

Кафедра микробиологии и вирусологии РГМУ
им.Н.И.Пирогова

ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Лабораторная диагностика коклюша и ВКИ, вызываемых менингококками, стрептококками, пневмококками, микоплазмами

- Этиологическая структура бактериальных воздушно-капельных инфекций
- **Bordetella pertussis**
- **Neisseria meningitidis**
- **Streptococcus pyogenes**
- **Streptococcus pneumoniae**
- **Mycoplasma pneumoniae**

Цель работы микробиологической лаборатории

- **Информация о наличии или отсутствии предполагаемого возбудителя инфекционного заболевания в клиническом материале**
- **Определение чувствительности микроорганизма к различным антибактериальным препаратам**

Принципы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний

- **1 этап** - взятие материала для исследования. Выбор определяется патогенезом и клинической картиной заболевания
Материалом для исследования служат различные биологические жидкости организма, соскобы и другой патологический материал. Взятие материала проводят в стерильных условиях
- **2 этап** – использование современных методов исследования, включая микроскопический, культуральный, серологический, биологический, а также аллергические пробы и молекулярно-генетические методы
- **3 этап** - клиническая интерпретация результатов лабораторных исследований

Коклюш

- Коклюш – это острое респираторное инфекционное заболевание, которое характеризуется
- Затяжным течением
- Наличием судорожного приступообразного кашля

Коклюш

Эпидемиология

- Это высоко контагиозное заболевание, к которому очень восприимчивы дети, но иногда болеют взрослые
- У детей до **3-х** лет коклюш может протекать в очень тяжелой форме
- Источник инфекции – больной (заразен до **25-30**дн) или бактерионоситель
- **Периоды заболевания:**
 - инкубационный (**5-8**дн, до**14**)
 - катаральный (**5-14**дней)
 - судорожный (**2-8** недель)
 - период разрешения (**2-4** недели)

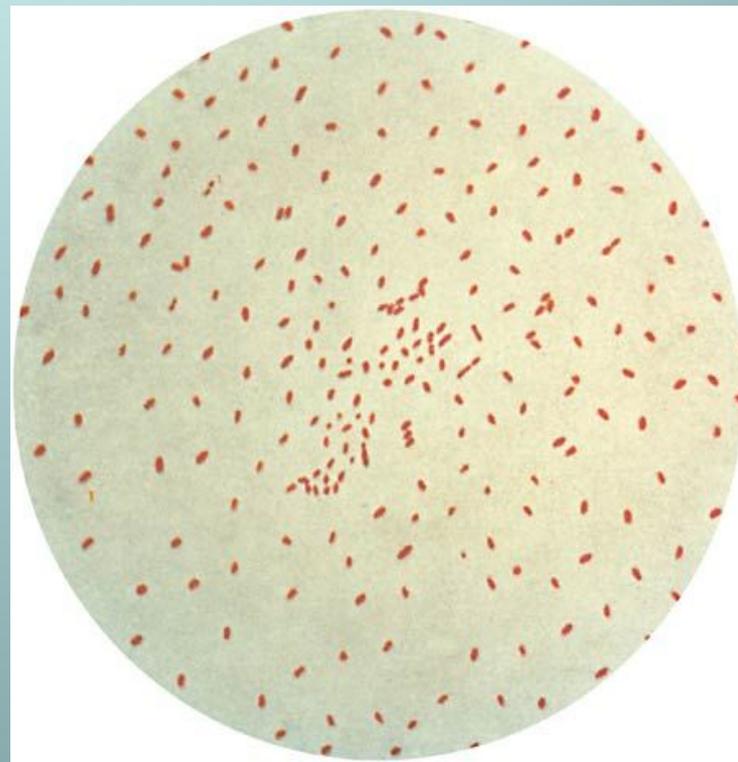
Возбудитель коклюша – **Bordetella pertussis**

Этиология

- Бордетеллы выделены в особую группу
- **B.pertussis** – грамотрицательные палочки,
чувствительные
к внешним воздействиям,
не переносят высушивания,
УФ, гибнут при **56° С**
через **10-15** мин.

B.pertussis

окраска по Граму



Факторы патогенности **B.pertussis**

- факторы адгезии и колонизации

- Пили содержат
филаментный гемагглютинин - белок, который связывает бактерии с ресничками эпителия
- Капсула - антифагоцитарный фактор

Факторы патогенности **B.pertussis**

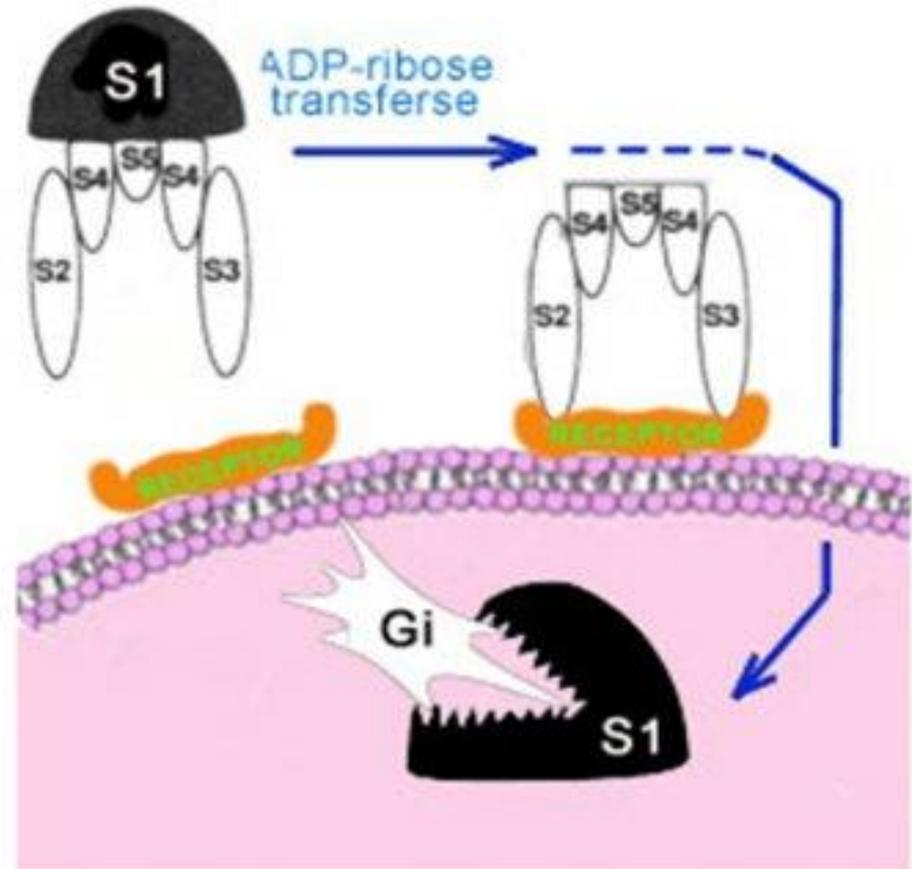
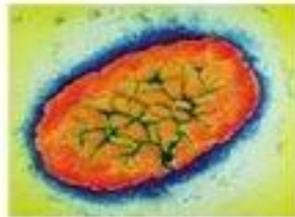
Токсические вещества

- **Эндотоксин (ЛПС)**- системное воздействие (лихорадка)
- **Трахеальный цитотоксин** (муреин)
 - разрушает клетки реснитчатого эпителия
- **Коклюшный токсин – термостабильный**, системное и местное воздействие, биохимическая активность -
ADP-рибозилирующий белок, нарушающий хемотаксис нейтрофилов, процесс фагоцитоза

Механизм действия: воздействуя на **G**-белок клеточной мембраны, способствует повышению внутриклеточного синтеза цАМФ и выделению слизи из клеток эпителия в виде вязкой мокроты

Коклюшный токсин

Коклюшный токсин является также АДФ-рибозил-трансферазой. Однако в этом случае модификация Gi-субъединицы G-белка препятствует его взаимодействию с рецепторами, поэтому при активации рецептора аденилатциклаза не ингибируется.

