

Кафедра мікробіології,
вірусології, імунології

ПАТОГЕННІ .МІКОБАКТЕРІЇ



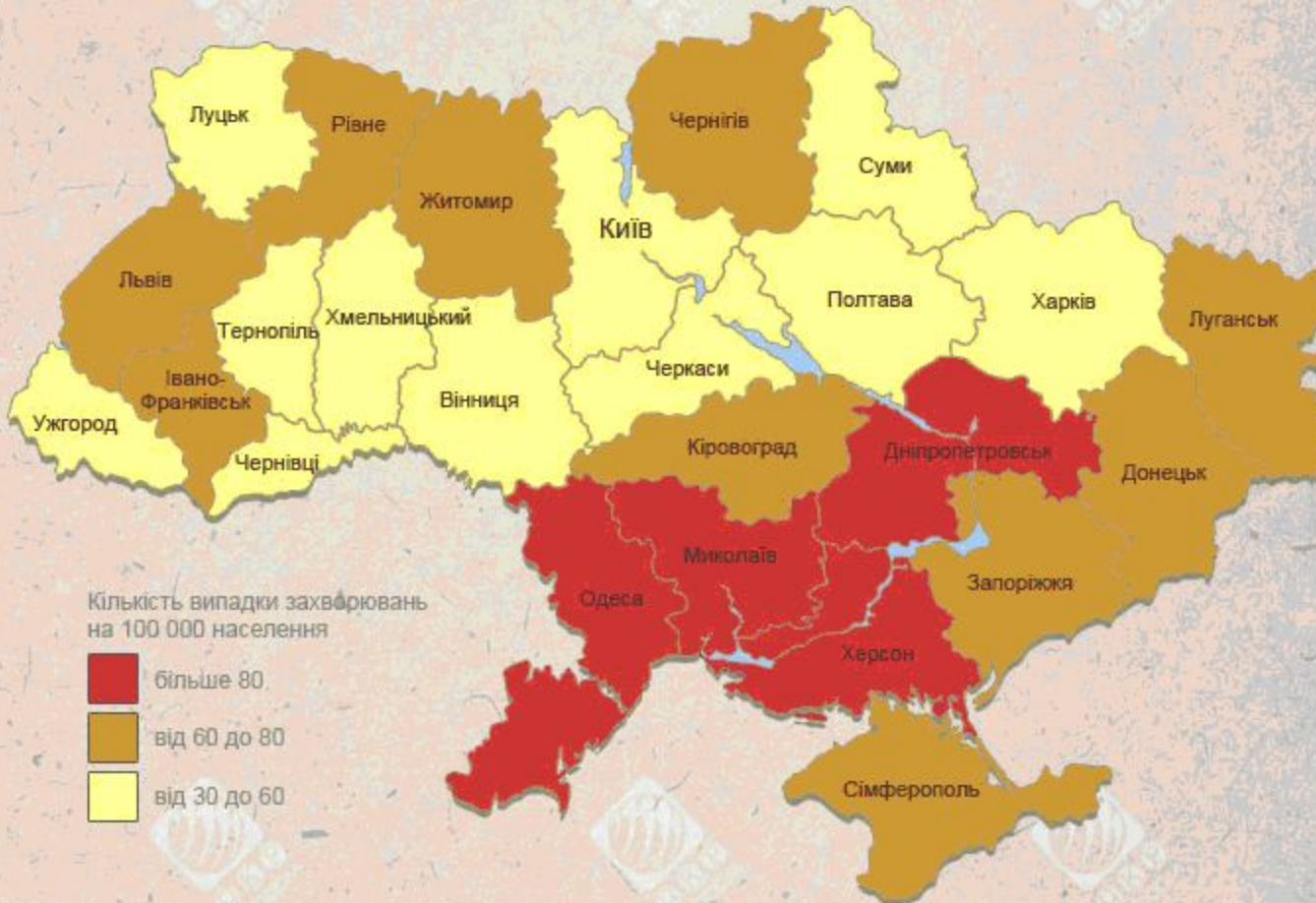
Туберкульоз - первинно-хронічна інфекційна хвороба людей і тварин, яку викликають патогенні мікобактерії, що характеризується ураженням органів дихання, кісток, суглобів, шкіри, сечостатевих органів і ін.

- Україна у рейтингу ВООЗ посідає друге місце у Європі після Росії із пріоритетності боротьби з туберкульозом. Наразі туберкульоз не ліквідований в жодній країні світу. Майже третина населення Земної кулі інфікована туберкульозною паличкою.
- Боротьба з цією хворобою в Україні носить системний характер, а Законом України від 16 жовтня 2012 р. прийнято Загальнодержавну цільову соціальну програму протидії захворюванню на туберкульоз на 2012-2016 роки.



Рівень захворюваності на туберкульоз в Україні

Рівень захворюваності на туберкульоз в Україні (станом на 2011 рік)



За даними МОЗ, захворюваність на туберкульоз в Україні у 2012 році склала 68,1 випадка на 100 тис. населення. Протягом останніх п'яти років рівень смертності від туберкульозу зменшився на 31% і склав за підсумками 2012 року 15,2 випадка на 100 тис. населення.

Динаміка захворюваності на туберкульоз в Україні

- “У 1995 році, за критеріями ВООЗ, в Україні було оголошено епідемію туберкульозу. На сьогодні епідемія туберкульозу в Україні подолана, але наша країна належить до держав з високим рівнем захворюваності на туберкульоз.
- На жаль, дійсного показника захворюваності на туберкульоз ми не мали і не маємо, тому що певна кількість хворих на туберкульоз не виявляється. Якщо подивитися на дані офіційної статистики, то сьогодні ми маємо зменшення захворюваності порівняно з 2013 роком (у 2013 році цей показник був 67,9 на 100 тисяч населення, у 2014 році – 59,5 на 100 тисяч населення)” - директор Національного інституту фтизіатрії та пульмонології Юрій Фещенко.



Динаміка захворюваності на туберкульоз в Україні

- Найвища захворюваність на сухоти відзначається зараз в Африці — 130 випадків на 100 тисяч осіб. У країнах Європи середній показник — 50 випадків на 100 тисяч населення.

