкулёз. Ричард Лауб из Музея науки Буффало (США, 2005) сообщает о характерном поражении костей у каждого четвертого скелета!
- ▶ **50-11 тысяч лет назад** у **мамонтов**, живших в Америке был туберкулёз. Брюс Ротшильд (США, 2001) обнаружил у 59 из 113 (у 52%) останков скелетов характерное поражение костей (одна из причин их вымирания?)!
- ▶ **10-7 тысяч лет назад** у **первобытного человека** был туберкулёз, при раскопках погребений были обнаружены скелеты с характерными поражениями костей (Дуглас Хорник – *Туберкулёз. – Стенфорд. – 1998. – С. 208-217!*)

Туберкулёз социальная болезнь

- во всех войнах XIX столетия в Мире людей погибло в 2 раза меньше, чем умерло от туберкулёза;
- в первую мировую войну Россия потеряла убитыми 1700 тыс. человек, а от туберкулёза умерли 2 миллиона;
- противотуберкулёзные препараты появились только в 50-х годах XX века.

«Туберкулёз – это слёзы нищеты
выплаканные внутрь»

Р. Кох (1890)



Туберкулёз в искусстве

Сандро Боттичелли

Фрагмент фрески «*Рождение Венеры*»

во Флорентийском соборе (V век)



На фреске изображена ***Симонетта Веспучи***, супруга банкира из семейства Медичи. Умерла от туберкулёза в возрасте 22 лет.

На картине видно резко опущенное левое плечо в следствии туберкулезного поражения плечевого сустава.

В.Л. Боровиковский



Типичные симптомы
интоксикации
при туберкулезе:

- бледное лицо;
- «нездоровый
румянец щек»;
- заостренные черты
лица;
- припухлые глаза;
- «томное выражение
глаз».

Портрет М.И. Лопухиной – 1797 год.
Умерла через год в возрасте 20 лет **от туберкулёза**

Изображение больной чахоткой,
как воплощение неотвратимой смерти, прошло
через все искусство XIX века



Туберкулёз в литературе

▶ *Туберкулёзом* болели
А.П. Чехов,
В.Г. Белинский,
Н.А. Добролюбов,
Ф. Шопен и *мн. др.*

▶ В 1910 году средний
возраст людей умерших
от туберкулёза
составлял 33 года
(возраст Христа).

▶ Если в настоящее
время литературные
герои *нередко умирают
от наркотиков и
СПИДа*, то персонажи →
Ф.М. Достоевского,
И.С. Тургенева,
Н.А. Некрасова,
А.П. Чехова,
Ч. Диккенса,
А. Дюма *погибали от
туберкулёза.*

Туберкулёз – международная глобальная проблема, по данным ВОЗ (2013):

- все взрослое население мира к **40 годам** жизни в **100%** случаев инфицированы туберкулёзом и из них в течении жизни **5-10%** человек заболеют туберкулёзом, – **а при ВИЧ-инфекции – 80-90%**.
- в мире туберкулёзом болеют ~ **20 млн.** человек и каждый год регистрируют от **9** до **10 млн.** новых случаев заболевания.
- туберкулёз занимает **4 место** в мире среди всех причин смерти.
- в мире ежегодно от туберкулёза умирают **5-7 млн.** человек, что составляет более **52 тысячи** смертей в неделю или более **7 тысяч** каждый день или – **одна смерть каждые 10 секунд.**

В России туберкулёз – общемедицинская и междисциплинарная проблема здравоохранения

- ▶ В России ежегодно от туберкулёза умирает **≈ 30 000 человек.**
- ▶ С 2000 г. умерло **≈ 350 000 человек.**
- ▶ Ежедневно от туберкулёза умирает **92 человека,** а каждый час – **3-4 человека.**
- ▶ Доля больных, смерть которых наступила от туберкулёза составляет **85%** от всех умерших от всех других инфекционных и паразитарных заболеваний, *в том числе и от ВИЧ-инфекции.*
- ▶ Ошибки в диагностике туберкулёза лёгких в поликлиниках и стационарах общей медицинской сети (ОМС) составляют **35-50%.**

Туберкулёз –

- инфекционная болезнь, поражающая людей и животных, вызываемая микобактериями туберкулёза (МБТ), с преимущественно аэрогенным путём передачи МБТ и респираторным заражением, при котором развивается специфическое гранулематозное воспаление в лёгких, а при гематогенном распространении инфекции могут поражаться ткани практически всех органов.

При этом болезнь развивается только при снижении общей реактивности и клеточного иммунитета организма !

Туберкулёз (1)

Среди инфекционных заболеваний туберкулёз занимает совершенно особое место как по распространенности среди населения различных стран, так и по своеобразию клинических проявлений, по характеру течения, по многообразию патоморфологических проявлений и ряду других особенностей.

Так, например, понятие «инфицированный (зараженный) туберкулёзом человек» отнюдь не равнозначно понятию «болеющий туберкулезом человек».

Туберкулёз (2)

- не щадит, в первую очередь, лёгких; **но также** –
- ни костей, ни суставов;
- хирургу нередко приходится сталкиваться с туберкулёзом кишечника, брюшины брыжеечных лимфатических узлов, селезенки и др. внутренних органов;
- не меньшее место занимает туберкулёз в офтальмологии, дерматология, урологии, гинекологии, невропатологии и пр.

Нет такой клинической дисциплины, в которой в той или иной мере не фигурировал бы туберкулёз !!!

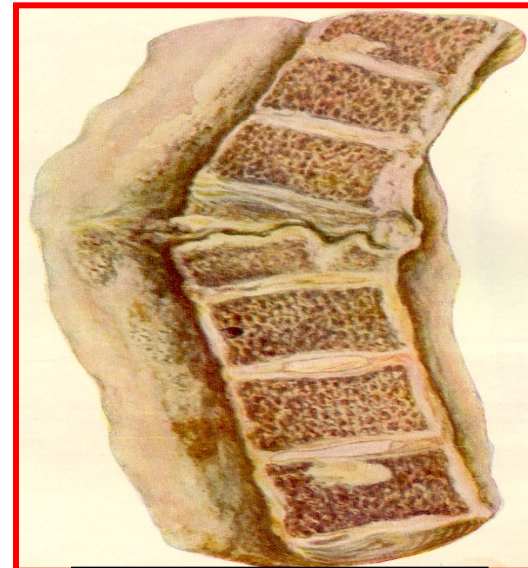
Туберкулёз



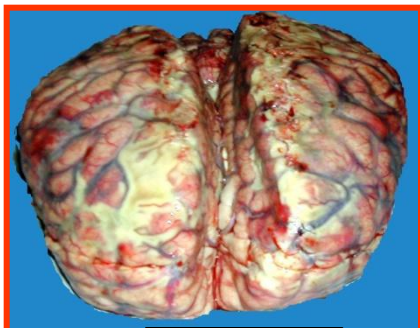
– лёгких;



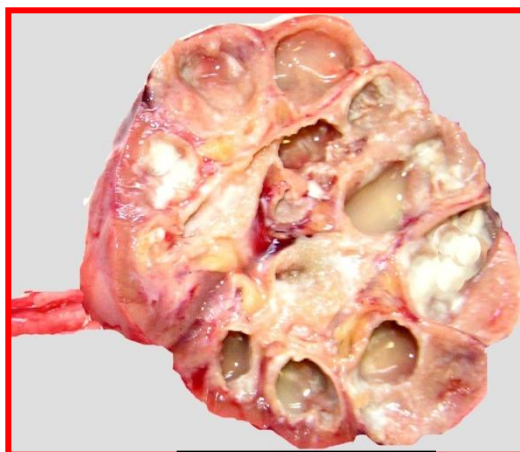
–
кишечника;



–
позвоночника;



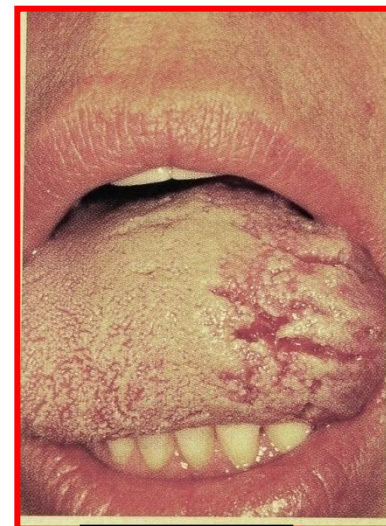
– ЦНС



– почки;



– кожи;



–
языка;

БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ (ПУЛЬМОНОЛОГИЯ)

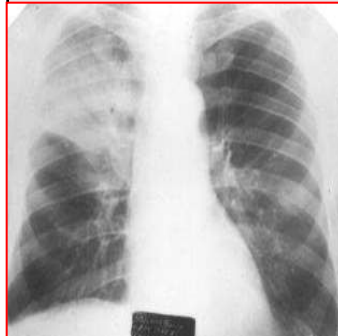
ПНЕВ-
МО-
НИЯ

40%



ТУБЕР-
КУ
ЛЁЗ

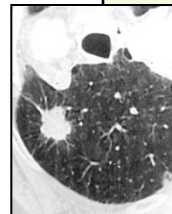
25%



ОПУ-
ХО-
ЛИ

(доброка-
чественные
и
злока-
чественные)

25%



Рак лёгкого

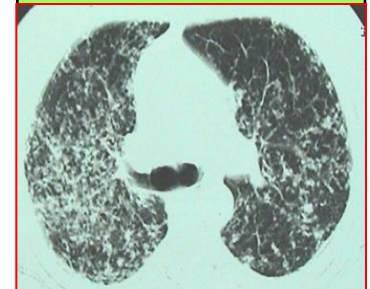


Туберкулёма

ДР.
БО-
ЛЕЗНИ

(>70
нозо-
логий)