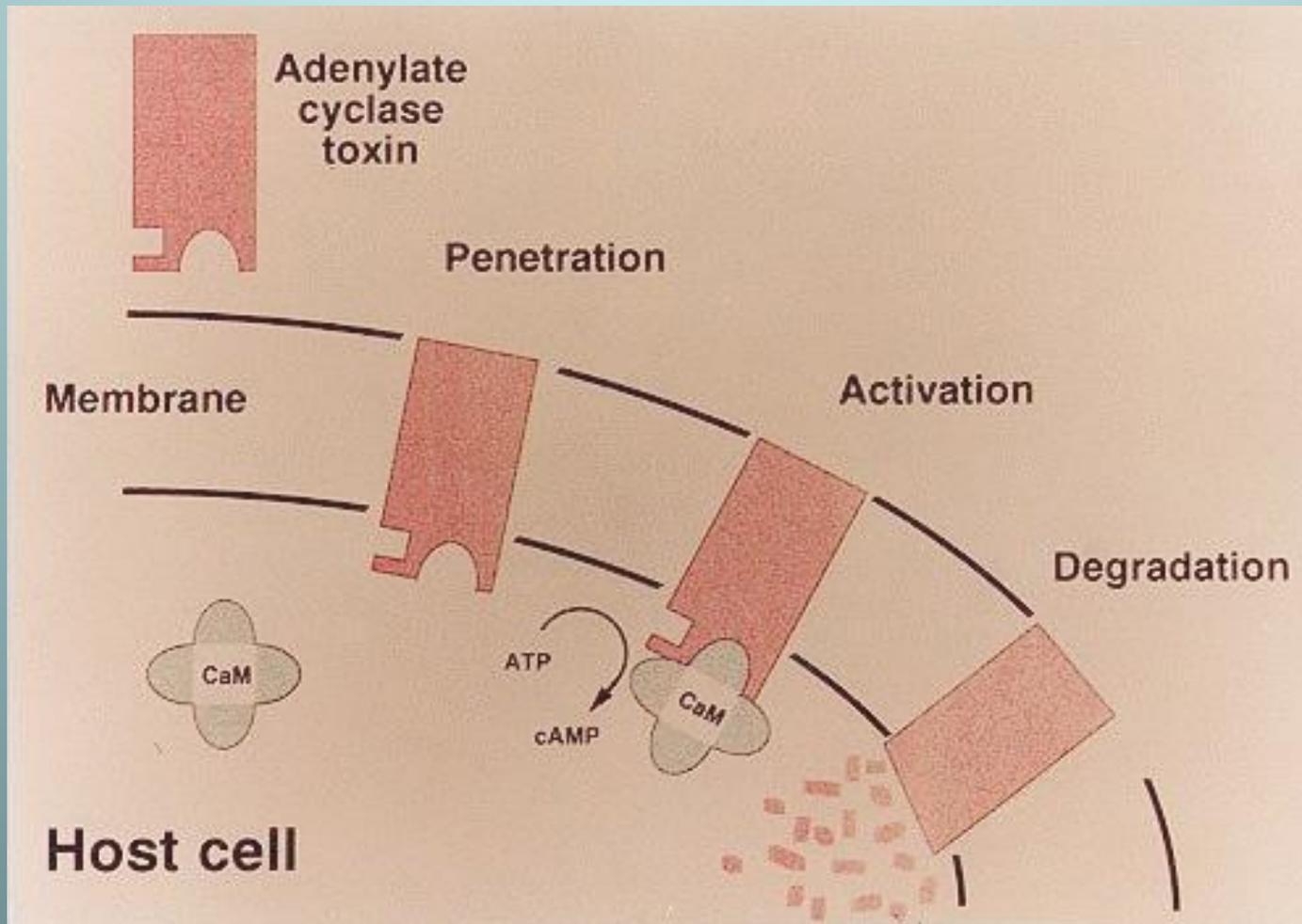


Благодарность - *Bordetella pertussis*

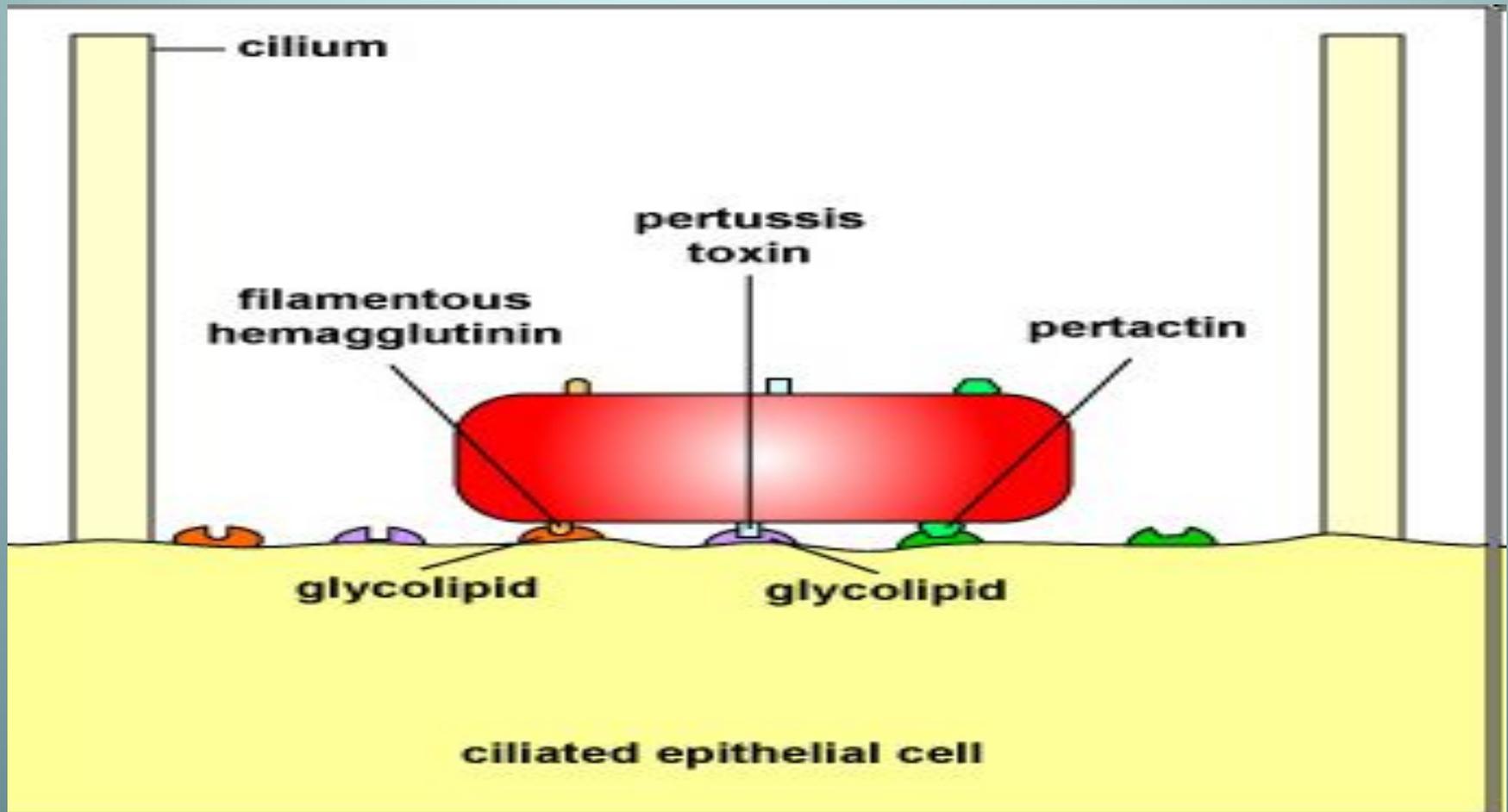
Факторы патогенности (продолжение)

- **Аденилатциклаза** – фермент (белок) – местное воздействие: превращает АТФ в цАМФ,
 - усиливает действие коклюшного токсина,
 - повышает проницаемость капилляров, что приводит к отеку,
 - обладает антифагоцитарной активностью
-
- **Термолабильный токсин** – белок, связанный с цитоплазмой, прямое действие на клетки реснитчатого эпителия
 - **Гемолизин** – местное воздействие на эпителий

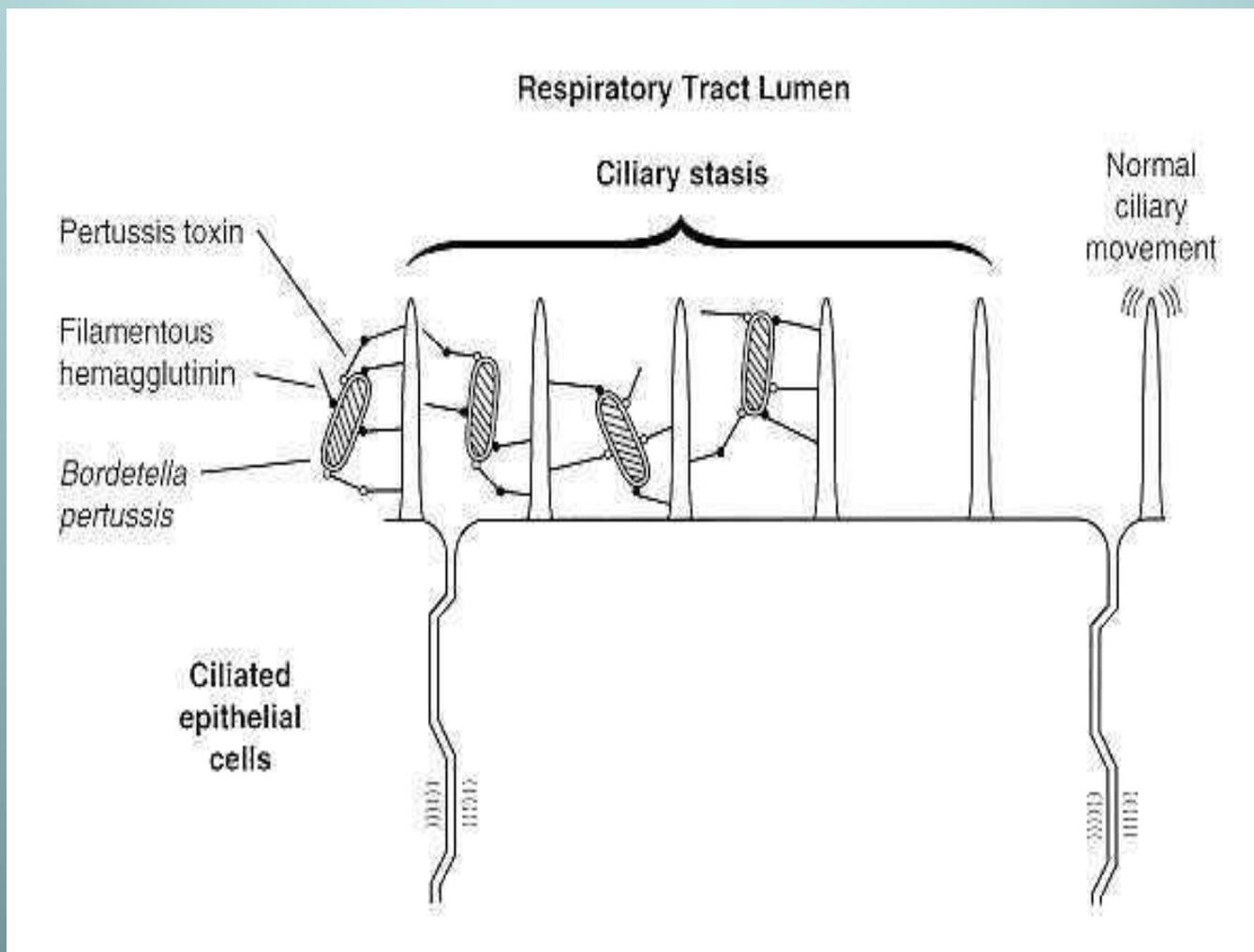
Аденилатциклаза – фактор патогенности - усиливает действие КОКЛЮШНОГО ТОКСИНА



Адгезия ***B. pertussis*** на клетках реснитчатого эпителия с участием
филаментного гемагглютинаина, коклюшного токсина



Синергизм филаментного гемагглютинаина и коклюшного токсина в процессе адгезии на клетках реснитчатого эпителия (цилиарный стаз)



Лабораторная диагностика коклюша



- Основные методы лабораторной диагностики коклюша

бактериологический
и серологический

1 этап микробиологической диагностики

- **Клинический материал собирают**
сухим тампоном с задней стенки глотки и делают посев на питательные среды
- **Материал целесообразно получать до начала антимикробной терапии**
- **Необходимо соблюдение асептики,**
не следует допускать контаминации посторонней микрофлорой

Взятие мазка



2 этап -аналитический

Бактериологический метод

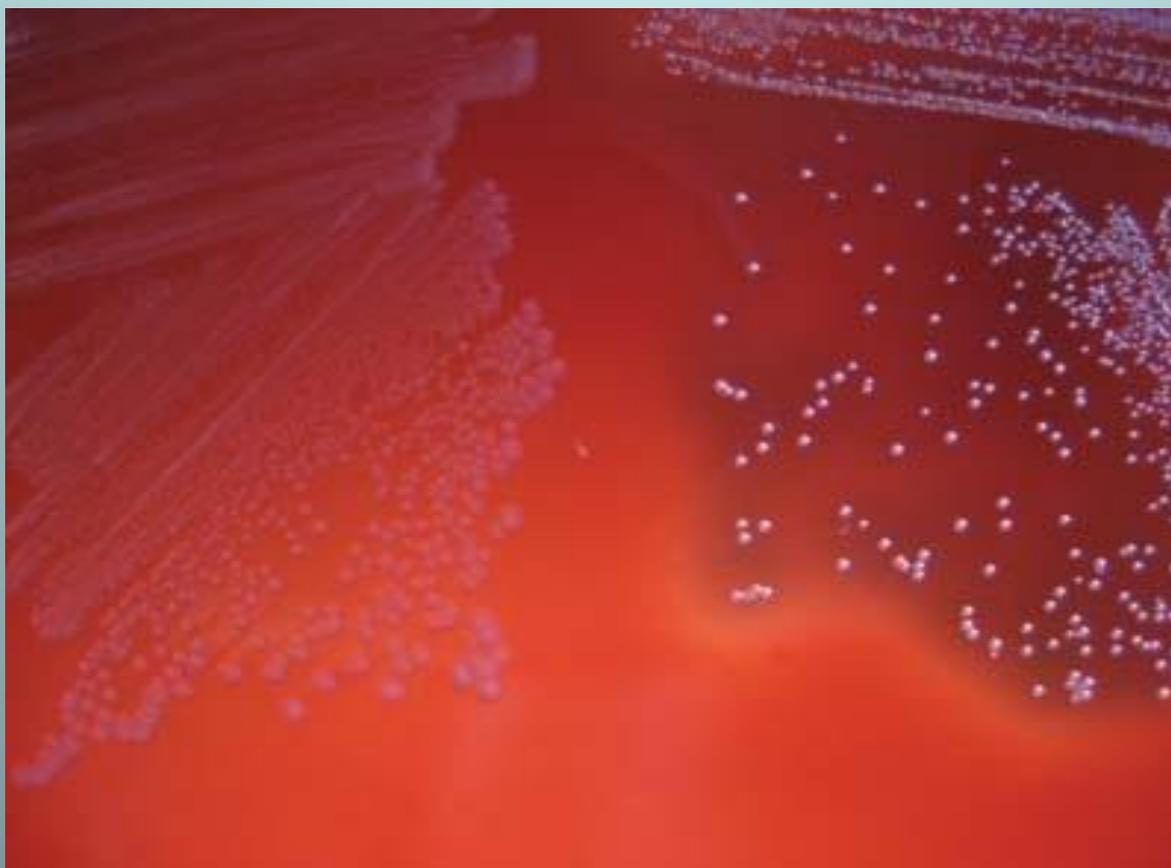
Цель бактериологического исследования:

- Идентификация возбудителя коклюша
- Дифференциальный анализ культуральных свойств возбудителей коклюша (**B.pertussis**) и паракоклюша (**B.parapertussis**)

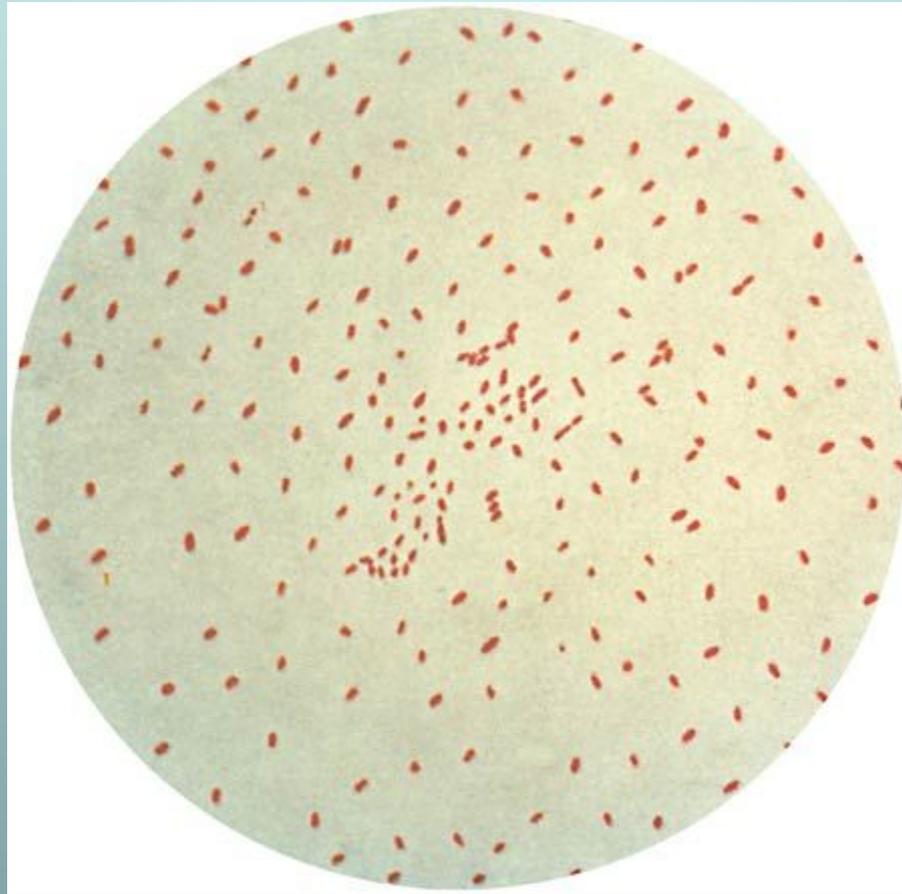
Используют следующие питательные среды:

- картофельно-глицериновый агар Борде
- казеиновый-угольный агар, кровяной агар
- **Результаты культурального метода:**
- Палочки коклюша через **48-72**ч роста образуют мелкие блестящие колонии серого цвета
- Паракоклюшные палочки через **24-48**ч роста образуют колонии несколько крупнее

Рост ***V. pertussis***
на кровяном агаре Борде-Жангу



Морфологический метод
грамотрицательные палочки **B.pertussis**



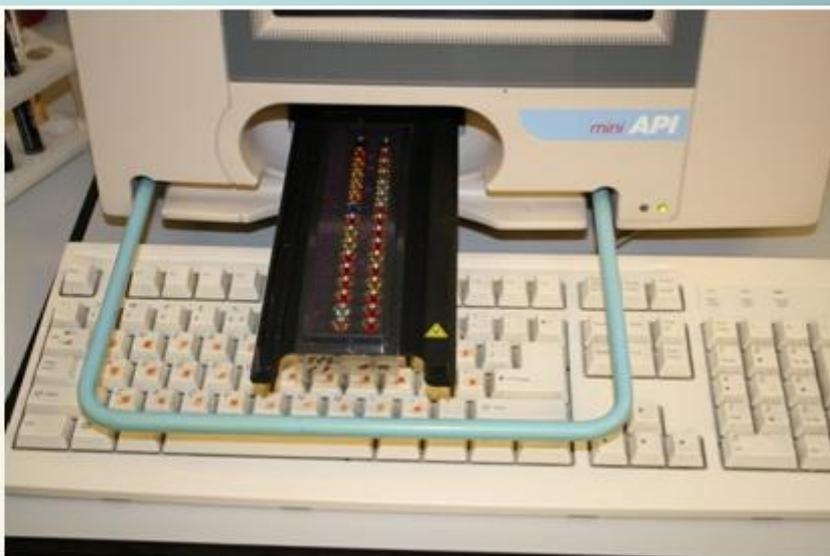
Дифференциальные характеристики возбудителей коклюша и паракоклюша

TABLE 31-1 Differential Characteristics of *B pertussis* and *B parapertussis*

Characteristic	<i>B pertussis</i>	<i>B parapertussis</i>
Motility	— ^a	—
Growth on blood-free peptone agar	—	+ ^a
Pigment production	—	+
Nitrate reduction	—	—
Urea hydrolysis	—	+
Oxidase reaction	+	—

^a+, Present; —, absent.

Определение чувствительности к антибиотикам



Серологический метод диагностики коклюша (идентификация антигенов)

- Используют образцы антигенов - с **1** по **14**
- Антиген **7** определяет род **Bordetella**,
- Антиген **1** определяет **Bordetella pertussis**,
- Антиген **14** – **B.parapertussis**

- ИФА используют для определения **sIgA** в носоглоточной слизи, начиная с **2-3** недели заболевания
- РПГА используют при анализе сывороток через **10-14** дней, диагностический титр **1:80**, у здоровых детей **1:20**

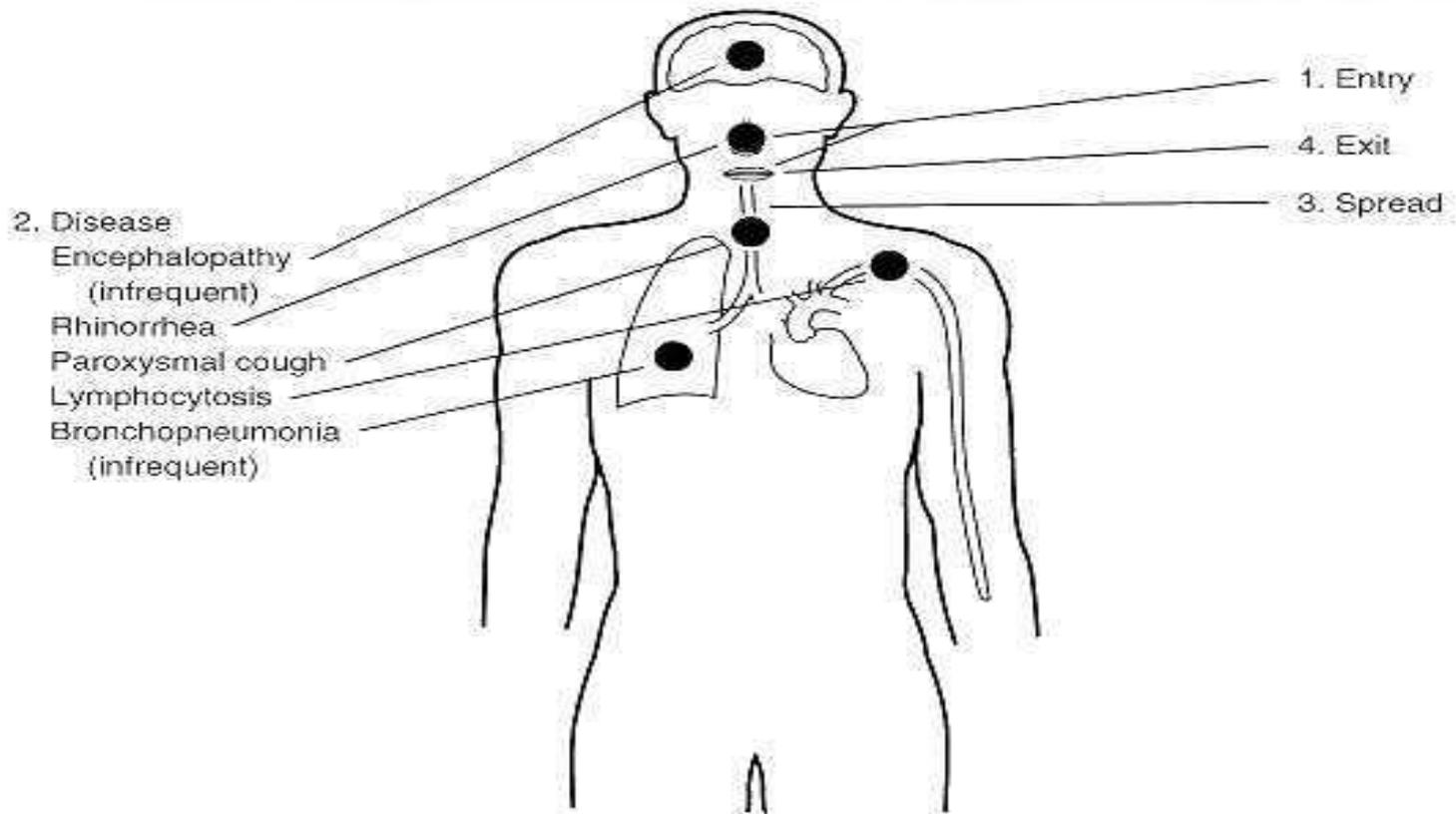
3 этап микробиологической диагностики

- Клиническая интерпретация результатов лабораторной диагностики коклюша

Для специфических инфекций, таких как коклюш, менингит, дифтерия, в норме результат отрицательный