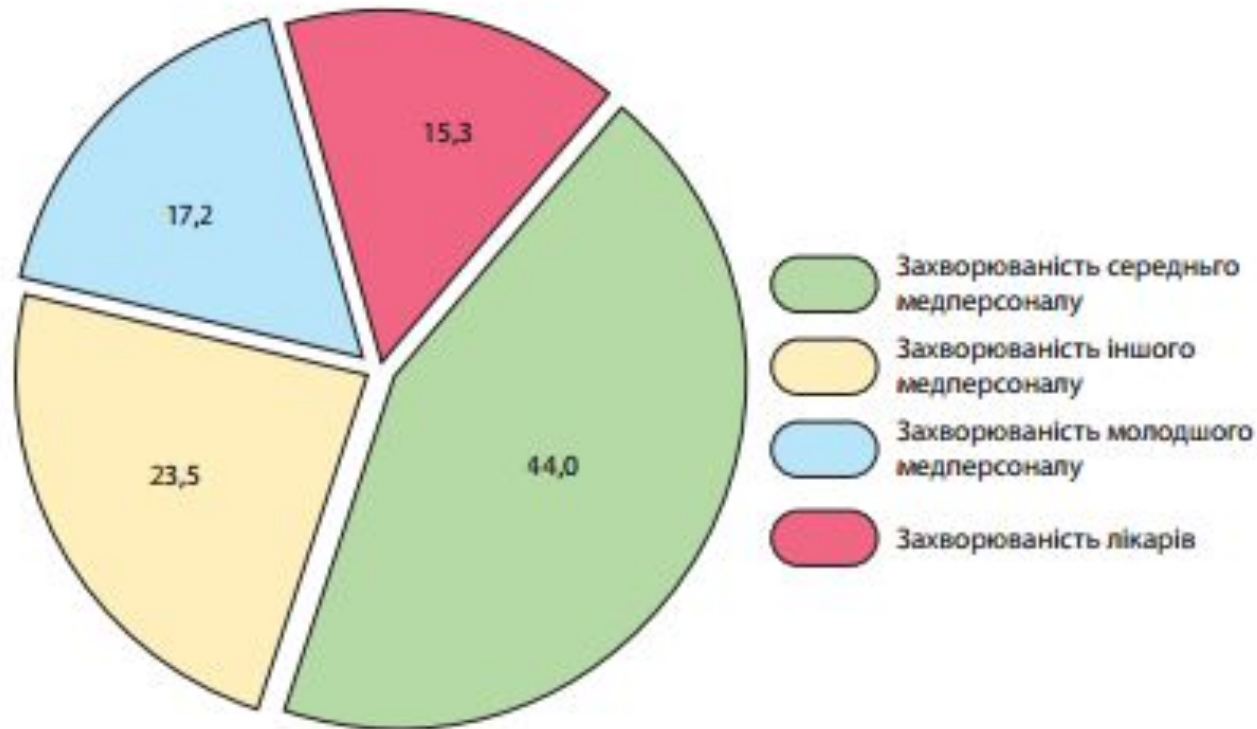
Україна – найгірша з погляду туберкульозної статистики держава європейського регіону після Росії: близько 100 нових захворілих на 100 тисяч населення на рік.



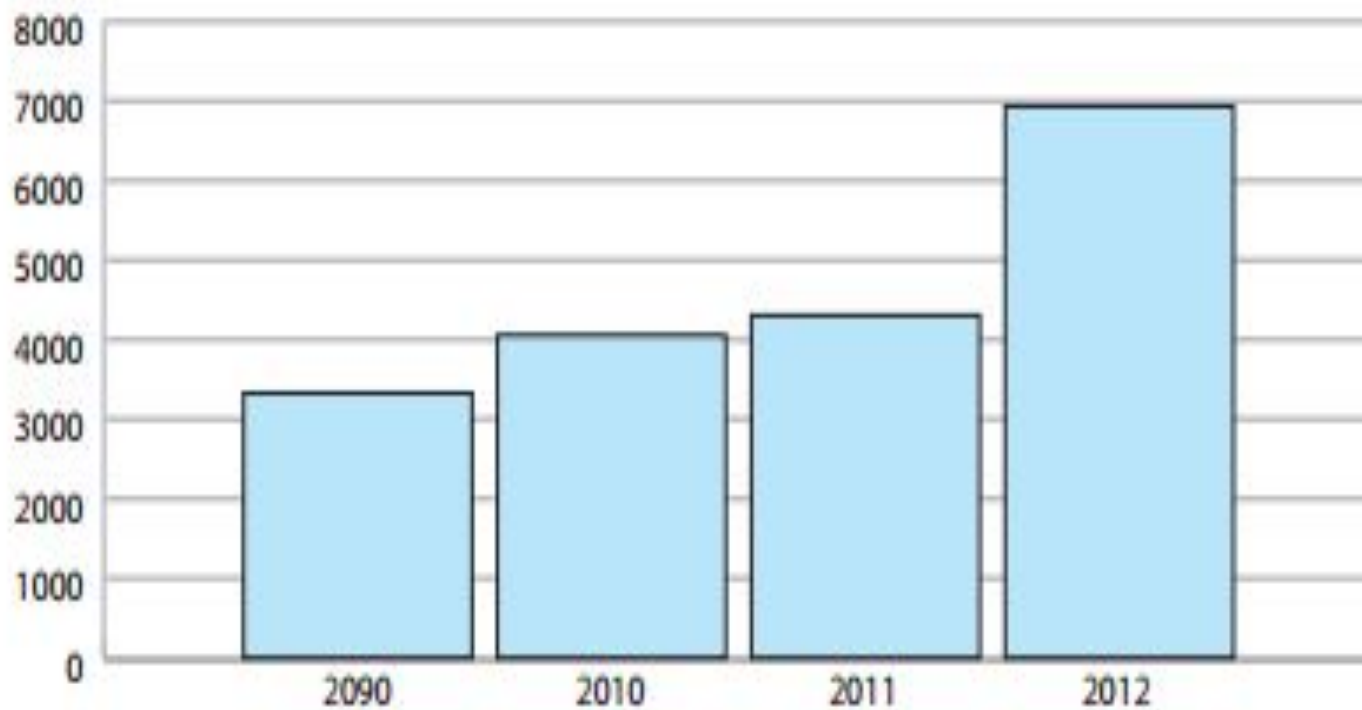
Структура захворюваності на туберкульоз серед медичних працівників різних категорій в Україні за 2012 рік

- У 2012 році на вперше діагностований туберкульоз захворіло 502 медичних працівники, або 6,1 на 10 тис. медпрацівників.