20%



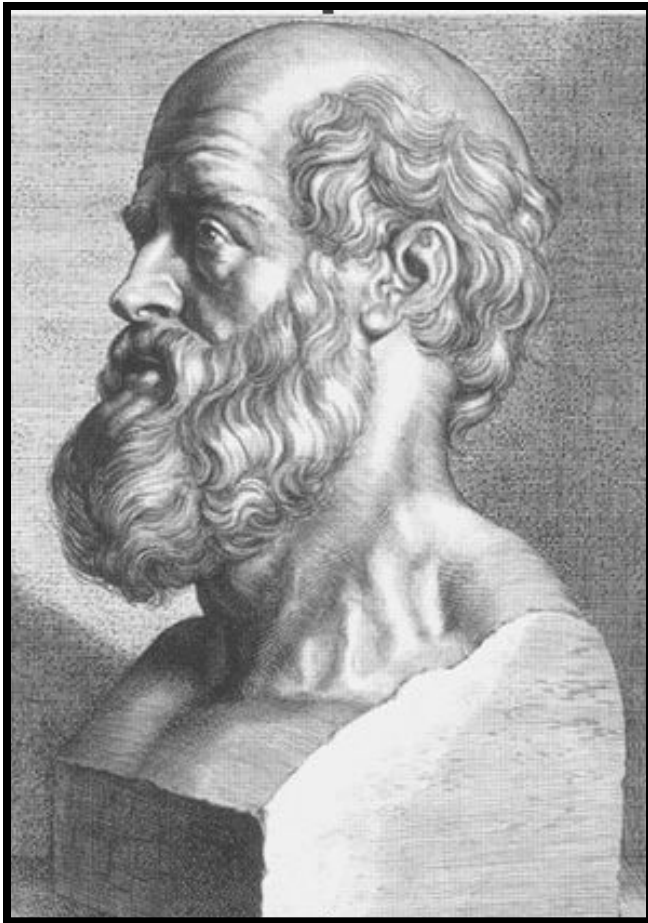
ОШИБКИ В ДИАГНОСТИКЕ

- Академик А.Г.Хоменко (фтизиатр) – **35-40%**
- Академик А.Г.Чучалин (пульмонолог) – **30-40%**

12

ВЫДАЮЩИХСЯ УЧЕНЫХ, ВНЕСШИХ
БОЛЬШОЙ ВКЛАД
В ИЗУЧЕНИЕ
ТУБЕРКУЛЁЗА

I. ГИППОКРАТ (460-377 гг. до н.э.)



Впервые описал
клинику заболевания
и предложил
термин
«ФТИЗА»
от греческого слова
φτιβίξ – истощение

II. Теофил ЛАЭННЕК (1781-1826)



Предложил
термин
«ТУБЕРКУЛЁЗ»

от

латинского

слова

tubercul – бугорок

(в настоящее время

гранулёма)

III. Н.И. ПИРОГОВ (1810-1881)



В **1858** г. впервые описал в туберкулёзном бугорке (гранулёме) гигантские многоядерные клетки, названные клетками Пирогова-Ланганса

IV. Роберт КОХ (1843-1910)



В **1882** г. открыл
возбудителя
туберкулёза,
названным
«бациллой КОХА»
(БК), за что в **1903** г.
был удостоен
Нобелевской
премии по
физиологии
(в 1890 г. получил туберкулин)

V. Карло ФОРЛАНИИ (1874-1929)



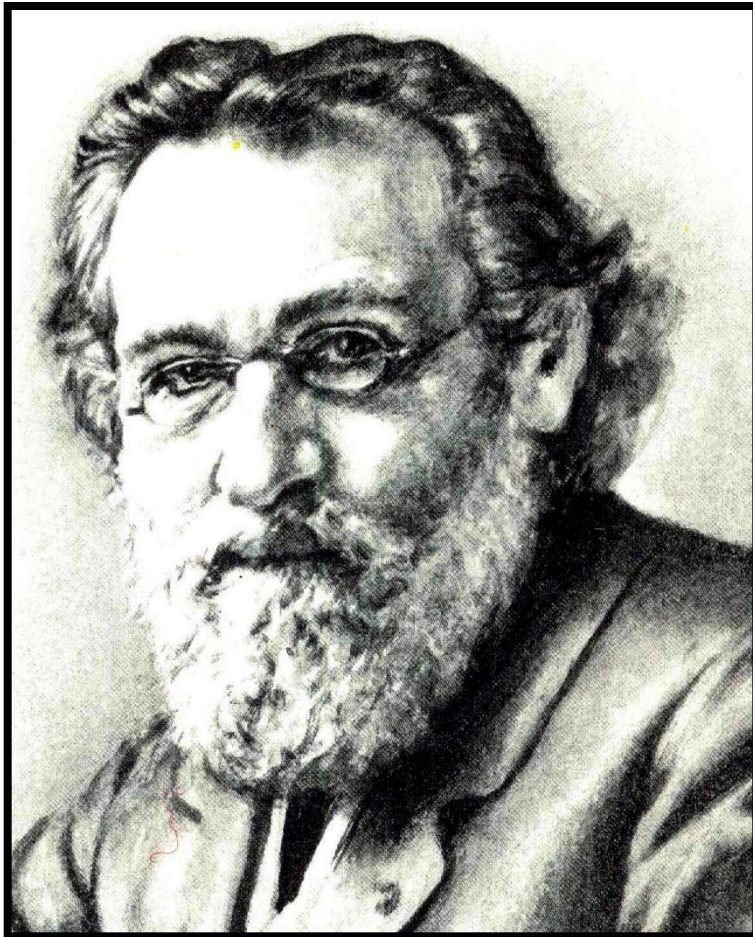
В **1882** г.
предложил метод
введения воздуха в
плевральную полость
для спадания
пораженного легкого,
названного
*«искусственный
пневмоторакс»*,
единственного
метода лечения
туберкулёза лёгких
до **1949** г.

VI. Клеменс ПИРКЕ (1874-1929)



В **1907** г. впервые
предложил
накожный
скарификационный
метод введения
туберкулина,
названный
«пробой Пирке»

VII. И.И. МЕЧНИКОВ (1845-1916)



В **1900** г. описал
«ФАГОЦИТОЗ»,
В ТОМ
числе фагоцитоз
БК макрофагами и
нейтрофилами
человека, за что в
1908 г. был удостоен
Нобелевской
премии по
физиологии

VIII. Альберт КАЛЬМЕТ и Камилл ГЕРЕН

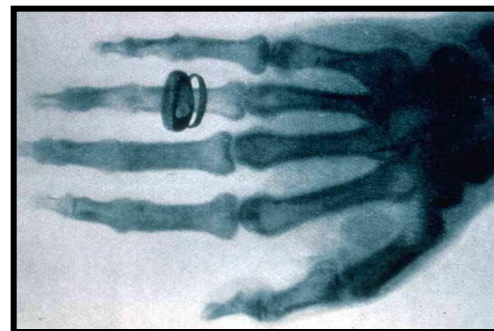


**В 1919 г. получили
вакцину,
названную
БЦЖ «*бациллы
Кальмета и Герена*»,
за что в 1932 г. были
удостоены
Нобелевской
премии по
физиологии**

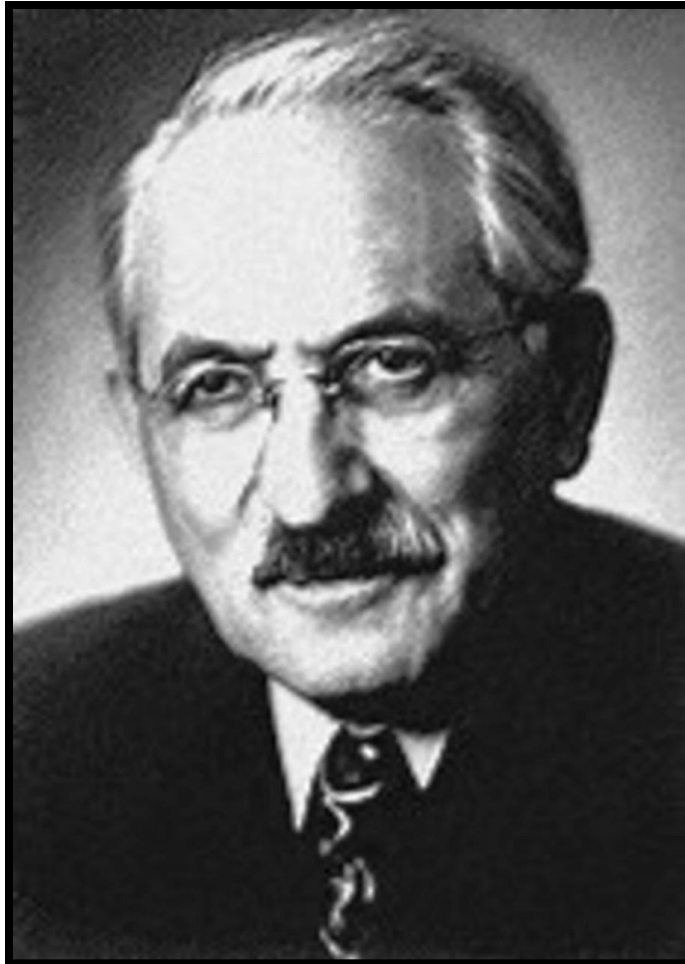
IX. Вильгельм РЕНТГЕН (1845-1923)



В **1895** г. открыл
X-лучи, за что в
1901 г. был
удостоен
Нобелевской
премии по физике



Х. Зельман ВАКСМАН (1888-1973)



В **1944** г. получил
стрептомицин,
первый противо-
туберкулёзный
антибиотик
за что в **1949** г.
был удостоен
Нобелевской
премии по
медицине

XII. А.Е. РАБУХИН (1888-1998)



Впервые в мире
разработал
основные принципы
и методику
индивидуального
антибактериального
лечения
(химиотерапии)
больных
туберкулёзом

XII. А.Г. ХОМЕНКО (1888-1998)



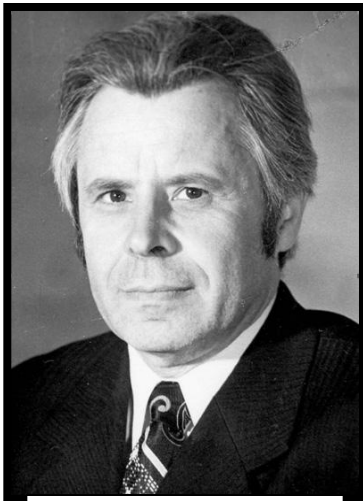
В 1975 г. открыл
L-формы и
ультрамелкие
фильтрующиеся
«вирусоподобные»
формы» у
микобактерии
туберкулёза (МБТ)

**КАФЕДРА
ФТИЗИОПУЛЬМОНОЛОГИИ
МГМСУ
им. А.И Евдокимова**

Кафедра фтизиопульмонологии МГМСУ им. А.И.Евдокимова

создана в 1972 году

Зав.кафедрой,
1972-1998



Профессор
А.И.Ершов (1932-1996)

