



СРС:

**ВОЗБУДИТЕЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗА, АТИПИЧНЫЕ МБТ,
МИКОБАКТЕРИОЗЫ, МЕТОДЫ
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
ТУБЕРКУЛЕЗА**

ВОЗБУДИТЕЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗА

ВОЗБУДИТЕЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗА БЫЛ ОТКРЫТ В 1882 Г. РОБЕРТОМ КОХОМ. *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ, БК, палочка Коха) - вид микобактерий, вызывающий туберкулез у человека в 90-95% случаев. Патогенен для человека также бычий вид микобактерий (*M. bovis*), который вызывает чаще внелегочные формы туберкулеза. *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. fortuitum*, *M. chelonai* и др. относятся к нетуберкулезным микобактериям, которые вызывают менее распространенные болезни человека - микобактериозы.

- Чаще микобактерии туберкулеза - это тонкие, прямые или незначительно изогнутые неспорообразующие кислотоустойчивые палочки длиной 1-10 мкм, шириной 0,2-0,6 мкм, гомогенные или зернистые со слегка закругленными концами (Рис. 1). Однако описаны многочисленные морфологические варианты микобактерий: гигантские формы с колбовидно утолщенными разветвлениями, нитевидные, мицелиеподобные и булавовидные, дифтероидные и актиномикотические формы. Иногда они представляют собой цепочки или отдельные скопления кокковидных зерен (Рис. 2). Одним из видов изменчивости МБТ является образование ультрамелких фильтрующихся форм и L-форм.





- МБТ неподвижны, не образуют эндоспор, конидий и капсул. Их относят к облигатным аэробам, факультативным внутриклеточным паразитам. МБТ способны размножаться как в макрофагах, так и внеклеточно в тканях. Естественный резервуар этого возбудителя - человек.

Размножение МБТ происходит путем простого деления на две клетки. Цикл такого деления занимает около 12-20 часов. Наряду с быстро размножающимися существуют медленно размножающиеся и находящиеся в латентном состоянии МБТ. На МБТ с различной биологической активностью и интенсивностью метаболизма по-разному воздействуют противотуберкулезные препараты.



- Основными **биохимическими компонентами** МБТ являются белки, углеводы, липиды. Белки (туберкулопротеиды) являются основными носителями антигенных свойств МБТ и проявляют специфичность в реакциях гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Липиды поверхностной стенки (корд-фактор) микобактерий определяют вирулентность возбудителя. С липидной фракцией связывают устойчивость микобактерий к кислотам, щелочам и спиртам. На плотных средах МБТ растут в виде светло-кремового морщинистого или суховатого чешуйчатого налета (R-формы), образуют колонии с неровными краями, приподнятые в центре. По мере роста они приобретают бородавчатый вид, напоминающий цветную капусту. Культуры микобактерий не всегда типичны, они могут быть влажными, мягкими (S-форма), иногда содержать отдельные гладкие или пигментированные колонии.



- Атипичные микобактерии. По классификации Е. Н. Рунуон они **разделены на четыре группы в зависимости от скорости роста.**
- I группа — фотохромогенные микобактерии — образуют лимонно-желтый пигмент во время экспозиции культуры на свете, колонии вырастают на протяжении 2-3 недель. К этой группе принадлежат *M. kansasii*. Источником инфекции могут быть молоко, большой рогатый скот.
- II группа – скотохромогенные микобактерии, которые образуют оранжево-желтый пигмент во тьме. Распространены в воде и грунте. К этой группе принадлежат *M. scrofulaceum*, *M. aquae*.
- III группа — нефотохромогенные микобактерии. Культуры непигментированные или слабопигментированные, видимый рост наблюдается уже через 5-10 суток. Разные по оптимальной температуре роста и вирулентности. Находятся в воде, в грунте, у разных животных (овец, свиней). Представителями этой группы являются *M. intracellulare*, *M. avium*.
- IV группа — микобактерии, быстро растущие на питательных средах. Рост дают через 2-5 дней. Преимущественно это сапрофиты: *M. fortuitum*, *M. smegmatis*, *M. phlei*.