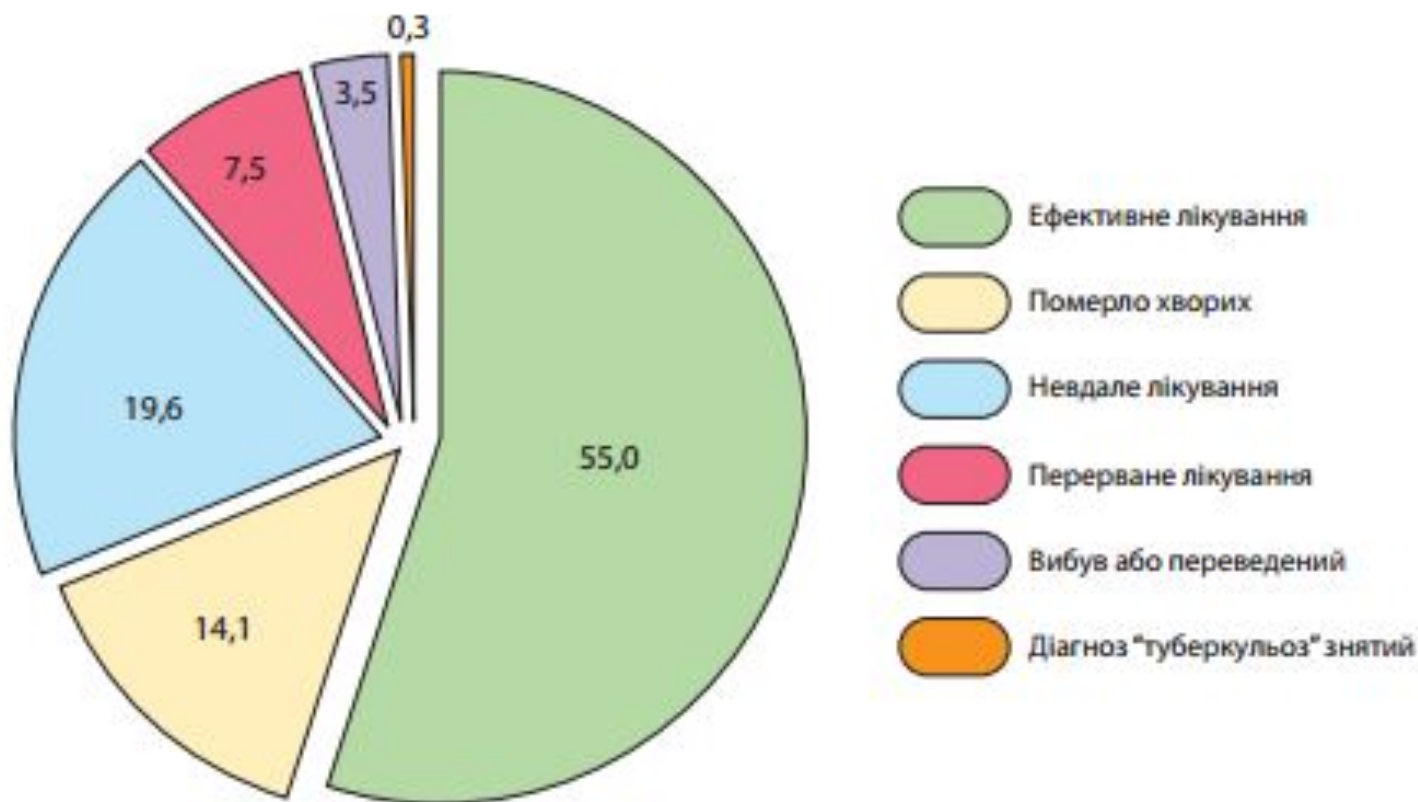
Структура захворюваності на туберкульоз серед медичних працівників різних категорій в Україні за 2012 рік, %



Кількість зареєстрованих випадків підтвердженого мультирезистентного туберкульозу



Результати лікування хворих із вперше діагностованим туберкульозом з позитивним мазком, зареєстрованих у 2011 році, (згідно когортного аналізу)



Факторами, що обумовлюють високий рівень захворюваності на туберкульоз та поширення його мультирезистентної форми, можна вважати:

- недостатнє та несвоєчасне виявлення хворих на заразні форми туберкульозу (захворюваність на бактеріальні форми туберкульозу склала 30,8 на 100 тис. населення) через недосконалість системи охорони здоров'я щодо діагностування звичайного, мультирезистентного туберкульозу та коінфекції ТБ/ВІЛ, недостатньою кількістю медичних працівників, недосконалістю лабораторної мережі з мікробіологічної діагностики туберкульозу, низькою мотивацією населення до своєчасного звернення за медичною допомогою та недостатнім доступом до її отримання уразливих до захворювання на туберкульоз груп населення;
- низька ефективність лікування хворих, яким вперше встановлено діагноз туберкульоз (55,0 %) та з рецидивом захворювання (34,2 %) через відсутність методів швидкої діагностики мультирезистентного туберкульозу, якісного контрольованого лікування, а також через негативне ставлення хворих до лікування, недостатню кількість протитуберкульозних препаратів II ряду.



Історія вивчення туберкульозу



Німецький мікробіолог
**Роберт
Кох**
1843 —1910

У 1882 році виявив збудник туберкульозу - туберкульозну бацилу, яку було названо паличкою Коха (мікобактерія туберкульозу).



Німецький фізик
**Вільгельм Конрад
Рентген**
1845 —1923

У 1895 році вчений відкрив промені та отримав першу рентгенограму. Це дозволило лікарям використовувати рентген для діагностики.



Американський біохімік
**Зельман Абрахам
Ваксман**
1888 —1973

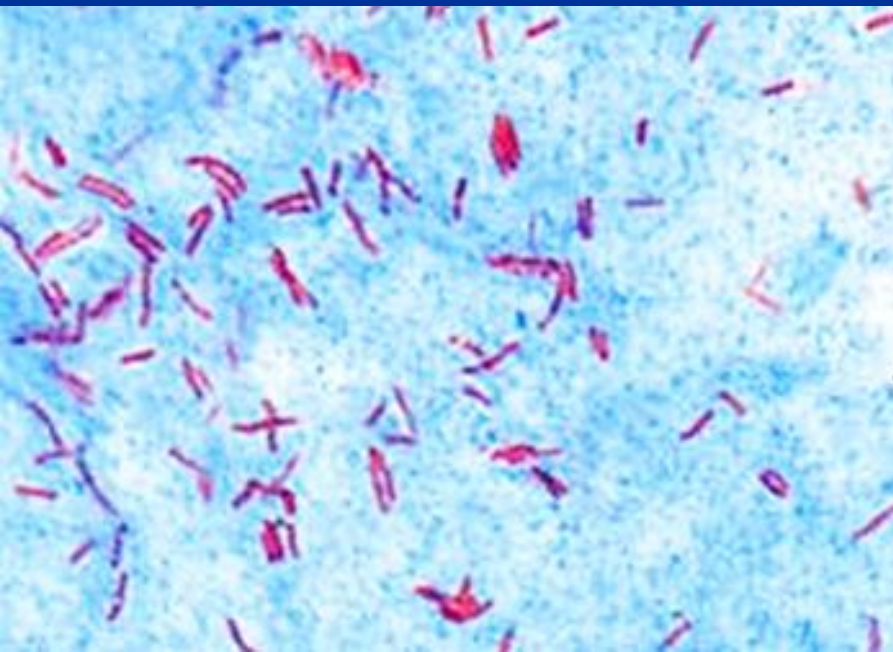
У 1952 році вчений створив перший протимікробний препарат - стрептоміцин, здатний чинити дію на паличку Коха.