Зав. кафедрой,
1998-1999

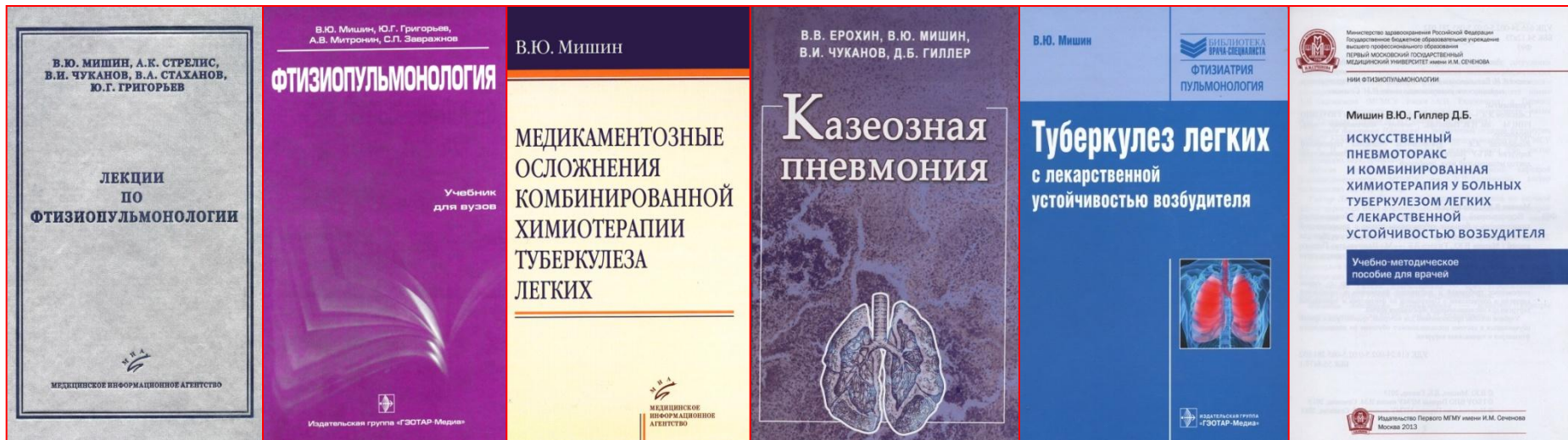


Академик
А.Г.Хоменко (1926-1999)

С 1999 г. зав. кафедрой профессор В.Ю.Мишин

За последние 10 лет на кафедре:

- ♥ защищено – 10 докт. и 30 канд. диссертаций;
- ♥ опубликовано – 5 монографий;
- ♥ опубликован 1 учебник:
- ♥ опубликовано 20 учебных пособий;
- ♥ опубликовано более 500 научных публикаций;
- ♥ из них 10 – в иностранных журналах;
- ♥ сотрудники неоднократно выступали на международных и отечественных конференциях, симпозиумах и съездах.



Лидеры научного цитирования в изданиях. индексируемых РИНЦ по проблеме туберкулеза

ФИО	Тематика	Публикации	Цитирование	Индекс Хирша
Навская О.В.	Микробиология. этиологическая диагностика. молекулярно-генетические исследования	58	1044	17
Ант А.С.	Иммунология и иммуногенетика экспериментального туберкулеза	65	920	17
Оттен Т.Ф.	Микробиология. этиологическая диагностика	36	878	17
Вишневский Б.И.	Микробиология. этиологическая диагностика	60	820	16
Еремеев В.В.	Экспериментальная и клиническая иммунология туберкулеза	21	554	13
Мадьяндышев А.О.	Фтизиатрия. микробиология. этиологическая диагностика	40	523	11
Педелман М.И.	Торакальная хирургия. фтизиатрия	108	733	9
Мишин В.Ю.	Фтизиатрия. терапия	124	557	8
Ерохин В.В.	Фтизиатрия. экспериментальные исследования. патологическая анатомия	101	525	7
Цинзерлинг В.А.	Инфекционная патология. патоморфология	61	346	5



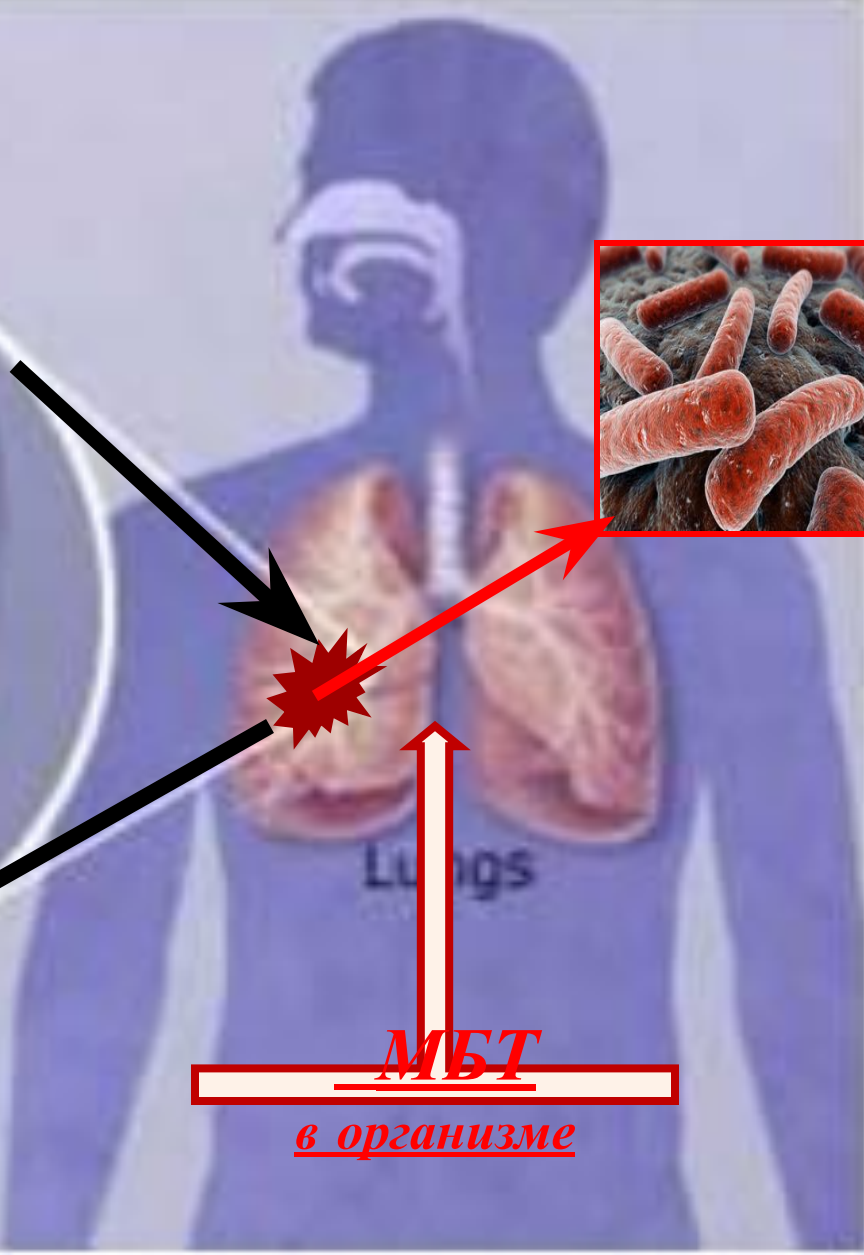
Научная сессия ФГБУ «СПбНИИ Фтизиопульмонологии»
**Инновационные технологии
 во фтизиатрии и пульмонологии**

**МИКОБАКТЕРИЯ
ТУБЕРКУЛЁЗА
(МБТ)**

МБТ



Tuberculosis bacteria



МБТ

в организме

МБТ

во внешней среде

и на питательной среде

Роберт Кох – лауреат **3-х Нобелевских Премий** – за открытие возбудителей туберкулёза, холеры и сибирской язвы



24 марта 1882 года Роберт Кох
выступил с докладом на Берлинском
Обществе Естествоиспытателей, где
сделал доклад на тему:
«ЭТИОЛОГИЯ ТУБЕРКУЛЁЗА»

**В 1982 году Всемирная Организация
Здравоохранения (ВОЗ) объявила**
24 марта –
ВСЕМИРНЫМ ДНЕМ БОРЬБЫ С ТУБЕРКУЛЁЗОМ,
который отмечается каждый год во всех
станах МИРА.

Микобактерии туберкулёза

МБТ, относятся:

- ▶ к классу Schizomycetes,
- ▶ к отряду Actinomicetales (лучистые грибы),
- ▶ к семейству Mycobacteriaceae,
- ▶ к роду Mycobacterium,

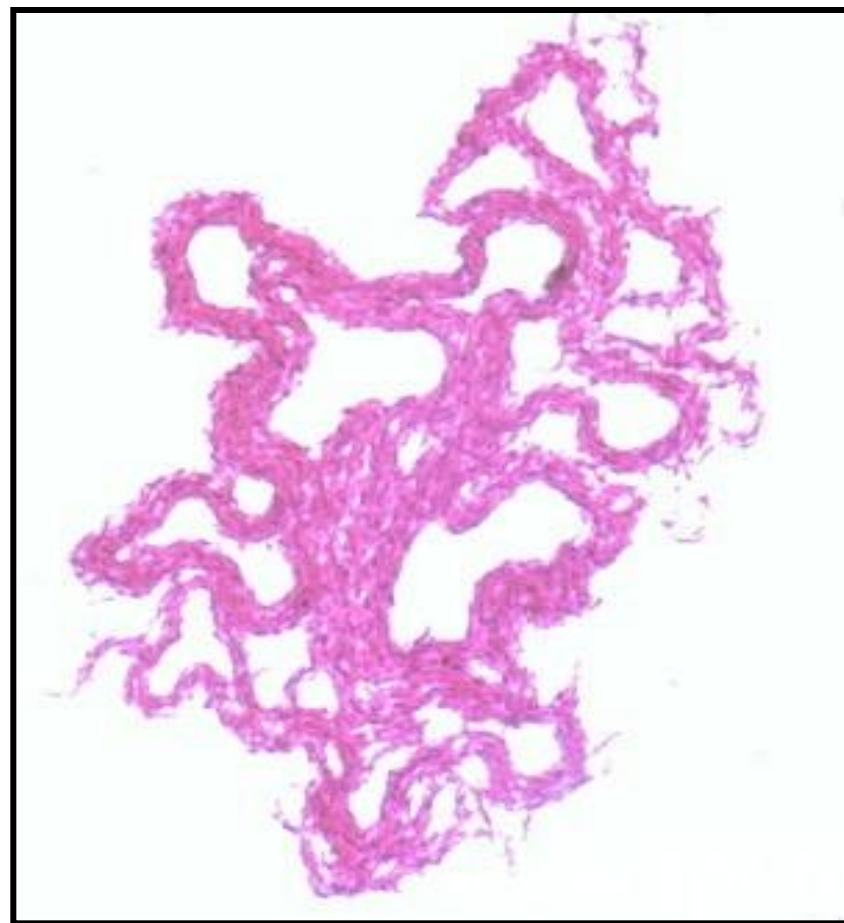
и составляют:

- ▶ Mycobacterium Tuberculosis Complex,
вызывающих у человека развития
специфического гранулёматозного
воспаления.