Патогенез коклюша

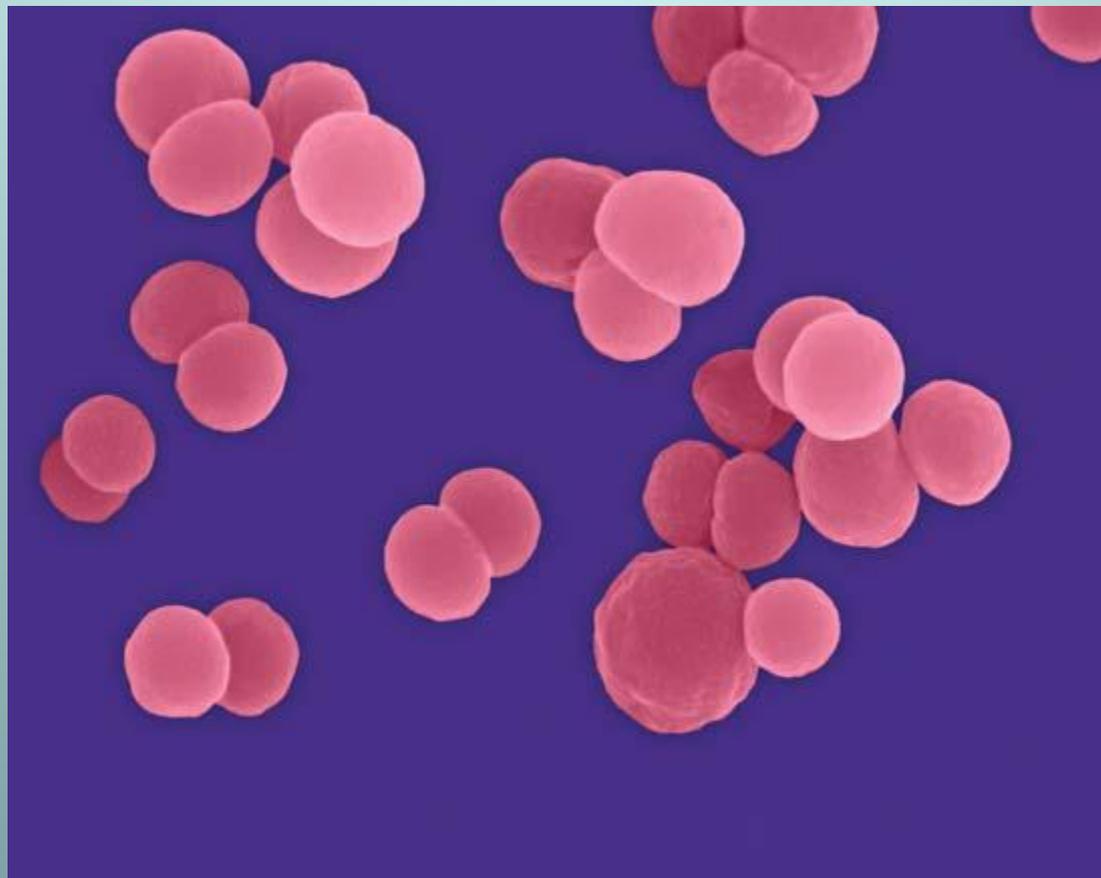
контакт, внедрение, распространение. Заболевания - энцефалопатия, ринорея, пароксизмальный кашель, лимфоцитоз, бронхопневмония



Профилактика коклюша

- Комбинированная вакцина АКДС (адсорбированная коклюшно – дифтерийно – столбнячная вакцина) включает дифтерийный и столбнячный анатоксины, а также убитые цельные микроорганизмы - возбудители коклюша
- Современная вакцина АКаДС включает неклочный коклюшный компонент
- Среди новых разработок – комбинированная вакцина против дифтерии, коклюша, столбняка и полиомиелита

Инфекции, вызванные менингококками



Neisseria meningitidis

– возбудитель менингококковой инфекции

Этиология

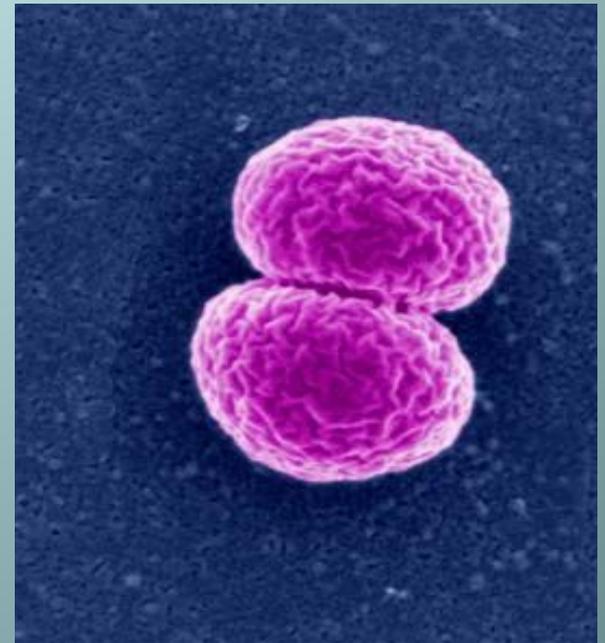


- Сем. **Neisseriaceae**
- Род **Neisseria**
- Вид **N. meningitidis**

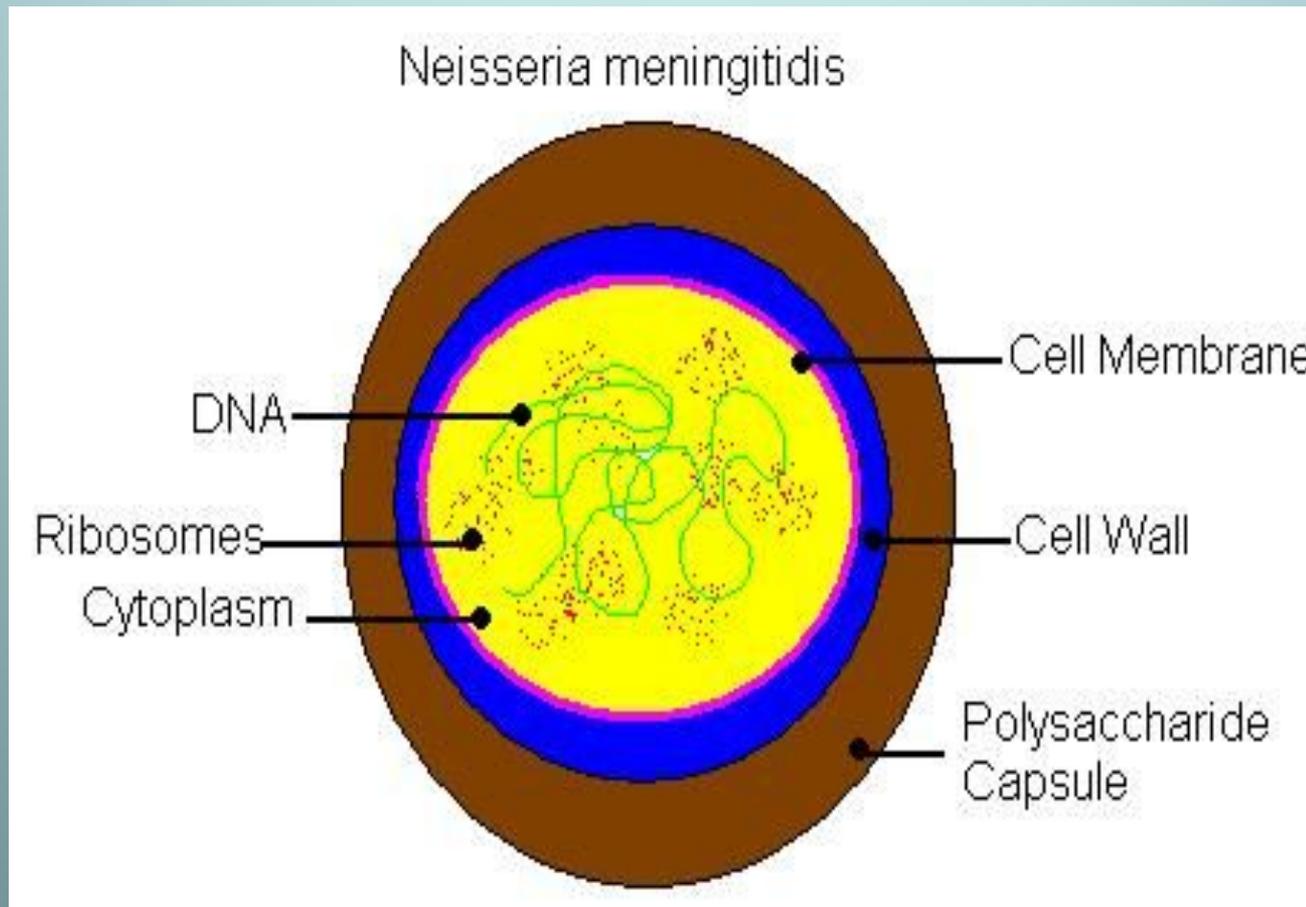
- Это грамотрицательные диплококки

Neisseria meningitidis

- Менингококки часто присутствуют в носоглотке, не вызывая патологических явлений, но могут стать причиной развития воспалительных процессов
- Это аэробные диплококки, но могут развиваться анаэробно

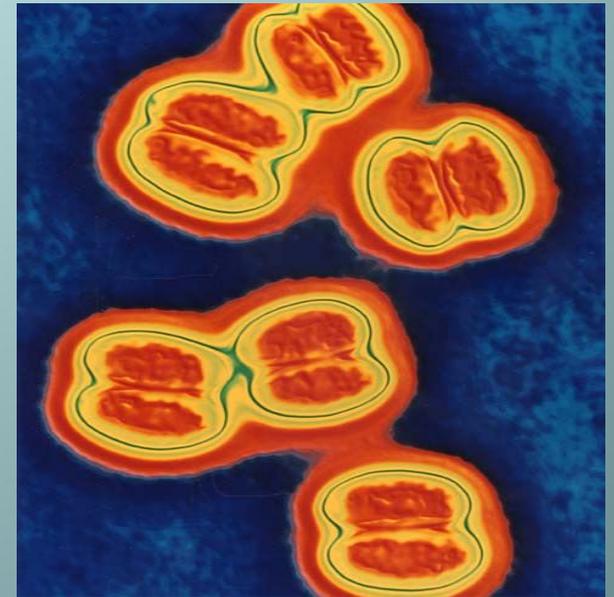
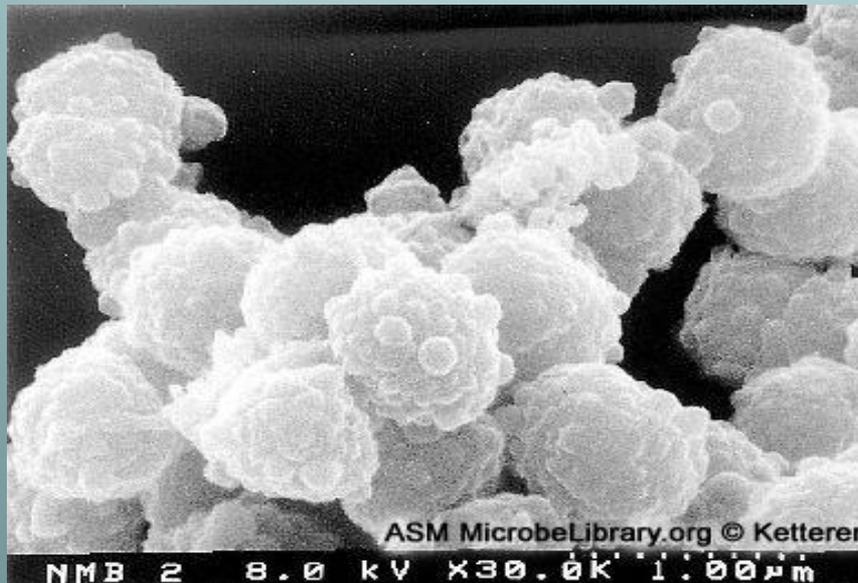


Структура менингококков



Этиология

- **Neisseria meningitidis** — этиологический агент эпидемического цереброспинального менингита, септицемии
- В спинномозговой жидкости обнаруживается в виде кофейных зерен