Патогенні мікобактерії

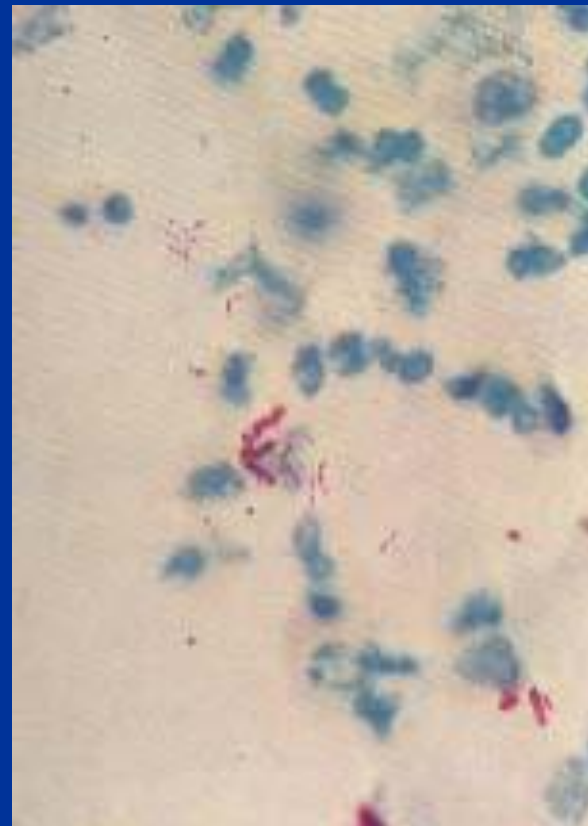
- Всього нараховують понад 100 видів мікобактерій, що широко розповсюджені в природі, 24 з них є патогенними і потенційно патогенними.
- Туберкульоз у людини найчастіше викликають *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* і *M. africanum*, а також, як доведено недавно, *M. microti*.
- Мікобактеріози викликають *M. avium*, *M. asiaticum*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. ulcerans* та ін.
- Ще один представник із роду мікобактерій — *M. leprae* — є збудником прокази.



Морфологія Мікобактерії туберкульозу - тоненькі, прямі або трохи зігнуті палички довжиною 1-4 мкм і шириною 0,2-0,6 мкм, гомогенні або зернисті, грампозитивні, нерухомі, не утворюють спор і капсул, можуть мати гіллясті, ниткоподібні й кокоподібні форми. У цитоплазмі, особливо в клітинній стінці міститься велика кількість високомолекулярних ліпідів, що зумовлює їх високу стійкість до кислот, лугів і спиртів. Вони погано сприймають анілінові барвники.



M. tuberculosis в мазку з харкотиння (зabarвлення за Цілем-Нільсеном)



Mycobacterium tuberculosis
у мазках із сечі



Оцінка мікроскопічної картини

- Позитивну відповідь дають при виявленні туберкульозних паличок у мазку після перегляду не менше 100 полів зору, обов'язково вказуючи кількість бактерій у кожному полі зору. При негативному результаті проглядають ще 200 полів зору.
- Негативний результат мікроскопії не дає права виключити діагноз туберкульозу, але дозволяє оцінити бактеріовиділення мікобактерій хворим. Результати мікроскопії оцінюють кількісно.



Оцінка результатів мікроскопічного дослідження при фарбуванні за методом Ціля-Нільсена

Кількість КСБ	Кількість полів зору для огляду	Форма реєстрації результату	Інтерпретація результату
КСБ не виявлено в 300 полях зору	300	Негативний	Негативний
1–2 КСБ в 100 полях зору	300	Необхідно повторити дослідження	Результат не оцінюється
1–9 КСБ в 100 полях зору	100	_ КСБ в 100 полях зору*	Позитивний
10–99 КСБ в 100 полях зору	100	1+**	Позитивний
1–9 КСБ в 1 полі зору	50	2+**	Позитивний
≥10 КСБ в 1 полі зору	20	3+**	Позитивний

Примітка: КСБ — кислотостійкі бактерії,

* — вказати точну кількість КСБ

** — відповідність градації:

точна кількість — поодинокі КСБ в препараті

«1+» — поодинокі КСБ у полі зору

«2+» — помірна кількість КСБ

«3+» — значна кількість КСБ

Для підвищення частоти знаходження мікобактерій туберкульозу в досліджуваному матеріалі (особливо в харкотинні) застосовують метод збагачення — гомогенізацію.

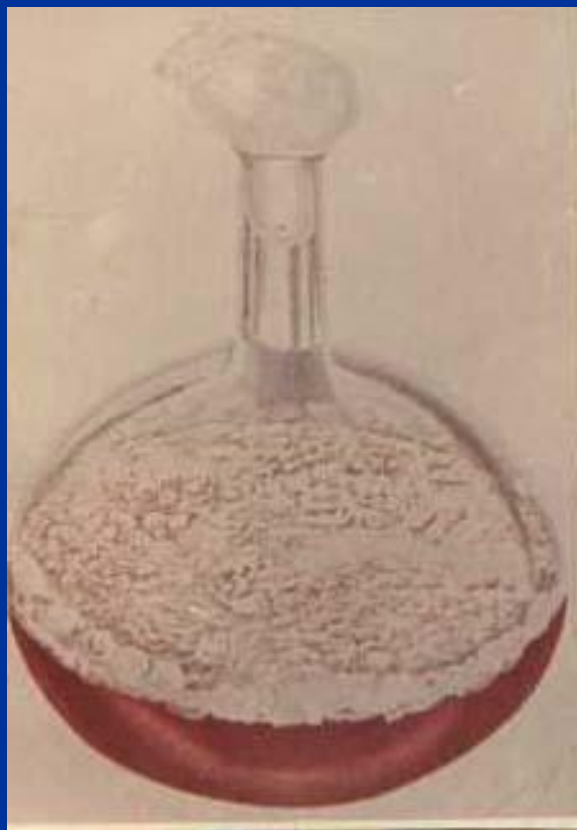
- Добову порцію харкотиння вносять у флакон, добавляють рівний об'єм 10 % розчину тризаміщеного фосфату натрію, щільно закривають гумовою пробкою і струшують у шюттель-апараті 10–15 хв до повного розрідження. Поміщають на 18–20 год у термостат при 37 °С. Гомогенізовану рідину центрифугують, надосадову рідину зливають у розчин хлораміну, осад нейтралізують 2–3 краплями 6 % розчину соляної або 1 % лимонної кислоти до отримання нейтрального значення рН, визначеного індикаторною паперовою смужкою. З осаду готують мазки, забарвлюють за Цілем-Нільсенем і мікроскопують.