**МБТ в «старой» культуре образуют мицелий –
это роднит их с грибами**



МБТ



Лучислые грибы

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX

- 1. *M. tuberculosis typhus humanus* (*M. tuberculosis*)** – человеческий тип, вызывающий заболевание туберкулёзом у 90-95% людей.
- 2. *M. tuberculosis typhus bovines* (*M. bovis*)** – бычий тип, вызывающий заболевание туберкулёзом у 5-10% людей (исходно устойчивый к пиразинамиду).
- 3. *M. tuberculosis BCG*** – искусственно созданный из *M. Bovis* – вакцинный штамм, применяемый у детей и подростков для искусственной иммунизации.
- 4. *M. tuberculosis typhus africanus* (*M. africanum*)** – африканский тип, вызывающий заболевание туберкулёзом у 90-95% людей в Африке (исходно устойчивый к тиоцетазону).

Новые типы (2008)

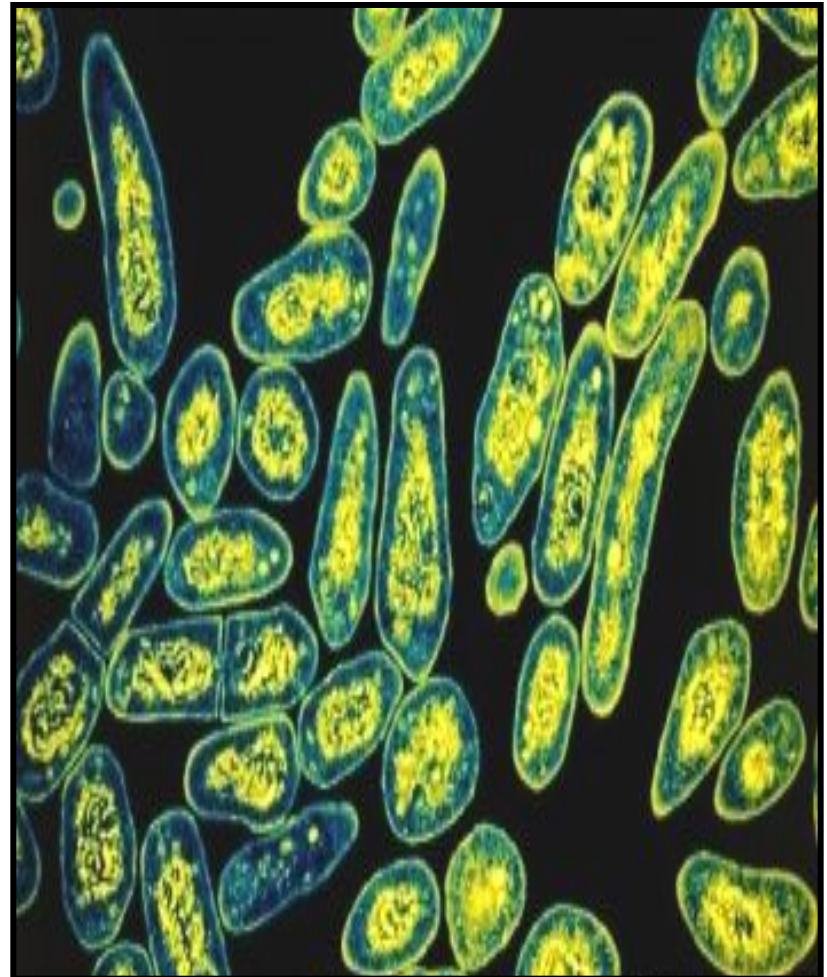
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX

5. ***M. tuberculosis typhus microti*** (*M. microti*) – мышинный тип, выделен от полевых мышей, больных туберкулёзом.
6. ***M. tuberculosis typhus canettii*** (*M. canettii*) – выделен от собак, больных туберкулёзом.
7. ***M. tuberculosis typhus caprae*** (*M. caprae*) – выделен от диких млекопитающих животных (волки, лисы и др.), больных туберкулёзом.
8. ***M. tuberculosis typhus pinnipedii*** (*M. pinnipedii*) – выделен от морских млекопитающих (тюленей), больных туберкулезом.

Микобактерия туберкулёза

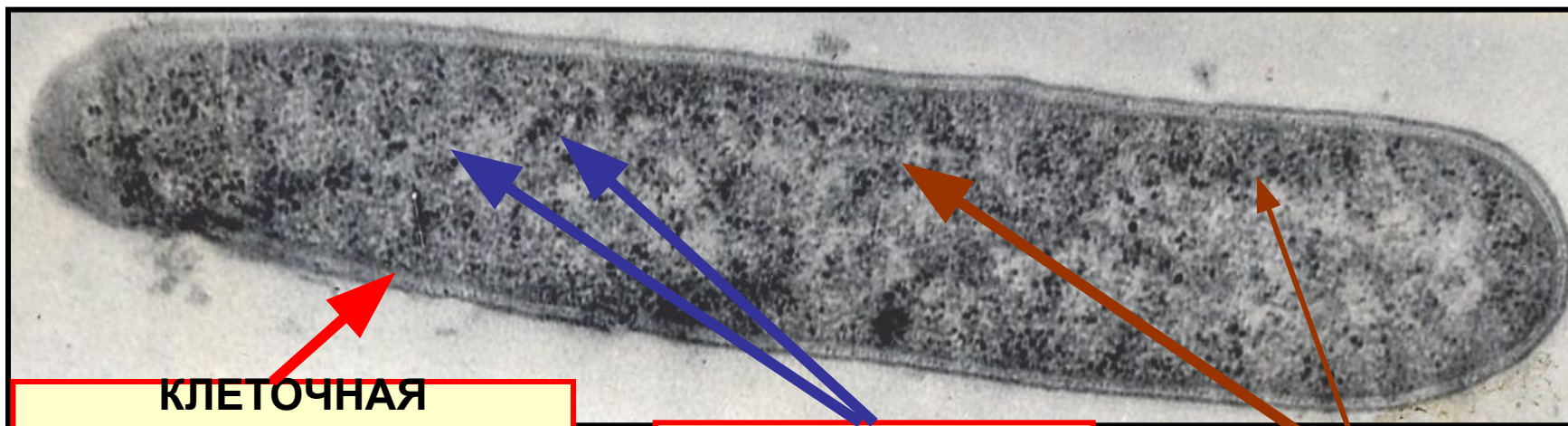
(Электронная сканирующая микроскопия.

Ув. **10 000-15 000**)



Основные свойства МБТ

- 1. Гр+ бактерии.**
- 2. Аэробы.**
- 3. Длина от 1,5 до 3,5 мкм, толщина от 0.2 до 0,3 мкм.**



**КЛЕТОЧНАЯ
МЕМБРАНА,
где содержится
80-90%**

МИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

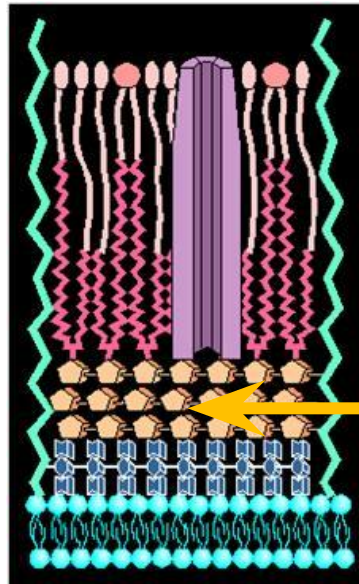
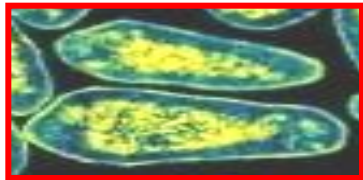
ОРГАНЕЛЛЫ

НУКЛЕОТИД

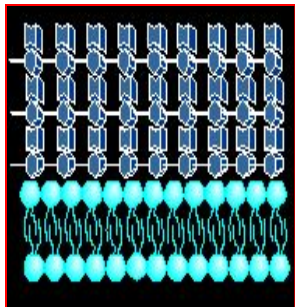
Основные свойства МБТ

- 3. Высоко устойчивы к воздействию высоко концентрированных растворов кислот и спиртов, что связана с высоким содержанием в клеточной оболочке –**
МИКОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ
(C88 H176 O4) –
{консистенция плавящегося стеарина свечи}

Устройство клеточной стенки МБТ

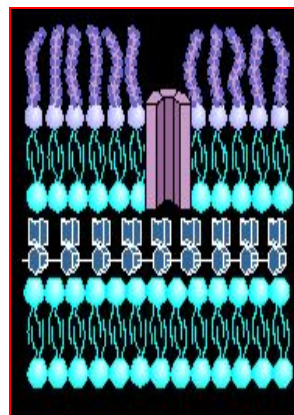


МБТ – образуют многослойную толстую клеточную оболочку, богатую **МИКОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ**, которая исключительно эффективно выполняет барьерно-защитные функции

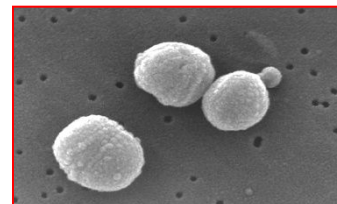


Гр
-

и



Гр
+



Основные свойства МБТ

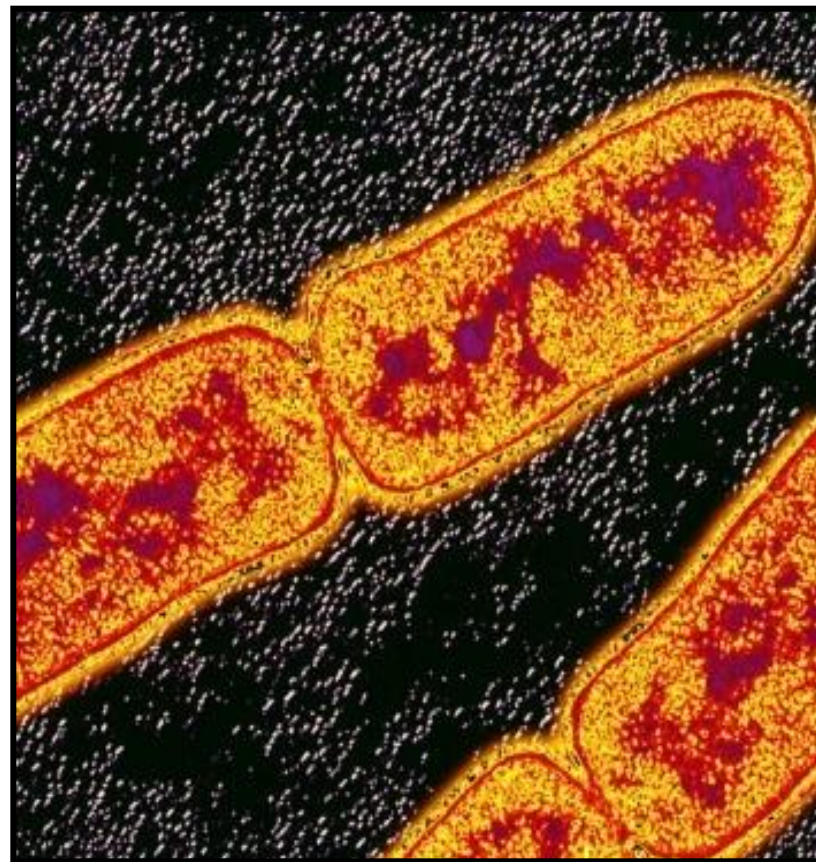
4. ► Высоко устойчивы во внешней

среде, ***в частности:***

- Облучение рентгеновскими лучами **в течение 36 часов** культуры МБТ на питательной среде **не влияет на ее жизнеспособность.**
- МБТ выдерживают замораживание **до -269°C**
- МБТ выдерживают нагревание **при 70°C** – **в течении 7 часов**, а сухой жар **в 100°C** – **в течении 1 часа.**
- **5% р-р хлорамина** и **10-20% р-р хлорной извести** убивают МБТ только **в течение 1-2 часов.**

Основные свойства МБТ

5. Размножаются поперечным делением



Основные свойства МБТ

6. Быстрота размножения зависит от парциального давления кислорода в органах организма:

▶ при высоком парциальном давлении кислорода в легких МБТ делятся за период от 6 до 24 часов, т.н.