- Атипичные микобактерии определяются в 0,3-3 % культур, чаще вследствие загрязнения среды. Этиологическая роль их считается доказанной, если из патологического материала они высеиваются повторно и их рост характеризуется большим количеством колоний, а других возбудителей заболевания нет.
- Заболевание, вызванное атипичными штаммами микобактерий туберкулеза, называют микобактериозом. Из штаммов атипичных микобактерий получен продукт их жизнедеятельности — сенситин. При внутрикожном введении сенситина в больных на микобактериоз возникает положительная реакция. По клиническому развитию микобактериоз напоминает туберкулез, быстро прогрессирует, иногда сопровождается кровохарканьем.



БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА

- Бактериологический способ менее доступен и требует гораздо больше времени (от 7 дней до нескольких месяцев), тем не менее он применяется при диагностических исследованиях, поскольку имеет подчас решающее значение в постановке правильного диагноза, например, при дифференциации непатогенных кислотоупорных сапрофитов от туберкулезных микобактерий.



- К бактериологическому исследованию обычно прибегают в случаях, когда бактериоскопический метод, включая и накопление микробов с помощью флотации, дает отрицательные результаты. Бактериологический способ исследования патологического материала распадается на следующие этапы:
 - выделение чистой культуры микобактерий туберкулеза;
 - дифференциация ее от кислотоупорных сапрофитов;
 - биологический метод исследования (определение вирулентности).
 - Выделение чистой культуры микобактерий туберкулеза осуществляют посевом исследуемого материала на питательные среды. Следует при этом иметь в виду, что мокрота, кал и т. п., наряду с туберкулезными микробактериями, содержат множество других микробов, способных быстро размножиться и подавлять рост возбудителя туберкулеза. Поэтому туберкулезный материал до бактериологического исследования следует освободить от сопутствующей микрофлоры. Для этого пользуются двумя приемами.



- **Мокрота.** Наиболее распространенным методом обработки материала на туберкулез является метод Гона. При этом методе мокроту собирают в стерильные баночки в утренние часы или в течение суток. Выбирают из нее гнойные частицы. Последние исследуют в окрашенных по Цилю и Граму мазках. Затем берут около 3 мл мокроты (с гнойными комочками), добавляют 6 мл 6-10% раствора серной кислоты, энергично в течение 10 минут встряхивают до полной гомогенизации, потом центрифугируют в стерильной центрифужной пробирке, жидкость сливают, а осадок сеют на яичные среды. Действие серной кислоты (с момента добавления до момента посева, включая и время центрифугирования) должно длиться 20 минут.



- **Метод Мазура.** В ряд широких пробирок наливают по 3 мл 2-3% раствора серной кислоты. Затем, поместив в пробирки гнойные комочки мокроты, гомогенизируют их, умеренно сильно ударяя нижними частями пробирок об упругие поверхности (ладонь, предплечье, сложенное на столе полотенце) в течение 3 минут. При этом над эмульсией мокроты образуется толстый слой пены, содержащий смесь жизнеспособных туберкулезных микобактерий и убитых посторонних микробов. Часть такой пены сеют на яичную среду.



- ▣ **Обработка гортанного мазка.** У детей и лиц, не выделяющих мокроты, микобактерии туберкулеза часто можно обнаружить в слизи из гортани. Последнюю снимают ватным тампоном, накрученным на нарезки слегка изогнутого металлического зонда длиной 20 см и толщиной 1 мм. До употребления зонд с тампоном заворачивают в бумагу и стерилизуют обычным способом. Прежде чем взять мазок, больному предлагают покашлять и под контролем гортанного зеркала тампоном снимают слизь с гортани. Затем тампон, снятый с зонда, помещают в пробирку с 5 мл 6% раствора серной кислоты, сильно в течение 5 минут встряхивают, после чего тампон удаляют стерильным пинцетом, предварительно отжав из него жидкость в пробирку. Содержимое пробирки центрифугируют и осадок сеют на яичные среды.