Фізіологія мікобактерій

- Мікобактерії туберкульозу вирощують в аеробних умовах на складних живильних середовищах із додаванням яєць, гліцерину, картоплі, вітамінів, глюкози, амінокислот, твіну-80.
- Найчастіше використовують гліцериновий бульйон, середовище Левенштейна-Йєнсена, Петраньяні, Сотона, Фінна.
- Мікобактерії розмножуються дуже повільно, ріст їх досить-таки характерний. На гліцериновому бульйоні через 10-15 днів з'являється плівка, яка поступово товстішає, зморщується, кришиться і опускається на дно, а бульйон залишається прозорим. На щільних середовщах через 10-12 днів виникає сухий, лускоподібний наліт, який поступово переходить у нерівномірні, бородавчасті утворення. Це типові R-форми колоній, які властиві більш вірулентним штамам мікобактерій.





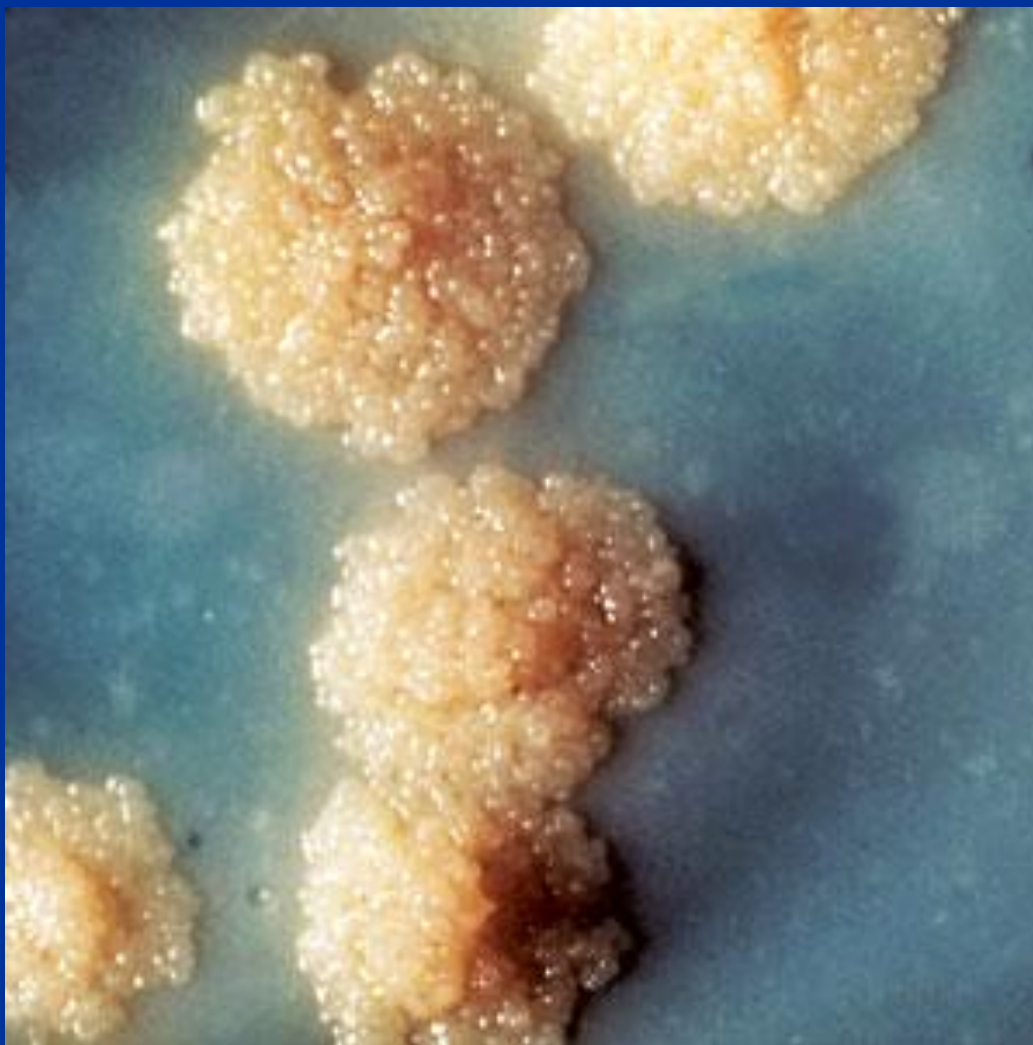
Ріст туберкульозних паличок у рідкому живильному середовищі



Ріст туберкульозних паличок на середовищі
Левенштейна-Йєнсена



Колонії *M. tuberculosis* на щільному середовищі



- Використовують і прискоренний метод культивування за Прайсом на предметних скельцях у кров'яних середовищах. Мікроколонії з'являються через 2-3 дні, мають вигляд кіс або джгутів із-за наявності корд-фактора - спеціальної клейкої речовини, яка властива патогенним видам



Mycobacterium tuberculosis у мікрокультури (дія корд-фактора)



Mycobacterium tuberculosis у мікрокультурі



Для ідентифікації виділених культур збудників туберкульозу і диференціації їх від інших видів мікобактерій використовують багато ознак. Основними з них є вірулентність, швидкість росту, форма колоній, утворення пігменту, каталази, уреази,

нікотинамідази, нітратредуктази

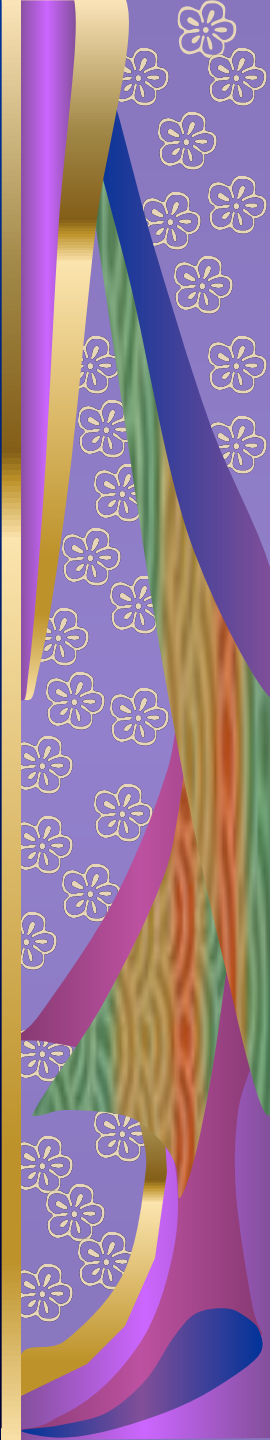
Вид	Час росту, дні	Каталаза, 68 °C	Уреаза	Нікотинамідаза	Ніациназа	Нітратредуктаза	Пігмент
<i>M. tuberculosis</i>	12–25	–	±	+	+	+	–
<i>M. bovis</i>	24–40	–	+	–	–	–	–
<i>M. africanum</i>	31–42	–	+	+	–	–	–
<i>M. kansasii</i>	10–20	+	+	+	–	+	+
<i>M. avium</i>	10–12	+	–	+	–	+	–
<i>M. smegmatis</i>	3–5	±	+	+	–	+	–

Лікарську стійкість збудників туберкульозу визначають

способом серійних розведень перед початком лікування, через 3 місяці і надалі при продовженні виділення туберкульозних паличок через кожні 6 місяців.