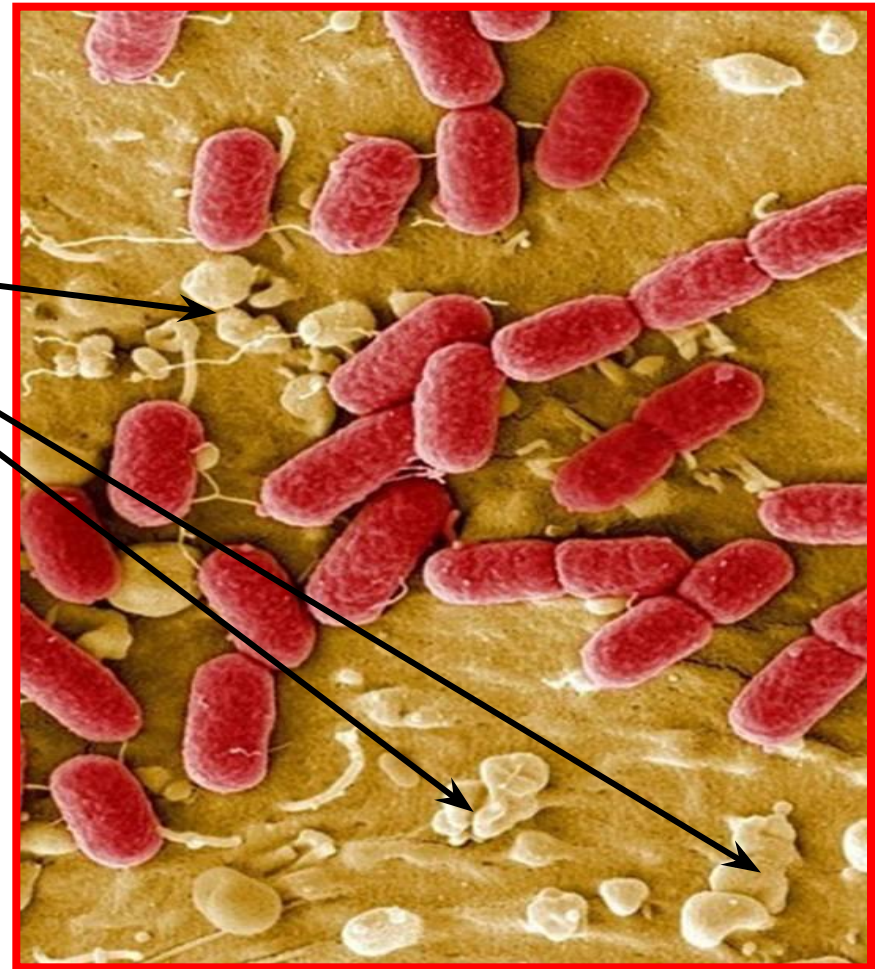
быстроразмножающиеся МБТ.

▶ при низком парциальном давлении кислорода в других органах МБТ делятся за период от 6 до 24 дней, т.н.

медленноразмножающиеся МБТ.

Основные свойства МБТ

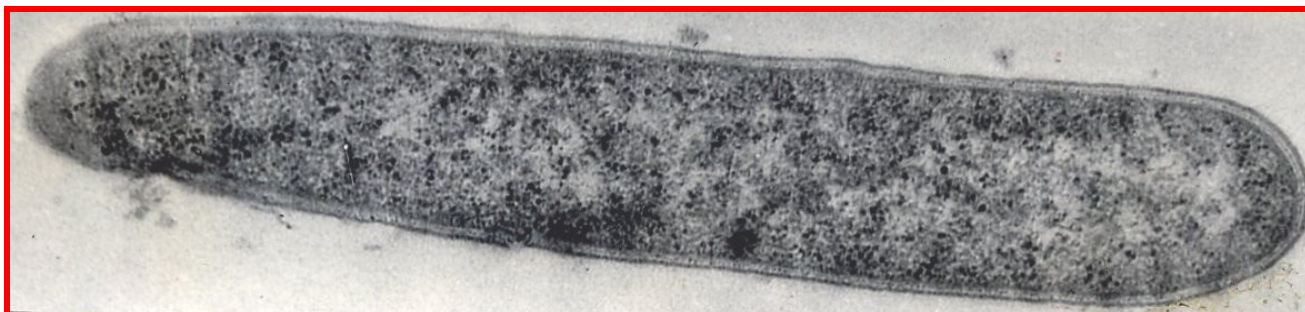
7. В процессе размножения секретирруется **ЭКЗОТОКСИН** ▶
состоящий на **70%** из миколовой кислоты и на **30%** из трегалазы, который вызывает развитие воспалительные и некротические изменения в клетках и тканях органов



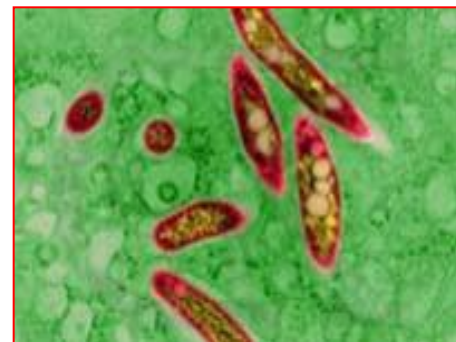
Основные свойства МБТ

Явление **L-трансформации** бактерий открыл E.Klieneberger в Листеровском институте в Лондоне в 1936 году

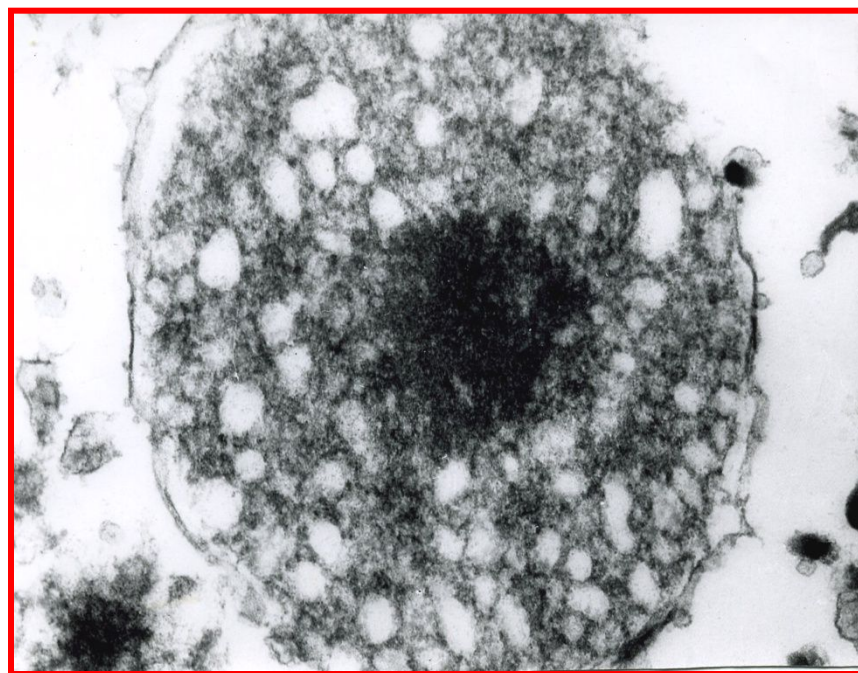
- 8.** При неблагоприятных условиях внутренней среды организма: высокой иммунорективности или длительной эффективной химиотерапии – **МБТ трансформируются в: L-формы или в ультромелкие фильтрующиеся «вирусоподобные» формы** (имеется ген *icl*, который участвует в переходе типичной МБТ в ее **L-форму** и **обратно**).
- ▶ При снижении иммунореактивности **ОНИ трансформируются в типичные МБТ** и вызывают рецидив туберкулеза.
 - ▶ **ОНИ** устойчивы к ПТП, только рифампицин и фторхинолоны обладают слабым воздействием.