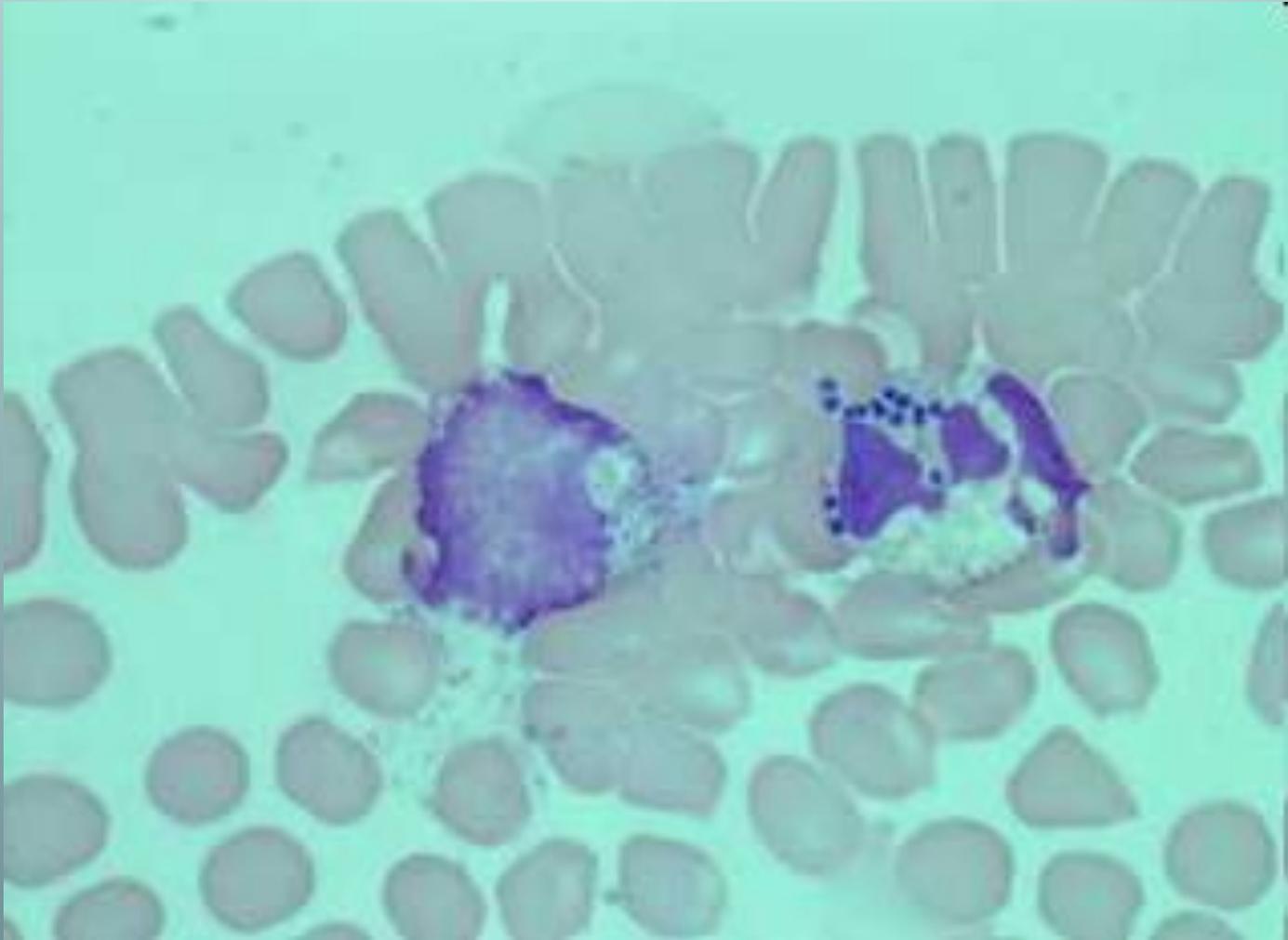


Этиология

- Менингококковые инфекции – это острые респираторные заболевания: фарингит, менингит, менингококковый сепсис
- Инфекция может протекать бессимптомно
- Источник инфекции – человек (чаще болеют дети и люди молодого возраста)
- Среди известных **13** серогрупп (отличие по антигенным свойствам) наиболее часто вызывают менингококковую инфекцию представители серогрупп А, В, С, Х, Y и **W-135**

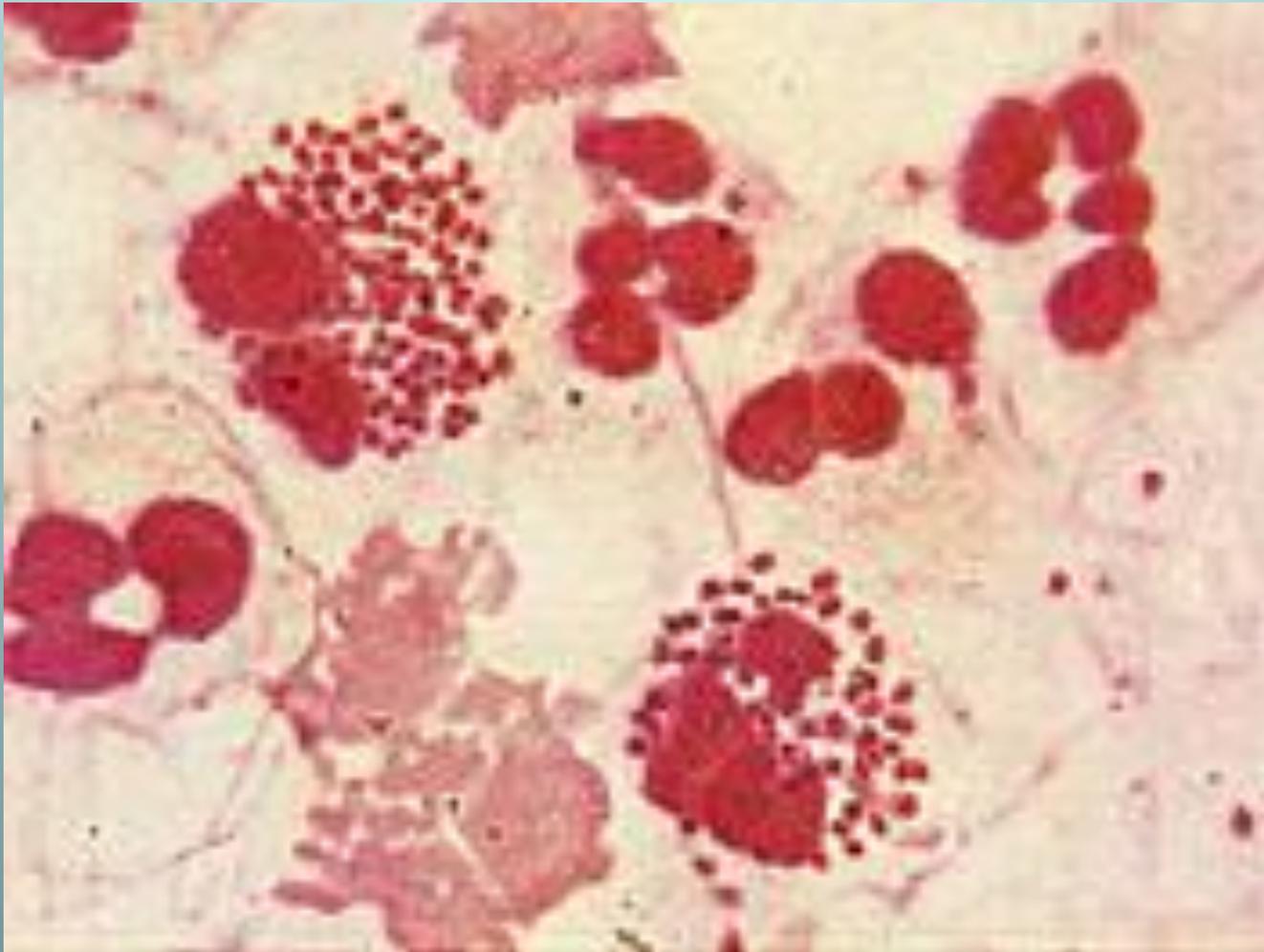
Бактериемия

N.meningitidis в нейтрофилах (окраска метиленовым синим)



Neisseria meningitidis

(фагоцитоз, окраска по Граму)



Факторы патогенности

- **Адгезины** – пили, белки наружной мембраны клеточной стенки
- **Антифагоцитарные факторы** – полисахаридная капсула, а также фермент плазмокоагулаза
- **Ферменты инвазии:** гиалуронидаза, протеазы (инактивируют **slgA** – фактор местного иммунитета), нейраминидаза, фибринолизин
- **Основной токсин - эндотоксин** (пирогенный, некротический эффекты)

Патогенез

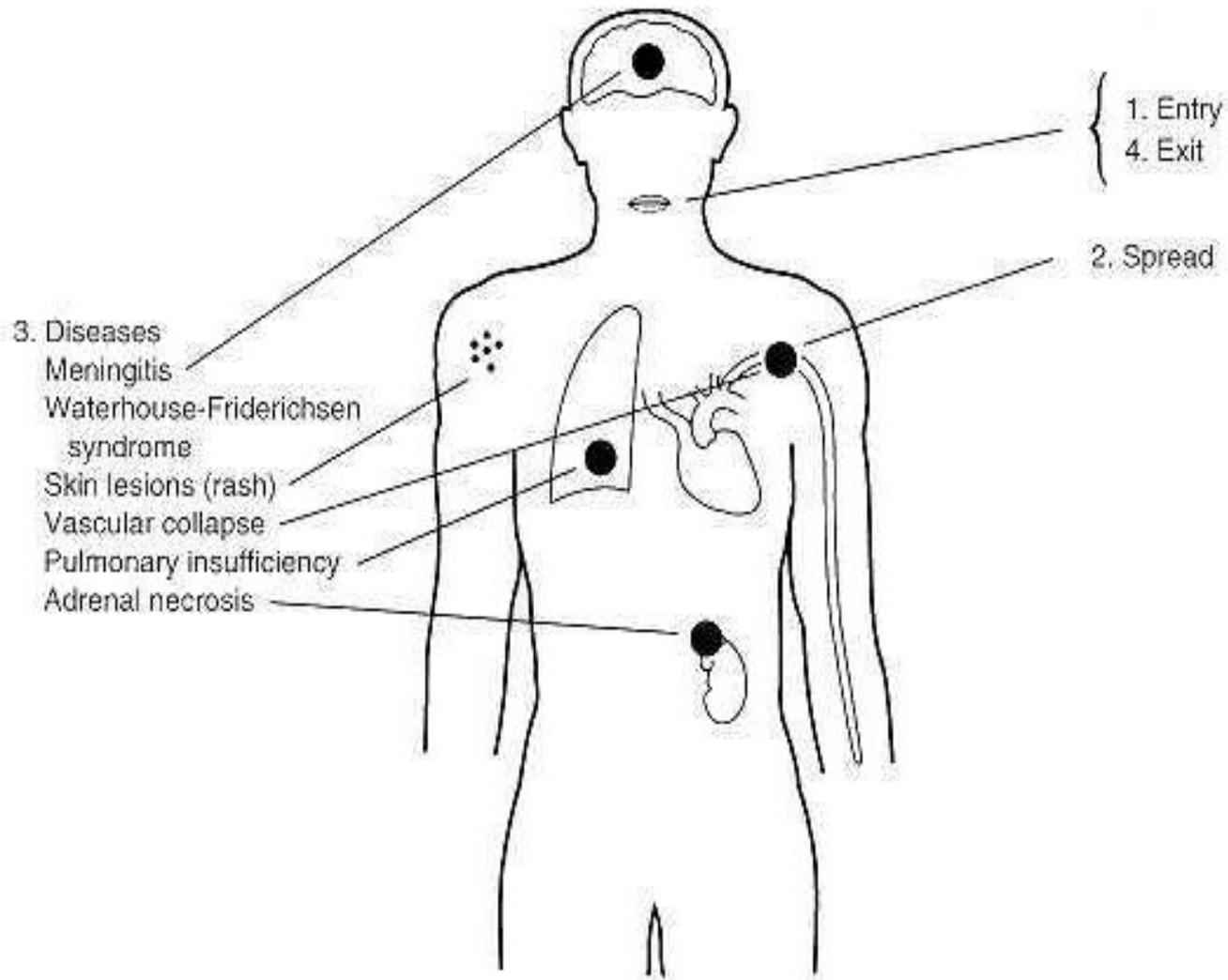
менингококковой инфекции

- Входные ворота – слизистая оболочка заднего отдела носоглотки. Возбудитель проникает в лимфу, затем – в кровь (бактериемия)
- При гибели бактерий высвобождается эндотоксин, который поражает эндотелий кровеносных сосудов.