Для визначення стійкості мікобактерій повинні використовуватися тільки стандартизовані методи дослідження, що дозволяють:

- правильно вести лікування пацієнтів;
- інтерпретувати і порівнювати дані, одержані з різних джерел;
- проводити оцінку рівнів стійкості до медикаментозних препаратів, а також тенденцій, які спостерігаються в різних регіонах або країнах.

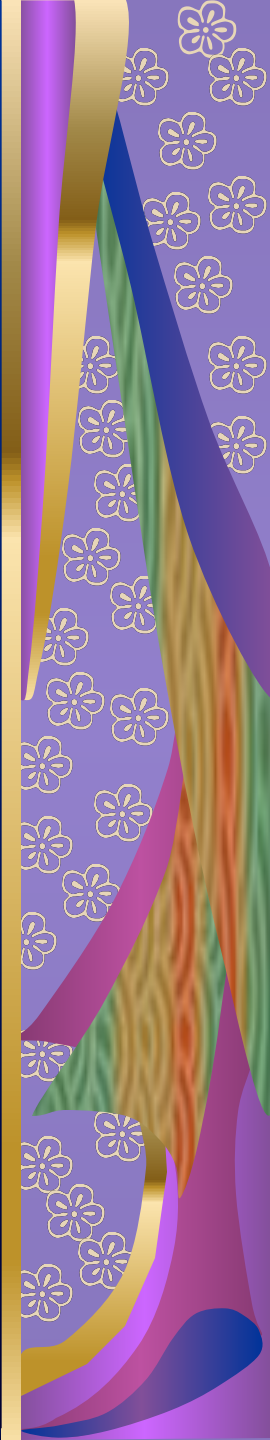


Всі наявні методи визначення чутливості МБТ можна умовно розділити на 2 категорії:

- методи прямого визначення чутливості МБТ:
- методи непрямого визначення чутливості МБТ.
- При використанні методів *прямого визначення чутливості МБТ*, мокрота або інші клінічні матеріали, які заздалегідь знезаражені і гомогенізовані, висіваються безпосередньо на середовища, що містять відповідний препарат. Кількість інокулята визначається в залежності від кількості КСБ, визначеної при мікроскопії мазка.

Методи прямого визначення чутливості мають низку недоліків:

- для дослідження не можна використовувати зразки діагностичного матеріалу, що мають негативний результат мікроскопії;
- при проведенні даного дослідження підвищується ризик контамінації;
- може спостерігатися недостатній ріст культури, що не дозволяє зробити достовірні висновки;
- основним недоліком є неможливість стандартизувати методику.



Методи непрямого визначення чутливості МБТ

- При використанні *методів непрямого визначення чутливості МБТ* проводиться виділення мікроорганізмів з клінічних зразків при культивуванні, а потім на середовище, що містить препарат, висівається гомогенна суспензія або культура, що виросла на бульйоні.
- *Відомо три основних класичних мікробіологічних методи непрямого визначення чутливості МБТ:*
 - *Метод пропорцій;*
 - *Метод абсолютних концентрацій на щільних і рідких середовищах;*
 - *Метод коефіцієнта стійкості.*



В даний час для визначення лікарської чутливості використовують модифікований метод пропорцій з використанням автоматизованої системи MGIT

ВАСТЕС 960



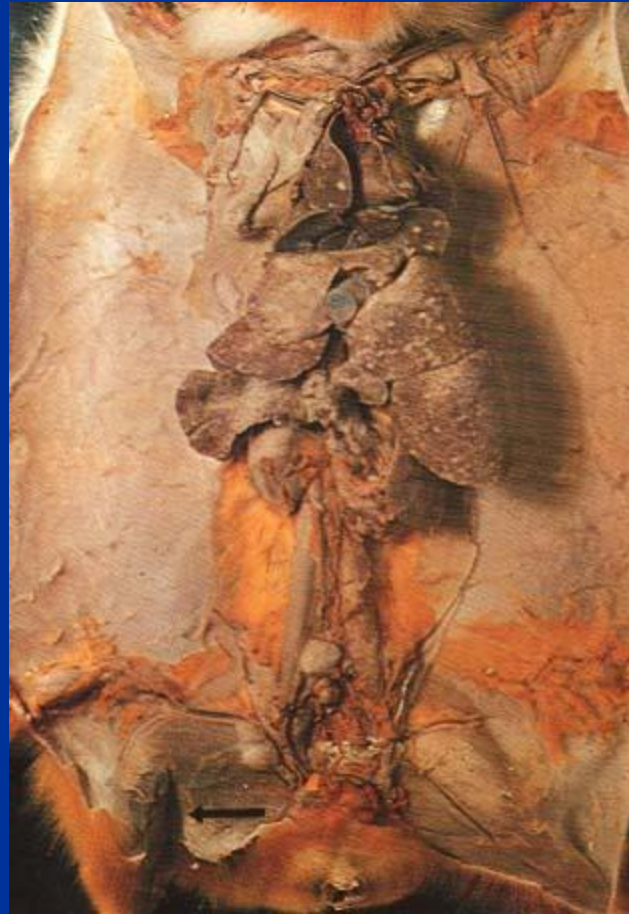
В Україні з 2012 року використовуються автоматизовані системи для експрес-діагностики туберкульозу методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі «GeneXpert»



Біологічна проба

- Являє собою «золотий стандарт» в діагностиці туберкульозу. Морським свинкам підшкірно або внутріочеревинно вводять 1 мл досліджуваного матеріалу (наприклад, мокрота, виділення свищів і т. д.). Через 1-2 міс. розвивається генералізована інфекція з летальним результатом.
- Гвінейських свинок використовують і для виявлення L-форм мікобактерій туберкульозу. В таких випадках потрібно зробити декілька послідовних заражень, оскільки L-форми мають меншу вірулентність і викликають у тварин доброякісний перебіг туберкульозу, який при реверсії L-форм може перейти в генералізований процес.





Туберкульоз у гвінейських свинок





Туберкульоз у кроликів



Серологічна діагностика.

- Хороші результати дає також імуноферментний та імунохроматографічний аналіз, імуноблотинг і реакція агрегат-гемаглютинації для визначення циркулюючих імунних комплексів. більшість сучасних тест-систем засновані на виявленні у сироватці крові пацієнтів антитіл до імунодомінантного антигена мікобактерій А60. Серологічний метод діагностики дозволяє виявити пацієнтів з нелегневими формами туберкульозної інфекції, а також їх доклінічну стадію. Ще точнішим є радіоімунний метод, але із-за високої вартості діагностикумів і відсутності радіометричної апаратури він рідко використовується в лікувальних закладах.
- Імунологічний метод використовують для виявлення показників клітинного імунітету. Застосовують реакцію бласттрансформації лейкоцитів з ППД, реакцію гальмування макрофагів під впливом ППД та інші.