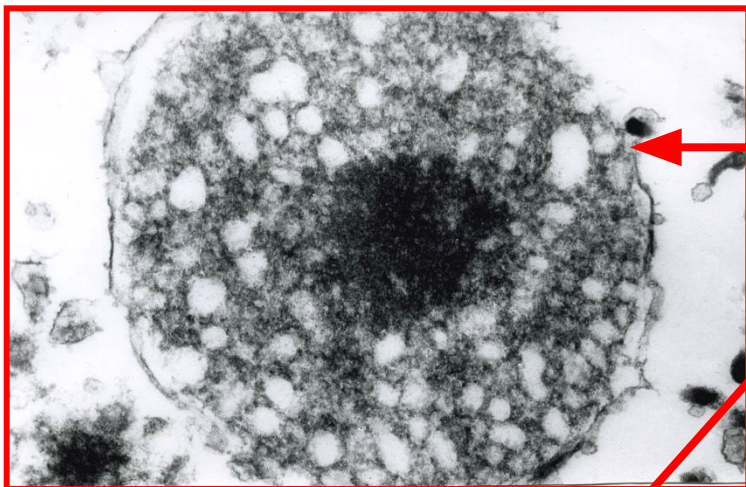
Типичная МБТ. Электронограмма. Ув. 20 000



L – форма МБТ. Ув. 30
000



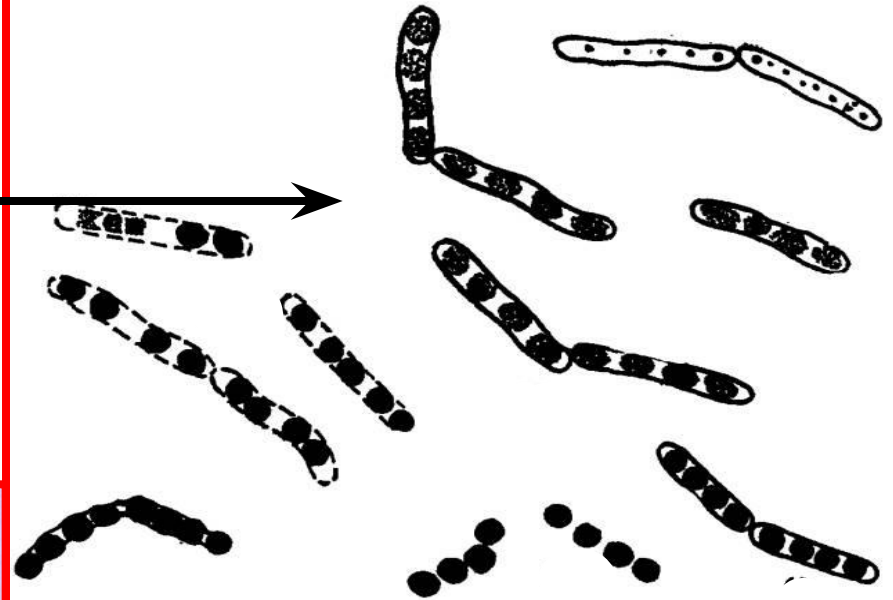
L – форма МБТ. Ув. 35
000



- ▶ **L – формы и ультромелкие формы МБТ** окружены цитоплазматической мембраной, **сходной по АГ свойствам – клеткам макроорганизма.**
- В связи с этим иммунная система не реагирует на **ЭТИ ФОРМЫ МБТ.**
- ▶ **L – формы и ультромелкие формы МБТ** – характеризуются резко сниженным уровнем метаболизма и ослабленной вирулентностью и длительное время могут выживать (персистировать) в организме, поддерживая противотуберкулезный иммунитет.
- ▶ Противотуберкулезные препараты **НА НИХ** не действуют

Основные свойства МБТ

9. В неблагоприятных условиях внешней среды возможно – **СПОРООБРАЗОВАНИЕ** (гены – *sig F* и *win B* – определяют образование спор и обратную реверсию в типичные вирулентные МБТ).



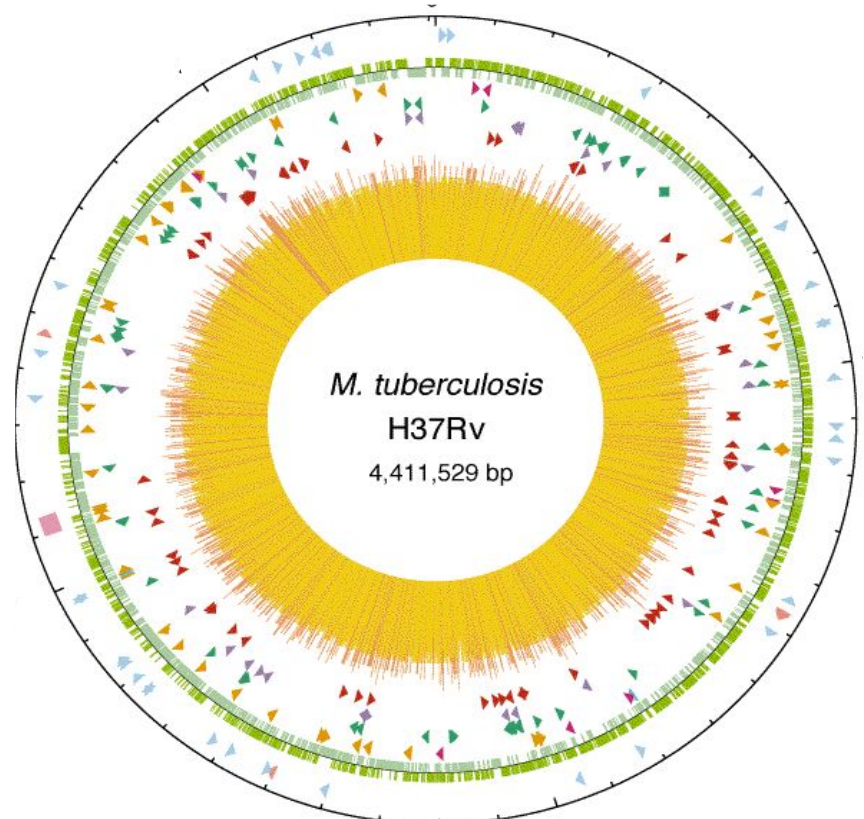
СПОРЫ

Генетическая карта МБТ

расшифрована в **1998**

ГОДУ

10. Геном МБТ содержит около **6 000 генов** и имеет длину **4 411 529 пар нуклеотидов**, которые – **в 70% представлены ГУАНИНОМ (G) и ЦИТОЗИНОМ (C)**.

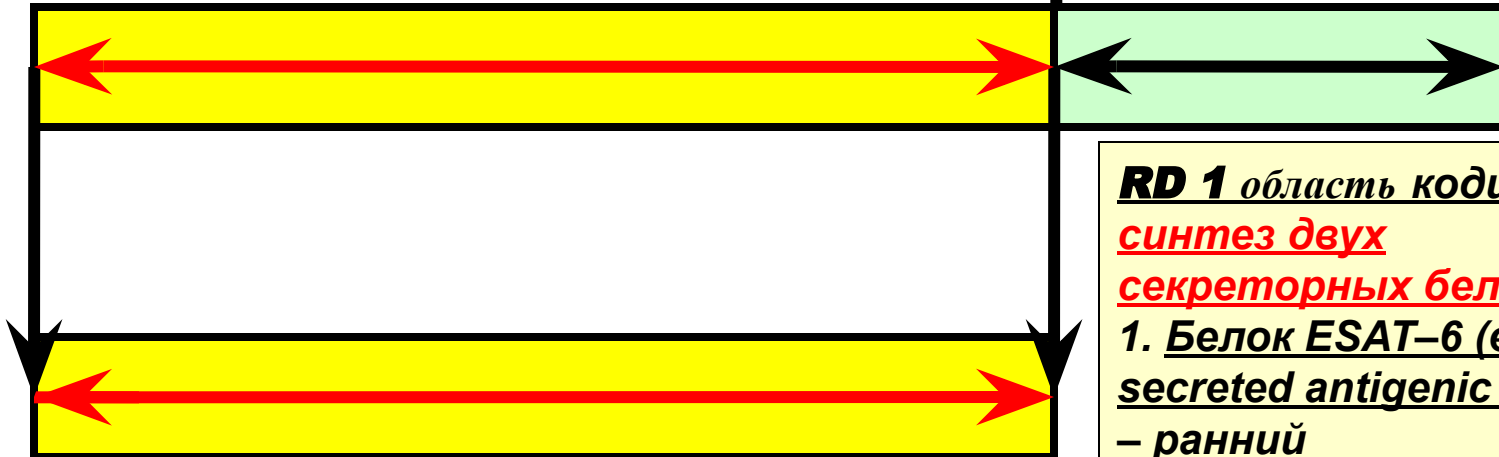


Более **20%** генома занимают **гены метаболизма миколовой кислоты (МК)** клеточной стенки и **гены метаболизма фактора вирулентности (корд-фактора)**, в который на **>70%** состоит из **(МК)**.

Сравнение генетических карт различных родов МБТ

M. africanum, M. lepre,
M. kansasii, M. marinum

M. tuberculosis



(region of difference 1)

RD 1 область

M. bovis

(*M. bovis* BCG) + большинство
нетуберкулёзных микобактерий

RD 1 область кодирует
синтез двух
секреторных белков:
1. Белок ESAT-6 (earli
secreted antigenic target)
– ранний
секретируемый белок
делеционного региона
RD 1
2. Белок CFP-10 (culture
filtrate protein) – белок
фильтрата культуры

ТУБЕРКУЛИН

▶ Туберкулин (2 ТЕ ППД-Л) – получен при выращивании на синтетической среде *M. tuberculosis* (**RD 1** - есть) и *M. bovis* (**RD 1** – нет) и представляет *фильтрат всего комплекса белков, содержащихся в обоих видах МБТ.*

▶ Туберкулин (2 ТЕ ППД-Л) – дает *положительную реакцию* у детей и подростков вакцинированных и ревакцинированных *M. bovis BCG* и инфицированных *M. tuberculosis* и *M. bovis* детей, подростков и взрослых.

ДИАСКИНТЕСТ®

▶ Препарат ДИАСКИНТЕСТ® – представляет собой рекомбинантный белок *ESAT-6 – CFP-10*, получен в *Escherichia coli*, в хромосому которой вставлено ДНК *генов ESAT-6 и CFP-10 M. tuberculosis* (**RD 1** - есть).

▶ Препарат ДИАСКИНТЕСТ® – дает *отрицательный реакцию* у детей и подростков вакцинированных и ревакцинированных *M. bovis BCG*,

ДИАСКИНТЕСТ® – левое предплечье



ТУБЕРКУЛИН 2ТЕ ПД-Л
правое предплечье

У подростка ревакцинированного
вакциной БЦЖ
(послевакцинная аллергия)

ДИАСКИНТЕСТ® –
левое предплечье



ТУБЕРКУЛИН 2 ТЕ ПД-Л
правое предплечье

У подростка зараженного
МБТ
(инфекционная аллергия)

Основные свойства МБТ

11. ► Различная чувствительность к антимикробным лекарствам:

ВЫСОКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К:

- ▶ пенициллинам
- ▶ ампициллинам
- ▶ лактамам
- ▶ тетрациклинам
- ▶ макролидам
- ▶ цефалоспорином
- ▶ карбапенемам
- ▶ котримоксазолу
- ▶ и др.

ВЫСОКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К:

- ▶ стрептомицину
- ▶ канамицину
- ▶ амикацину
- ▶ капреомицину
- ▶ рифампицину
- ▶ ломефлоксацину
- ▶ офлоксацину
- ▶ левофлоксацину
- ▶ моксифлоксацину

Основные свойства МБТ

12. ► Высокий уровень генетического полиморфизма, то есть:

► способность быстро формировать и генетически закреплять лекарственную устойчивость при неправильном лечении:

- ▶ *при лечении 1-2-3 противотуберкулёзными препаратами;*
- ▶ *при не оптимальной дозировке противотуберкулёзных препаратов;*
- ▶ *при коротких сроках лечения противотуберкулёзными препаратами.*

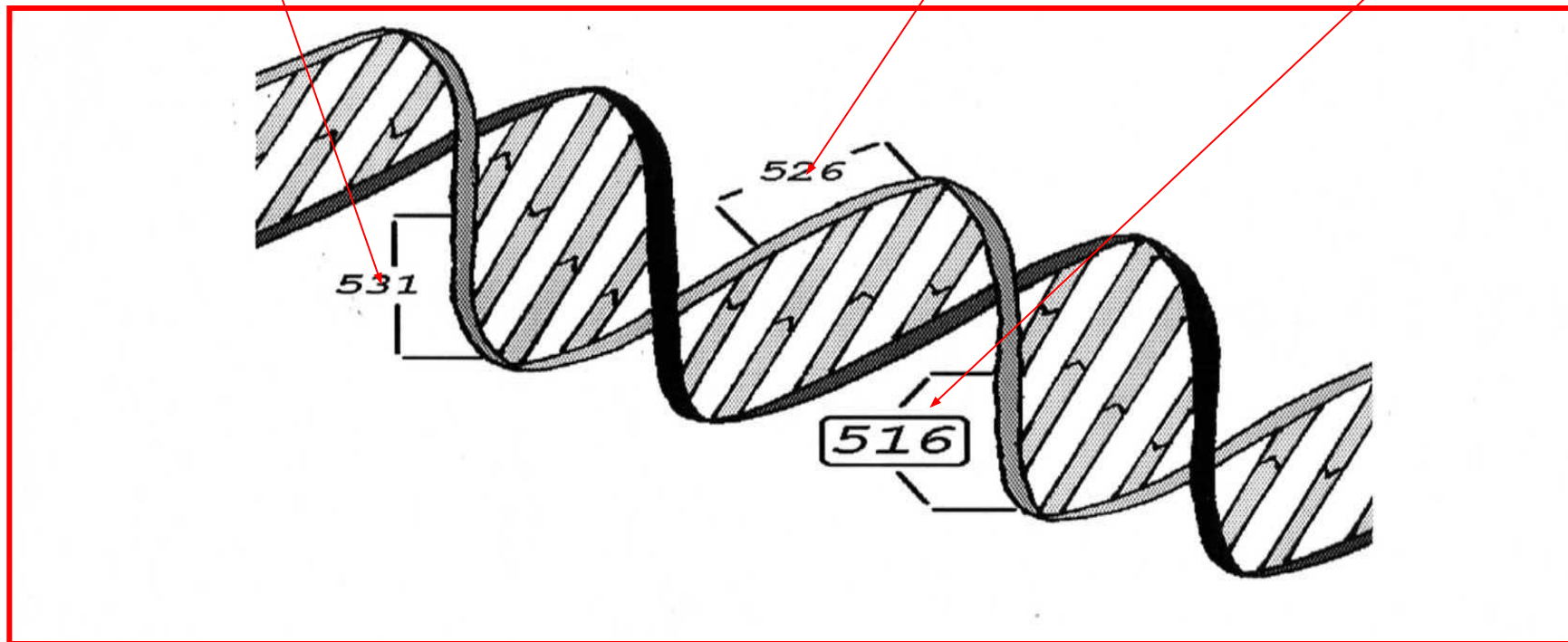
Гены МБТ, мутации которых ведут к устойчивости к ПТП

ПТП	Ген	Продукт гена	Частота
РИФАМПИЦИН	<i>rpoB</i>	β -субъединица РНК-полимеразы	>95%
ИОНИАЗИД	<i>katG</i>	каталаза / пероксидаза	70%
	<i>kasA</i>	синтетаза	10%
	<i>acrM</i>	ацетилированный белок-носитель	5%
	<i>inhA</i>	<u>ионилредуктаза</u>	15%
ЭТИОНАМИД	<i>inhA</i>	<u>ионилредуктаза</u>	>70%
СТРЕПТОМИЦИН	<i>rpsL</i>	12-субъединица рибосомального протеина	>90%
	<i>rrs</i>	<u>16-субъединица (S) рРНК</u>	<10%
КАНАМИЦИН	<i>rrs</i>	<u>16-субъединица (S) рРНК</u>	>90%
ПИРАЗИНАМИД	<i>pncA</i>	пиразинамидаза	>90%
ЭТАМБУТОЛ	<i>embB</i>	арабинозилотрансфераза	90%
ФТОРХИНОЛОНЫ	<i>gyrA</i> и <i>B</i>	<u>ДНК-гираза (топоизомераза II)</u>	100%
ПАСК	Мутации генов не установлены		
КАПРЕОМИЦИН	Мутации генов не установлены		

РИФАМПИЦИН и **ИЗОНИАЗИД** – самые эффективные ПТП

Фрагмент **groV** гена устойчивости к рифампицину

ATG GAC **CAG** AAC AAC CCG CTG TCG TTG ACC **CAC** AAG CGC CGA CTG **TCG** GCG



Эпидемиологическая классификация лекарственной устойчивости МБТ
(ВОЗ, 1998 и 2008)

- ▶ Монорезистентность (МР) – устойчивость МБТ к 1 противотуберкулезному препарату (ПТП).
- ▶ Полирезистентность (ПР) – устойчивость МБТ к 2 и более ПТП, но не *к сочетанию изониазида и рифампицина*.
- ▶ Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) – устойчивость МБТ *к изониазиду и рифампицину* и другим ПТП.
[1998]
- ▶ Широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) – устойчивость МБТ *к изониазиду, рифампицину, фторхинолонам и к инъекционным ПТП (канамицину, амикацину и капреомицину*.
- ▶ Тотальная лекарственная устойчивость (ТЛУ) – устойчивость МБТ *ко всем ПТП*. [2008]

Клиническая классификация лекарственной
устойчивости МБТ к ПТП
(В. Ю. Мишин, 2002)

▶ УСТОЙЧИВОСТЬ МБТ
К ОСНОВНЫМ ПТП

▶ УСТОЙЧИВОСТЬ МБТ
К СОЧЕТАНИЮ
ОСНОВНЫХ И
РЕЗЕРВНЫХ ПТП

▶ УСТОЙЧИВОСТЬ МБТ
КО ВСЕМ ПТП

ОСНОВНЫЕ ПТП

(самые эффективные)

- *изониазид*
- *рифампицин*
- *пиразинамид*
- *этамбутол*
- *стрептомицин*

РЕЗЕРВНЫЕ ПТП

(менее эффективные)

- *канамицин*
- *капреомицин*
- *этионамид (протионамид)*
- *цикloserин*
- *ПАСК*

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ
ВЫДЕЛЕНИЯ
МБТ

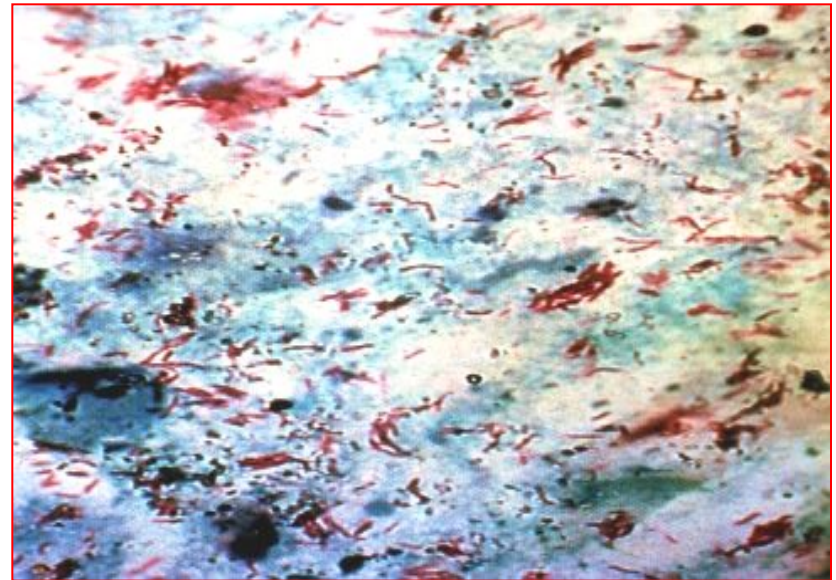
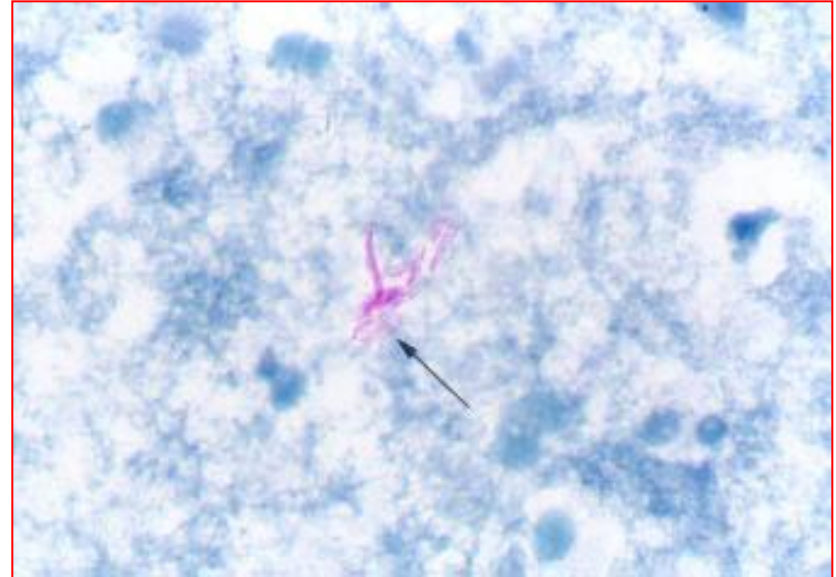
Микроскопия мокроты для выявления
МБТ
(*субъективное исследование*)



▶ Микроскопия мазков мокроты, окрашенных **по методу Циль-Нельсена**, в световом микроскопе при иммерсионном увеличении (положительный ответ – если в 1 мл мокроты содержится не менее – **50 000 – 100 000** **микробных тел**).

Результат – **через 12-24 часа**.