В результате - кровоизлияния, геморрагическая сыпь, МОЖЕТ развиться инфекционно-аллергический шок. Среди клинических проявлений – тромбозы, внутрисосудистая коагуляция крови

- Многообразие клинических форм обусловлено, вероятно, степенью вирулентности штаммов **N.meningitidis**

Заболевания, вызванные менингококками

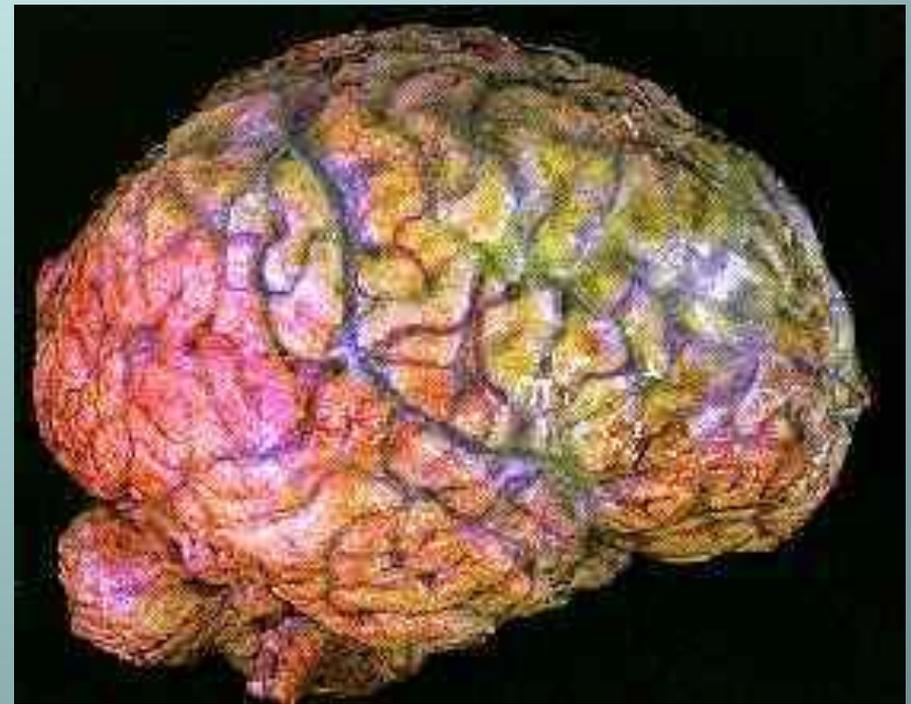
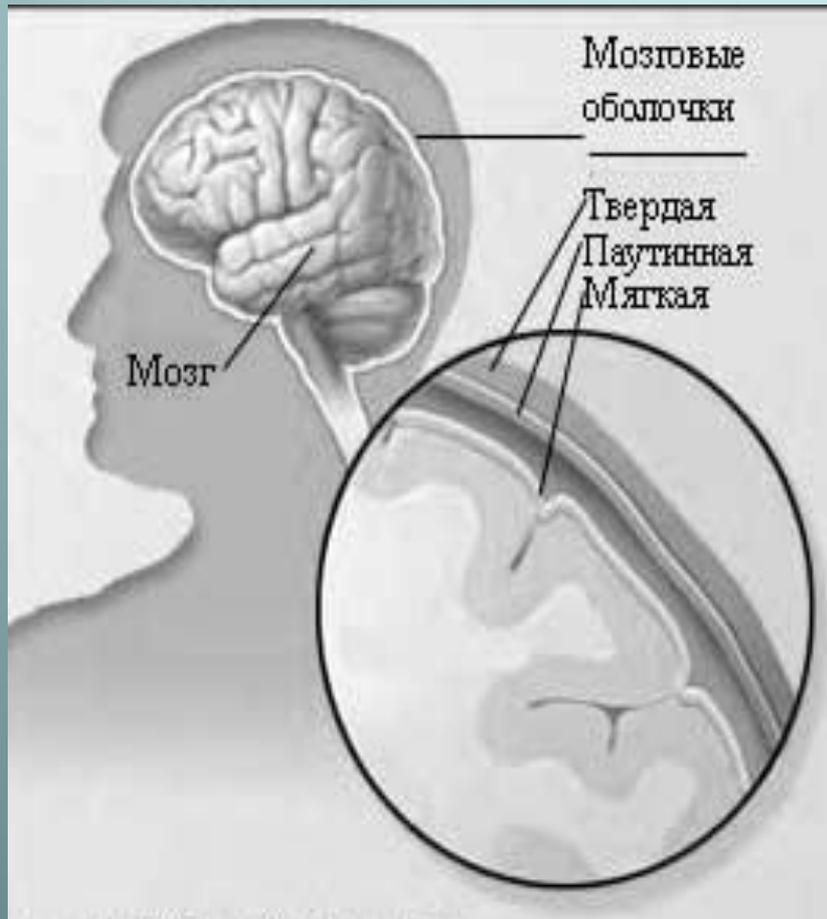


Патогенез

- Проникая через гемато-энцефалический барьер менингококки внедряются в субарахноидальное пространство, вызывая серозно-гнойное (или гнойное) воспаление мягких оболочек мозга – менингит

Менингит

(область поражения)



Менингококковый сепсис



Менингококковая септицемия
Геморрагическая сыпь

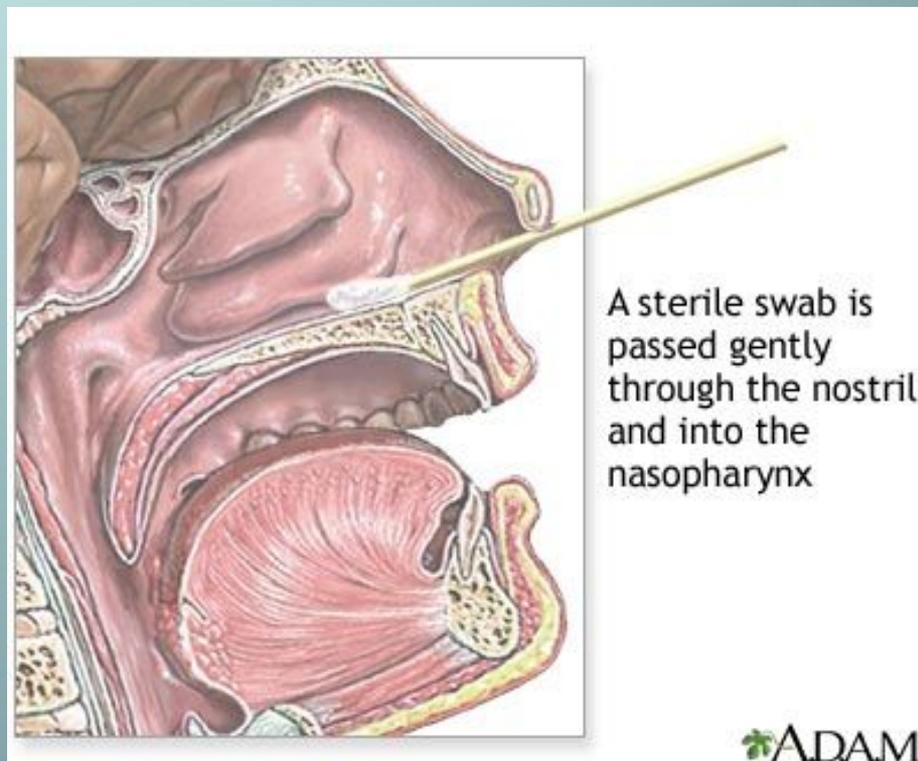


Микробиологическая диагностика менингококковой инфекции

Материал для исследования

- Клинический материал - ликвор, кровь, слизь из носоглотки. При спинномозговой пункции ликвор вытекает струей и обычно мутный. Пробы хранят не более **2-3** час до исследования

Взятие мазка (**nasopharynx**)



2 этап микробиологической диагностики – бактериологическое исследование

- Цель бактериологического метода диагностики – выделение и идентификация возбудителя из слизи носоглотки, ликвора, крови (при необходимости пробы центрифугируют)
- Для выделения чистой культуры менингококков используют кровяной агар, сывороточные среды (Бейли, Левенталя, формолсывороточный агар)
- Результаты культурального метода

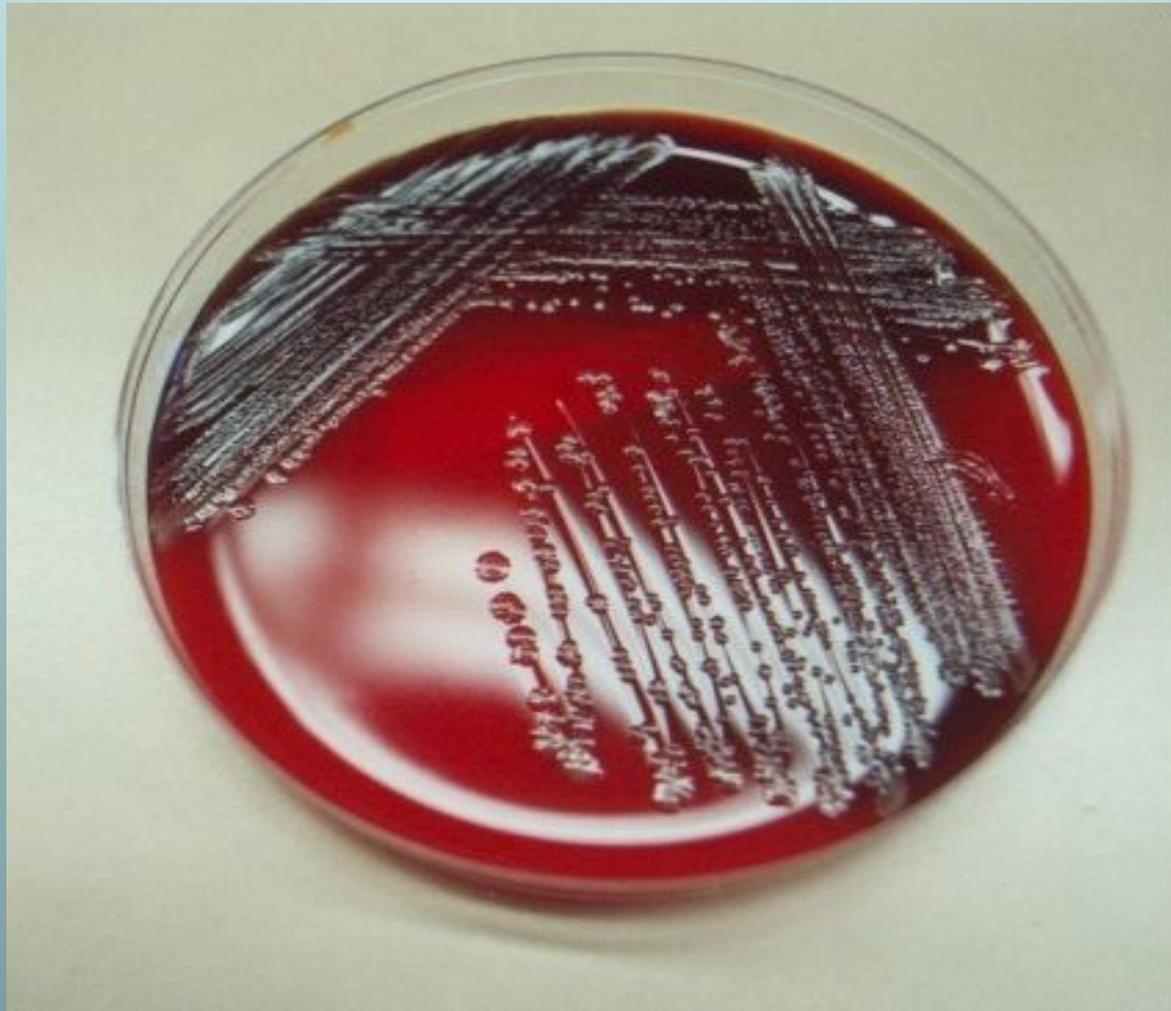
После суточной инкубации образуются голубоватые колонии с ровными краями и гладкой поверхностью

При бактериологическом исследовании проводили выделение и идентификацию чистой культуры микроорганизмов

Выделение и идентификация чистой культуры по методу Дригальского.