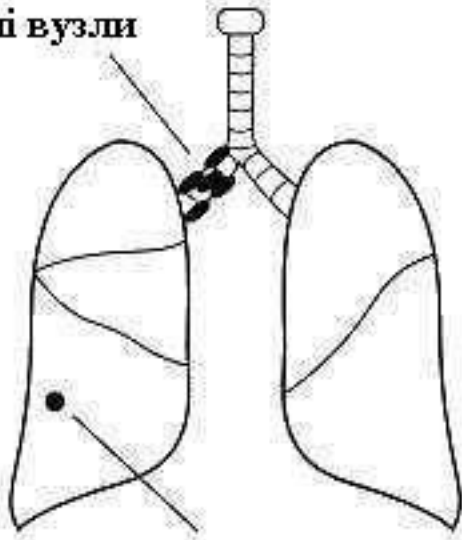
Етіологія

- Резервуар збудника - хвора людина; основний шлях передачі - аерогенний, рідше через шкіру і слизові оболонки. Проникнення збудника не завжди викликає розвиток захворювання; величезну роль грають несприятливі умови життя і праці.



Первинний туберкульоз

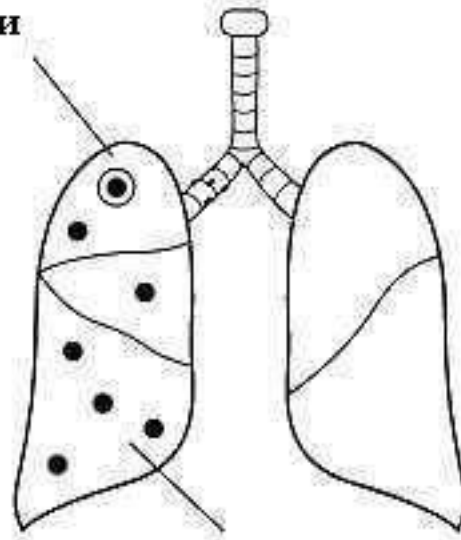
Лімфатичні вузли



Первинне вогнище

Вторинний туберкульоз

Каверни



Міліарні ураження

Механізм формування туберкульозу

проба Манту

Їого використовують для:

- визначення інфікованості населення туберкульозом,
- масового обстеження на туберкульоз дітей і підлітків,
- відбору осіб, яким потрібно проводити ревакцинацію, перевіряти її ефективність
- із метою діагностики туберкульозу та визначення активності процесу.



проба Манту

- Починаючи з 1934 р. для постановки алергічних проб Зейберт запропонував високоочищений препарат туберкуліну, який назвали PPD-S (*Purified protein derivative-Seibert*). Через 5 років М. А. Ліннікова виготовила очищений туберкулін під назвою ППД-Л. Його дозують у туберкулінових одиницях (ТО). 1 ТО вміщує 0,00006 мг сухого препарату. Випускають ППД-Л у двох формах: сухих очищений туберкулін по 50000 ТО в ампулі і ППД-Л у стандартному розведенні в ампулах по 3 мл. У 0,1 мл розчину міститься одна доза (2 ТО).
- Препарат вводять внутрішньошкірно однограмовим туберкуліновим шприцом в об'ємі 0,1 мл у середній третині передпліччя. Перед ін'єкцією шкіру протирають 70 % етиловим спиртом. Тонку голку зрізом вверх вводять у поверхневий шар шкіри паралельно до її поверхні.





Туберкулінова проба Манту



Результати алергічної проби

- Результати алергічної проби оцінюють через 72 год за такою схемою: негативна проба — повна відсутність папули; сумнівна — папула розміром 2-4 мм або лише гіперемія будь-якого розміру; позитивна — папула діаметром 5 мм і більше; гіперергічна — у дітей і підлітків папула діаметром 17 мм і більше, у дорослих — 21 мм і більше.
- **Віраж туберкулінової проби** - перехід негативної туберкулінової проби в позитивну або збільшення діаметра папули в порівнянні з результатом попередньої проби Манту на 6 мм і більше. Віраж свідчить про факт інфікування (не захворювання) людини мікобактерією туберкульозу.



Для специфічної імунопрофілактики

- Застосовують атенуйований штам *M. Bovis*; так звані бацили Кальметта-Герена (БЦЖ). Імунізацію проводять внутрішньошкірним введенням 0,1 мл вакцини всім новонародженим. Після вакцинації на деякий час відмовляються від постановки шкірних проб для попередження гіперергічних ускладнень (некротичні реакції). Реакцію проводять у віці 7, 12, 17, 22, 17-30 років особам з від'ємними реакціями Манту.



Лепра

- Лепра (проказа, або хвороба Хансена) - хронічна генералізована інфекція з переважним ураженням похідних ектодерми (шкіра, і периферична нервова система).
- При лабораторній діагностиці лепри використовують переважно бактеріоскопічний метод дослідження, значно рідше біопробу на мишах і броненосцях-армадилах та алегрічну пробу з лепроміном.