- **Промывные воды желудка.** Промывные воды желудка рекомендуют исследовать у детей, которые, как правило, не умеют отплевывать мокроту и обычно проглатывают ее, а также у взрослых, не выделяющих мокроту или выделяющих ее в незначительном количестве. В подобных случаях промывание желудка и бактериологическое исследование осадка из этих вод оказывается наиболее чувствительным методом обнаружения возбудителя туберкулеза.
- Промывные воды получают с помощью желудочного зонда у больных, которым утром натощак дают выпить стакан кипяченой воды. Вытекающую через зонд жидкость собирают в стерильную посуду. Эти воды нейтрализуют 20% раствором двууглекислой соды до нейтральной по лакмусу реакции, отстаивают 1-2 часа (или центрифугируют) и исследуют гнойные частицы осадка так же, как мокроту. Обработку и посев промывных вод не следует откладывать, так как через 6 часов после взятия материала жизнеспособность туберкулезных бактерий под влиянием желудочного сока заметно ослабевает.



- ❑ **Кал.** Кал растирают в стерильной ступке с дистиллированной водой (5 г. кала + 10 мл воды) и оставляют в покое на 30 минут. За это время крупные частицы оседают на дно. Образовавшуюся на поверхности пленку снимают стерильной ложкой, которую смывают в пробирку 10 мл 4% раствора едкого натра и выдерживают 3 часа в термостате при периодическом встряхивании. После этого взвесь центрифугируют, осадок нейтрализуют по лакмусу несколькими каплями 8-10% раствора соляной кислоты и сеют на яичные среды.
- ❑ **Моча.** При исследовании мочи следует помнить, что микобактерий туберкулеза в ней бывает мало. Обычно берут утреннюю мочу, а иногда и суточную. Для концентрации микробов в небольшом объеме пользуются центрифугированием со скоростью 3 000-6 000 об/мин всей порции мочи. Осадок сливают в одну пробирку и исследуют бактериоскопически. При отсутствии посторонних микробов сеют без предварительной обработки серной кислотой.
- ❑ В противном случае добавляют, к осадку двойной объем 6% раствора серной кислоты, перемешивают, центрифугируют и сеют полученный осадок на яичные среды (обработка кислотой, включая процедуру центрифугирования, продолжается 20 минут).



- **Гной, экссудат, спинномозговую жидкость** центрифугируют и осадок, не содержащий посторонних микробов, сеют на среды. Если материал не стерилен, осадок обрабатывают так же, как мокроту.
- **Обработка кусочков органов.** Кусочки органов или желез измельчают в стерильной ступке сначала ножницами, а потом пестиком до кашицеобразной консистенции, добавляют 5 мл 6-10% раствора серной кислоты. Продолжая действовать пестиком, превращают всю массу в суспензию. Последнюю центрифугируют и сеют на яичные среды. Процесс обработки кислотой, включая процедуру центрифугирования, должен длиться 20 минут.



- ▣ **Обработка крови.** К 5 мл стерильно взятой крови добавляют 3 мл 10% раствора лимоннокислого натрия, тщательно перемешивают встряхиванием и оставляют на 2-3 часа для получения осадка (или центрифугируют). Плазму отсасывают стерильной пипеткой, осадок переносят в колбу с 40-50 мл дистиллированной воды, осторожно перемешивают круговыми движениями колбы, затем переливают в центрифужные пробирки, центрифугируют 5-10 минут при 3 000 об/мин. Осадок при центрифугировании промывают дистиллированной водой, смешивают его с 1 мл 5% раствора серной кислоты, встряхивают в течение 3 минут, добавляют 5 мл стерильной дистиллированной воды и снова центрифугируют. После этого осадок измучивают в 1 мл физиологического раствора и стерильной пипеткой сеют на питательную среду.
- ▣ **Молоко.** Для бактериологического исследования берут свежее молоко в количестве 30 мл. Его центрифугируют в течение 15-20 минут при 3 000 об/мин. Осадок сеют на питательную среду после предварительной обработки серной кислотой.