- **1-этап** – посев исследуемого материала на плотные питательные среды для получения изолированных колоний
- **2-этап**- изучение выросших колоний (макроскопическое и микроскопическое) и пересев на скошенный агар для получения чистой накопительной культуры
- **3-этап-идентификация возбудителя**

Рост **N.meningitidis** на кровяном агаре



Идентификация менингококков

- **Серологический метод**
- Идентифицируют антигены возбудителя с помощью иммунных сывороток или выявляют антитела в сыворотке пациента, применяя реакцию иммунофлюоресценции (ИФ), иммуноферментный анализ (ИФА)
- Встречный иммуноэлектрофорез и иммунодиффузию в агаре используют для выявления менингококка в ликворе
- **Биохимическое типирование**
- Менингококки ферментируют мальтозу, глюкозу (не ферментируют сахарозу и левулезу)

Профилактика и терапия

- Для профилактики применяют инактивированную химическую вакцину
- Вакцина содержит высокоочищенные капсульные полисахариды распространенных серогрупп **A, C, Y, W-135**, каждый из которых формирует характерный групповой иммунитет
- Для лечения применяют сульфаниламиды и антибиотики. При генерализованных формах менингококковой инфекции назначают в крупных дозах препараты группы пенициллина

3 этап микробиологической диагностики

- Клиническая интерпретация полученных результатов:
- В носоглоточной слизи идентифицированы **N.meningitidis**, чувствительные к препаратам группы пеницилина
- после курса терапии получен положительный клинический эффект



Пневмококки

ЭТИОЛОГИЯ

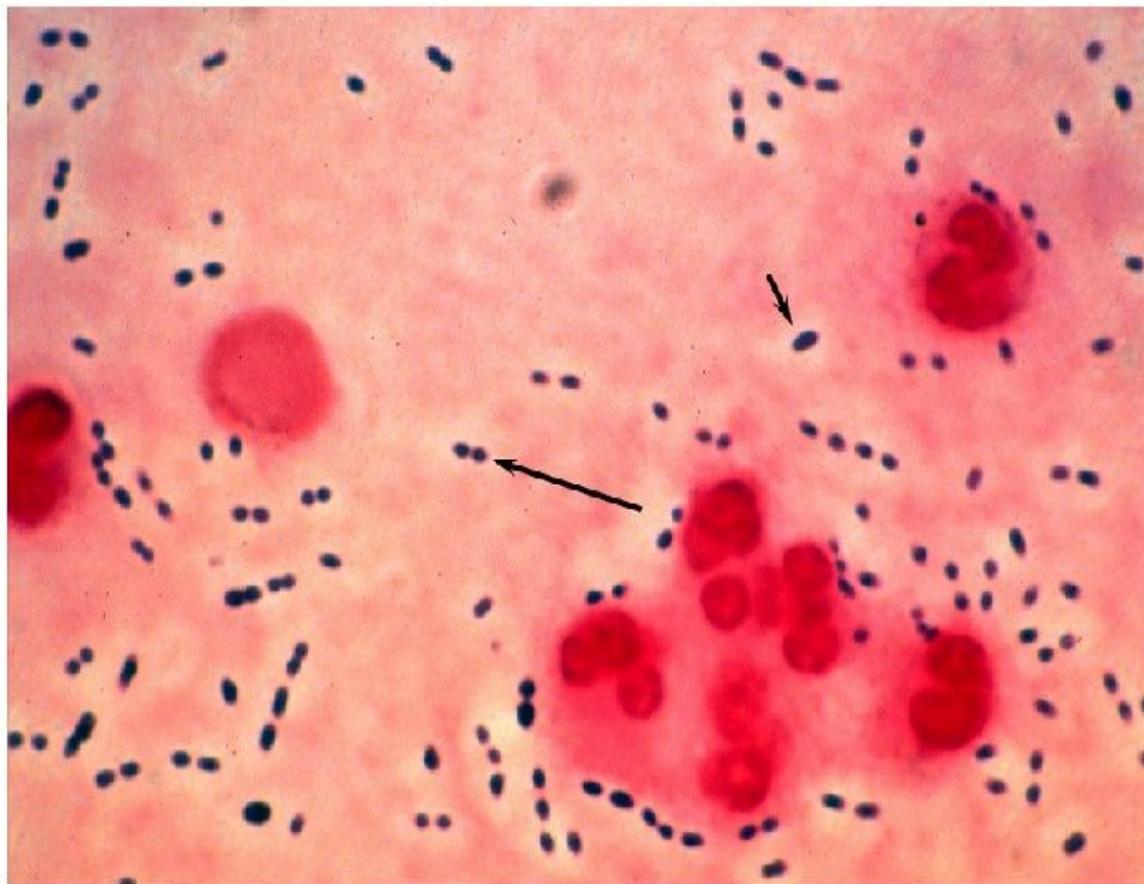
- Сем. **Streptococcaceae**
- Род **Streptococcus**
- Вид **S. pneumoniae**



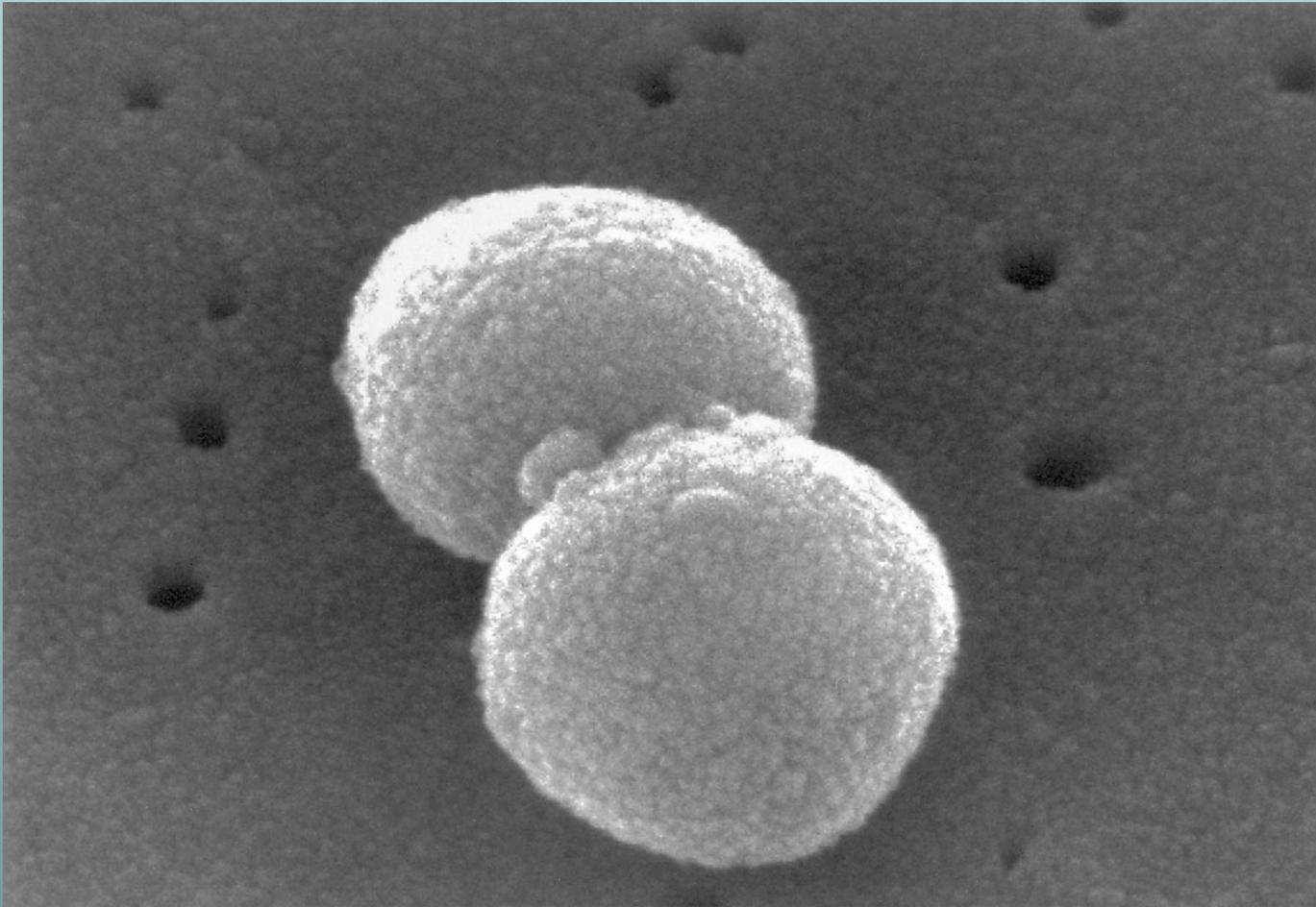
Streptococcus pneumoniae – возбудитель острой пневмонии

- Пневмококки – возбудители острой бактериальной пневмонии
- Для крупозной формы пневмонии характерны высокая температура и воспалительное поражение одной или нескольких долей легких
- Для очаговой пневмонии характерно воспаление с вовлечением отдельных сегментов или участков легочной ткани, а также бронхов (бронхопневмония)
- Возбудитель относят к группе альфа-гемолитических стрептококков
- Это грамположительные диплококки

S.pneumoniae (окраска по Граму)