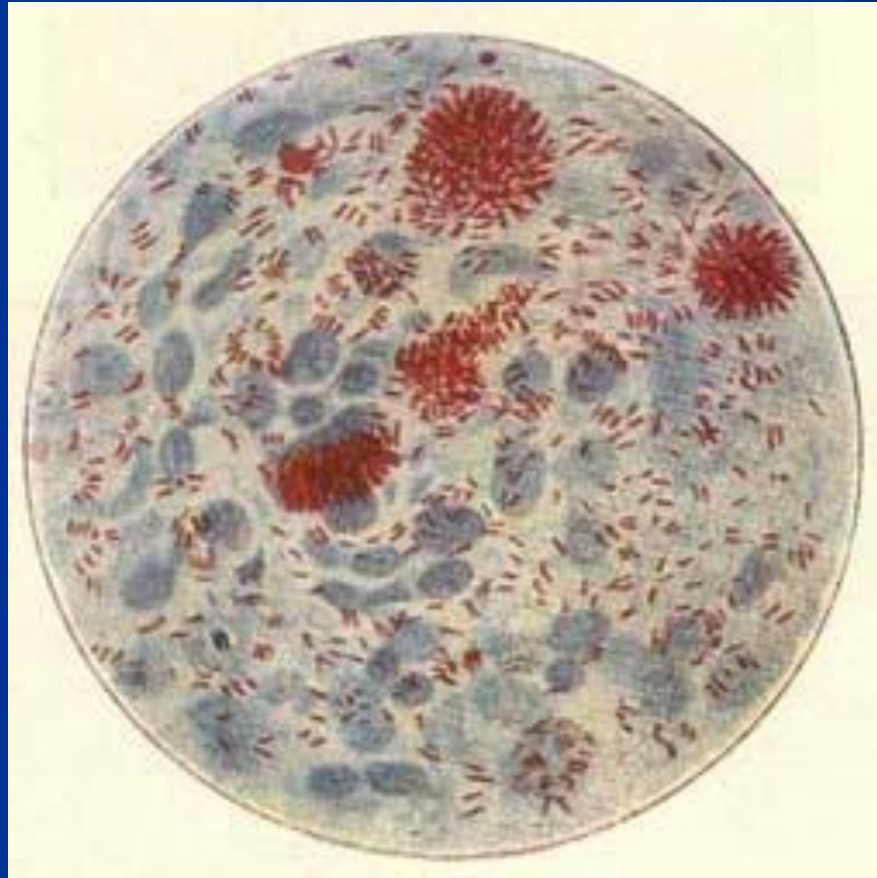


Лепра

- Збудник прокази — бацила Гансена ([Mycobacterium Leprae](#)Збудник прокази — бацила Гансена (Mycobacterium Leprae) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у [Давньому Єгипті](#)Збудник прокази — бацила Гансена (Mycobacterium Leprae) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у Давньому Єгипті, на [Близькому Сході](#)Збудник прокази — бацила Гансена (Mycobacterium Leprae) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у Давньому Єгипті, на Близькому Сході, у [Китаї](#)Збудник прокази — бацила Гансена (Mycobacterium Leprae) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у Давньому Єгипті, на Близькому Сході, у Китаї, [Японії](#)Збудник прокази — бацила Гансена (Mycobacterium Leprae) — був відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном у 1871 р. Це захворювання відоме з давніх часів. Воно було поширене у Давньому Єгипті, на Близькому Сході, у Китаї, Японії, [Індії](#) ще до н. е.
- Загальна кількість хворих на земній кулі — декілька млн чоловік (за даними 1974 р. — приблизно 10 млн). Зустрічається в усіх



Він має вигляд прямих або трохи зігнутих грампозитивних безспорних нерухомих паличок за морфологією і хімічним складом подібних до мікобактерій туберкульозу. Забарвлюються за способом Ціля-Нільсена в червоний колір, кислото-, луго- і спиртостійкість їх дещо менша, ніж у туберкульозних паличок. На відміну від останніх у мазках із патологічного матеріалу розташовуються не поодиночки, а своєрідними скупченнями, які нагадують пачки сигар



Mycobacterium leprae
(зabarвлення за Цілем-Нільсеном)

- Численні спроби виростити збудника лепри на штучних живильних середовищах закінчились безрезультатно. Лабораторні тварини нечутливі до лепрозних бактерій. Останнім часом вдалося розмножити їх в організмі армадил (броненосців) з утворенням численних інфекційних гранульом. Екзотоксину лепрозні бактерії не продукують, але мають ендотоксин і алергени.



Клінічні прояви

- Інкубаційний період триває 4-6 років, нерідко затягується до 10-15 років і більш. Це обумовлено повільним розмноженням збудника. Продромальні явища (лихоманка, слабкість, втрата апетиту, болю в кістках) можуть бути відсутні.





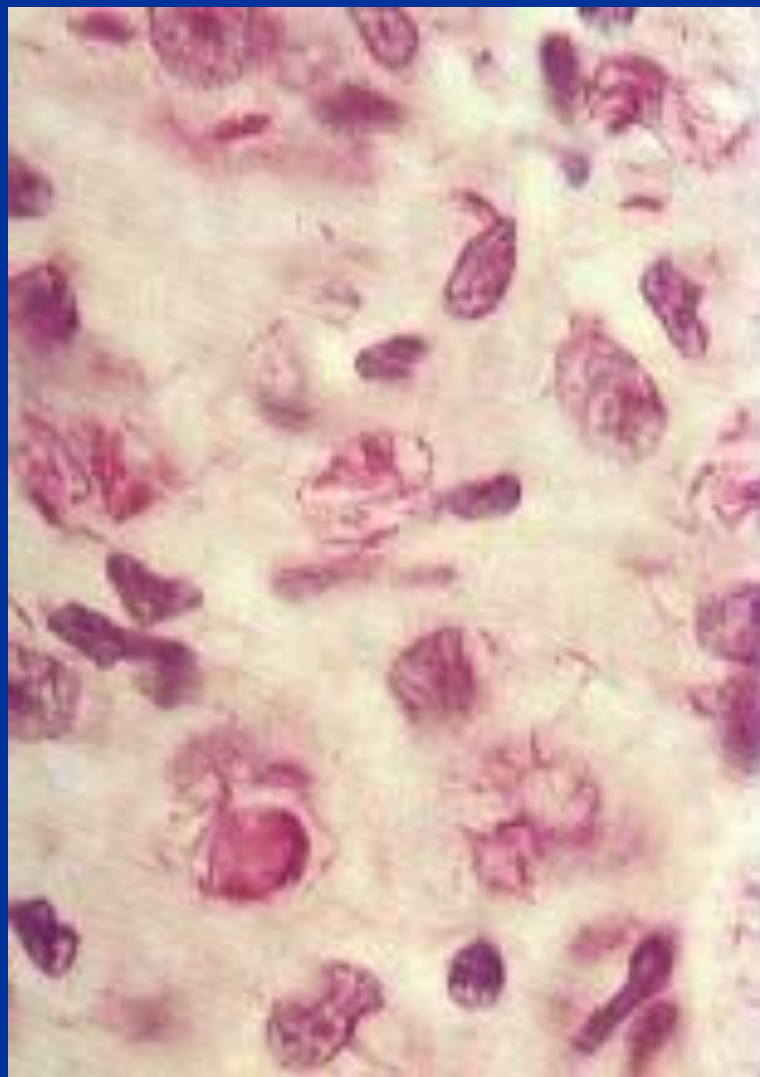
Обличчя хворого на проказу





Розвиваються численні інфільтрати (лепроми), які містять велику кількість лепрозних бактерій. Згодом ці лепроми розпадаються, утворюючи довго незаживаючі виразки





Гістологічне дослідження лепроматозного вузла



Сучасні методи діагностики

- Для виявлення збудника лепри перспективним є використання ПЛР, яка є високочутлива та специфічна, тому що дозволяє виявити ДНК мікобактерій лепри у 95 % хворих багатобактеріальних та у 55 % — малобактеріальними формами хвороби. Але в даний час ПЛР не використовують в клінічній практиці, тому що стандартизовані праймери поки відсутні, а тест-системи проходять стадію розробки і апробації з метою виявлення найпридатніших праймерів.
- Інтенсивне впровадження імунологічних методів у лепрологію дає надію на появу у найближчий час тестів, які дозволять виявити до клінічні форми захворювання, що створить умови для більш сучасного та ефективного лікування.



Лікування

- Проводять інтенсивну і довготривалу хіміотерапію, часто протягом всього життя хворого. Основні препарати - сульфони (дапасон, солюсульфон), рифампіцин, клофазілін - призначаються окремо або в комбінаціях. Для імунопрофілактики лепри створена експериментальна вакцина.



Дякую за увагу