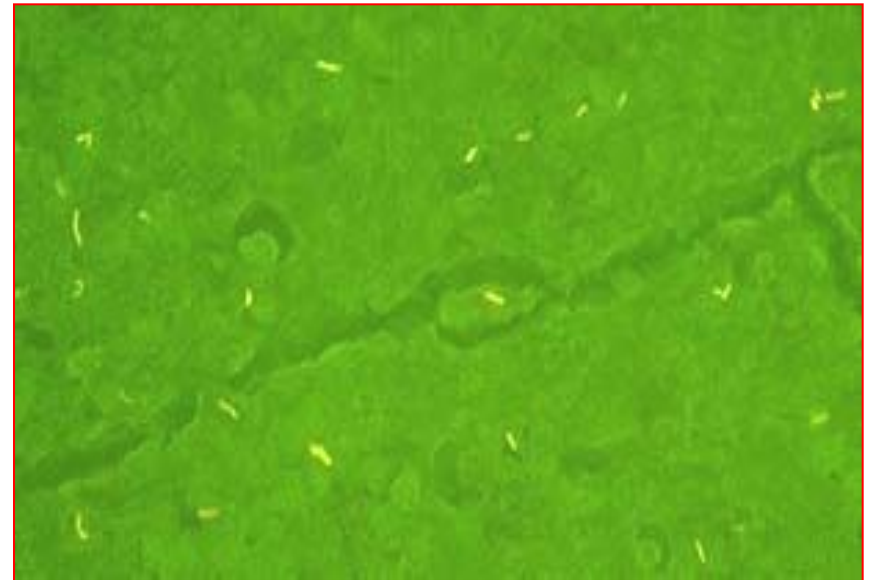
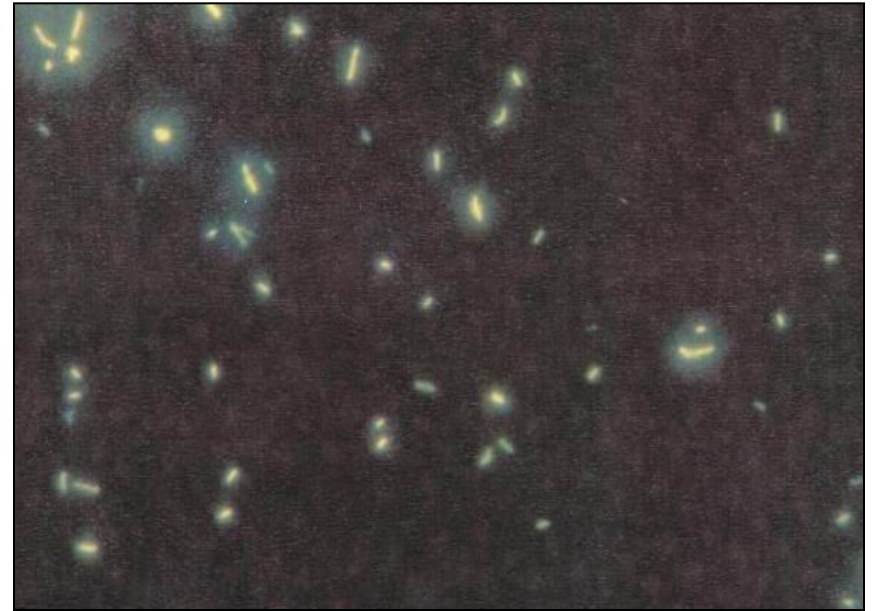
[**Метод предложен в 1883 г.**].



▶ Люминесцентная микроскопия мазков мокроты, **окрашенных флюорохромами** (аурамин 00 или родамин С) (увеличивает разрешающую способность световой микроскопии на **14-30%**).

Результат – **через 24 часа**.

[**Метод предложен в 1910 г.**].



Посев мокроты на питательные среды

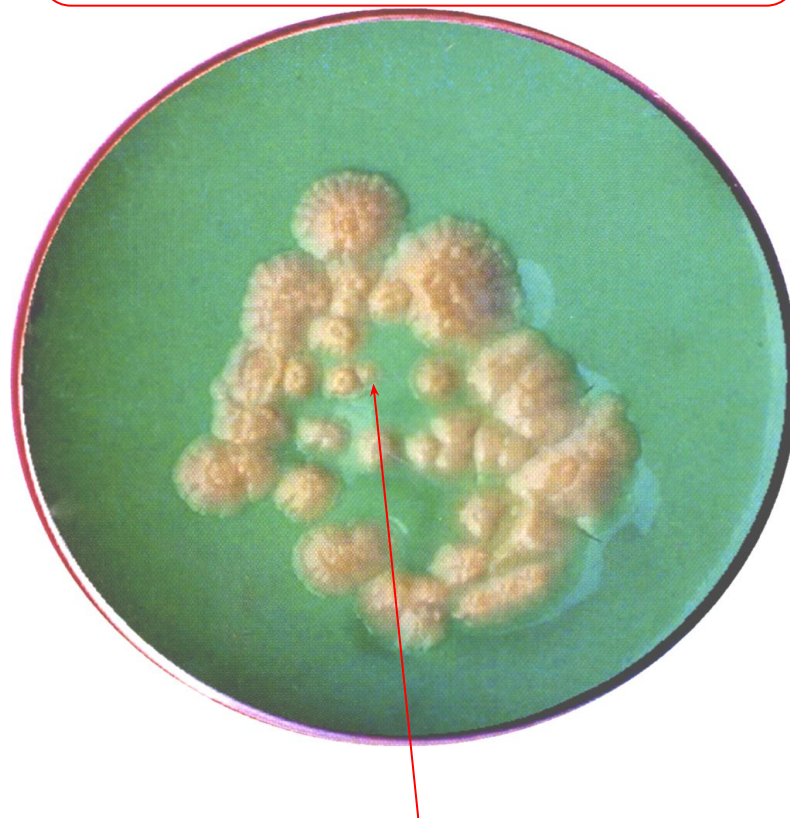
► Посев мокроты **на плотные питательные среды** :

для выделения культуры МБТ достаточно 20-100 микробных тел в 1 мл мокроты.

Рост культуры МБТ – происходит на 21–90 день – (в среднем через 1–1,5 месяца).

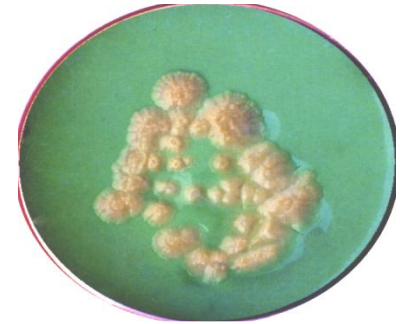
[Метод предложен в 1882 г.].

Культура МБТ на плотной среде
Левенштейна-Йенсена
через **33** дня



Видимая культура на плотной питательной среде равняется **2-5** мм в диаметре

Непрямой метод определения
ЛЧ МБТ (ко всем ПТП) –
на твердой питательной среде
Левенштейн-Ёенсена



1. Вначале производят посевы мокроты на твердую питательную среду и **через 1-1,5 мес.** получают культуру МБТ.
2. Полученную культуру пересевают на твердые питательные среды, содержащие абсолютные концентрации противотуберкулёзных (ПТП)* препаратов и **через 1-1,5 мес.** оценивают рост культуры МБТ, устойчивой к ПТП.
3. Общий срок получения результатов лекарственной чувствительности МБТ составляет **2-3 мес.**

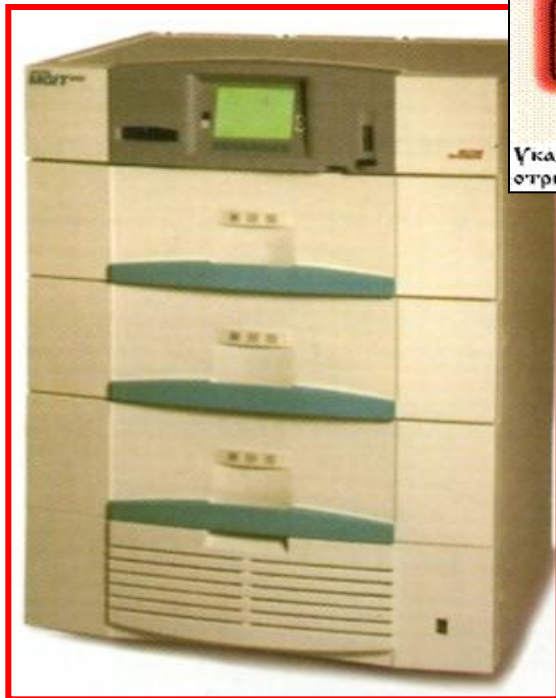
*(*Абсолютные концентрации – это критические концентрации ПТП, при которых растут только устойчивые к этим препаратам МБТ).*

В клинических условиях врачи проводят коррекцию химиотерапии на основании ЛЧ МБТ 2-3
месячной давности!

Система **ВАСТЕС MGIT 960 (2000)**

на жидкой питательной среде

(объективный ускоренный метод выявления МБТ и ЛУ)



Индикаторный метод:

- пробирки с жидкой питательной Средой *Middlebrook* содержат флюоресцирующий индикатор «погашенный» высокой концентрацией O₂;
- в процессе роста МБТ поглощают O₂, что сопровождается усилением свечения индикатора;
- наличие роста МБТ регистрируется при помощи трансиллюминатора;
- полученные данные обрабатываются компьютером и выводятся на экран монитора.



1. ВАСТЕС позволяет выявлять **10-100 МБТ** в 1 мл мокроты.
2. Наличие роста МБТ регистрируется в течение **1-3 недель**.
3. Лекарственная устойчивость МБТ определяется в течение **3-6 недель**.

**Полимеразно-цепная реакция (ПЦР) –
является одним из наиболее быстрых и
информативных методов выявления МБТ**

**ПЦР открыл в 1985 г. Кэрри Мюллисом –
лауреат Нобелевской премии за 1989 год.**

Принцип метода состоит в увеличении в 10^6 — 10^8 раз числа копий (**амплификации**) специфического фрагмента ДНК МБТ (***IS6110***), катализируемого *in vitro* специфической ДНК-полимеразой (**браймером**) в автоматическом режиме.

К достоинствам метода ПЦР относятся:

- высокая чувствительность, позволяющая определять 10—100 клеток в биологической пробе;
- высокая специфичность ДНК МБТ в исследуемом материале (например: в мокроте);
- универсальность процедуры обнаружения МБТ из одной биологических проб
- высокая скорость анализа (4—4,5 ч).



ПЦР для быстрого выявления МБТ и определения лекарственной устойчивости

(микрочипы созданы в РФ в 1988 г. акад. А. Д. Мирзабековым в институте молекулярной биологии им. В. А. Энгельгарта)

Метод основан на многократной **амплификации фрагмента (IS6110)** ДНК МБТ, который катализируется **браймером** (специфической ДНК-полимеразой):

• ПЦР выявляет присутствие **5-10 МБТ в мокроте через 24 часа.**

МИКРОЧИПЫ (в 2003 г. методика разработана Российскими Учеными)

1. Выявление мутации в гене: **katG**, ответственном за устойчивость к **изониазиду**.
2. Выявление мутаций в гене: **groB**, ответственном за устойчивость к **рифампицину**.
3. Выявление мутации в гене **gyrA**, ответственном за устойчивость к **фторхинолонам**.

▶ **лекарственная устойчивость МБТ устанавливается на 2-3 день.**