Пневмококк
электронная микроскопия



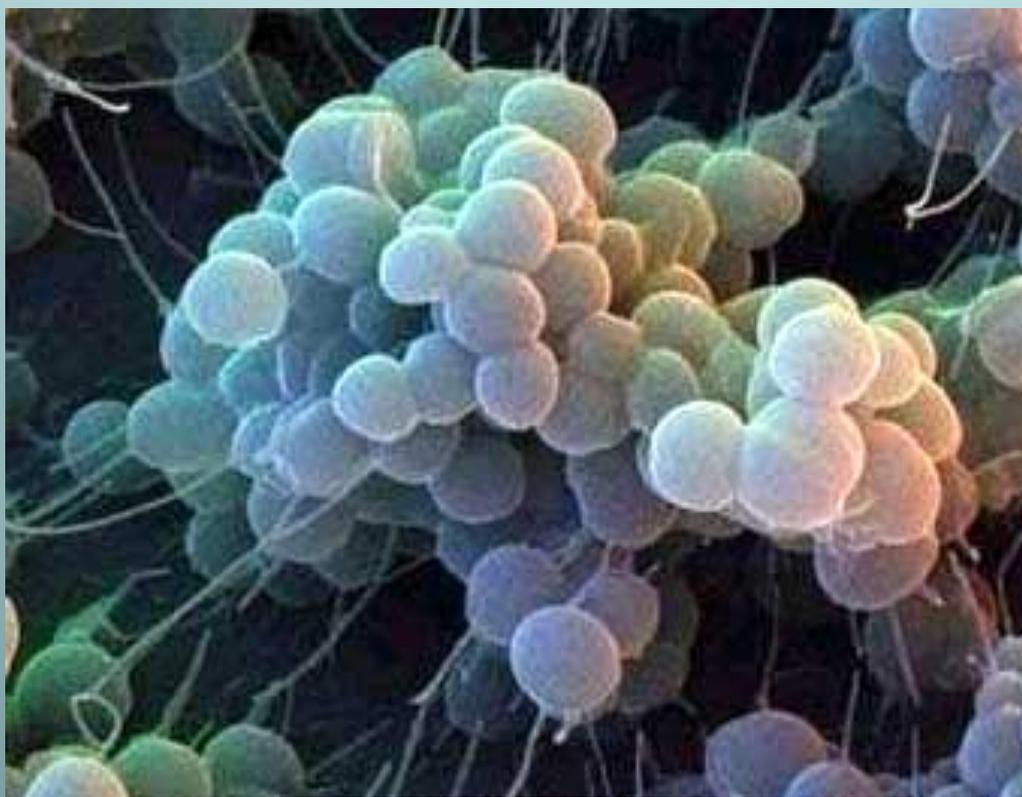
Факторы патогенности

- Вирулентные штаммы **S.pneumoniae** имеют полисахаридную капсулу (на основе антигенных вариантов капсульных полисахаридов выделено **84** серотипа)
- **M-белок** (над клеточной стенкой) способствует адгезии и препятствует фагоцитозу
- **C-структура** (холинсодержащая тейхоевая кислота) – взаимодействует с C-реактивным белком (острофазный белок), способствует активации системы комплемента и секреции медиаторов воспаления, подавляет комплемент-опосредованную опсонизацию пневмококков
- **Ферменты инвазии** – гиалуронидаза и пептидаза
- **Токсины:** гемолизин, лейкоцидин

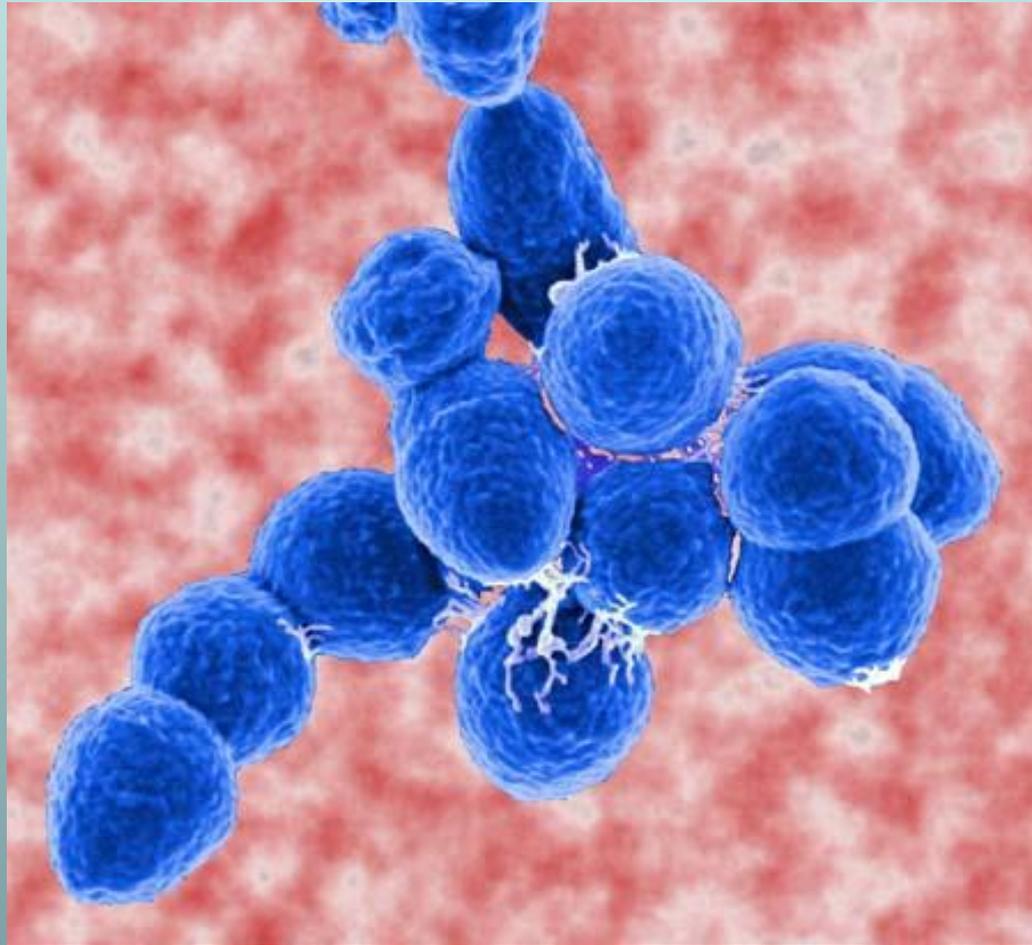
Факторы патогенности

- **Пневмолизин (Ply)** – образует поры, может стать причиной цитолиза и активации комплемента
- **Перекись водорода** - вызывает гибель нейронов при менингите и проявляет бактерицидность относительно сопутствующей микрофлоры

Пневмония



S.pneumoniae



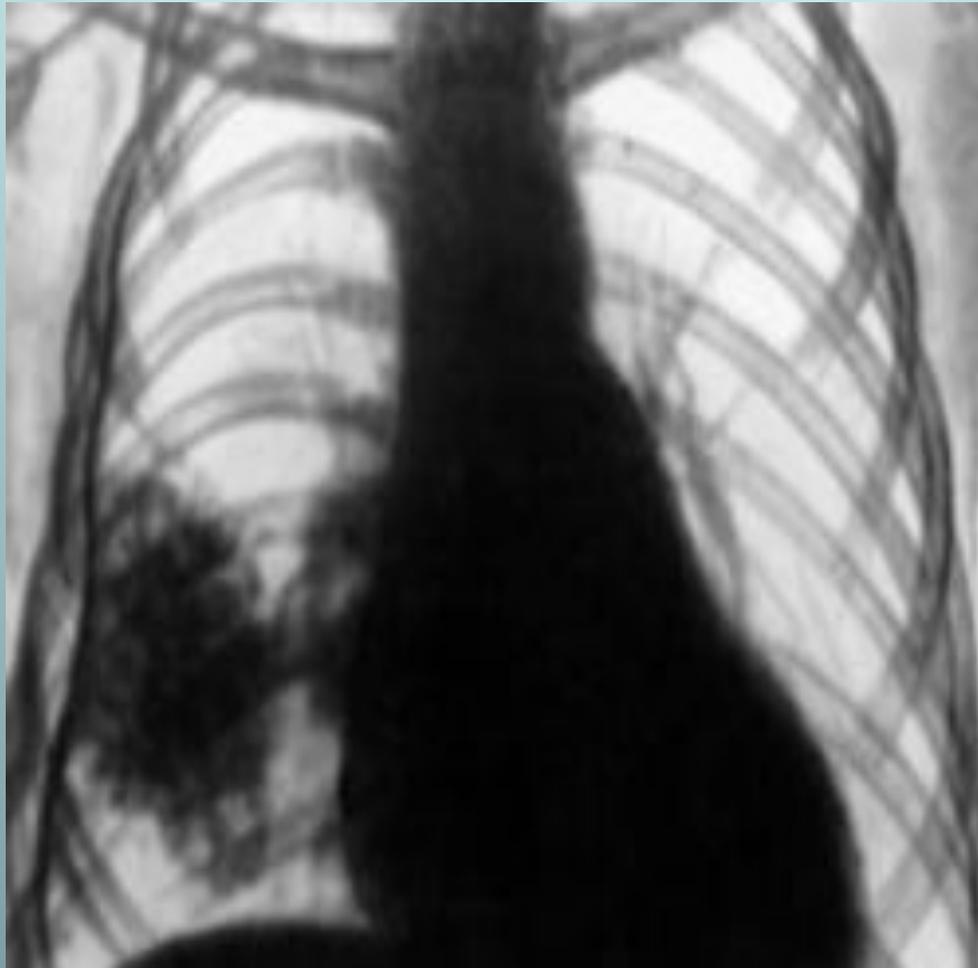
Патогенез пневмококковой пневмонии

- Входные ворота –слизистая оболочка носоглотки, (М-белок и капсула обеспечивают адгезию и устойчивость к фагоцитозу)
- Решающий признак развития инфекции – закупорка бронхов слизистым респираторным секретом (мокрота)
- На первой стадии процесса пневмококки инфицируют альвеолы, которые переполняются серозной жидкостью, что приводит к нарушению газообмена и способствует распространению процесса
- При размножении пневмококки выделяют ферменты: пептидаза – лизирует **slgA** (фактор местного иммунитета), гиалуронидаза способствует распространению инфекции

Патогенез

- **На второй стадии процесса** происходит инфильтрация легочной ткани нейтрофилами, а затем эритроцитами (наблюдается выпадение фибрина)
- Пораженные доли легкого приобретают консистенцию печени, имеют серый или темно-красный цвет (стадия серой или красной гепатизации). Происходит выделение «ржавой» мокроты
- Воспалительный процесс поддерживается путем секреции провоспалительных цитокинов

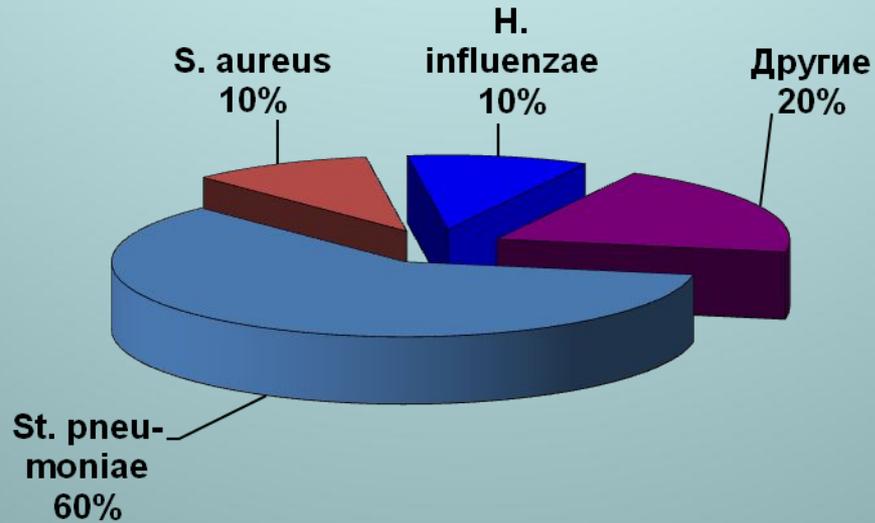
Гнойный плеврит



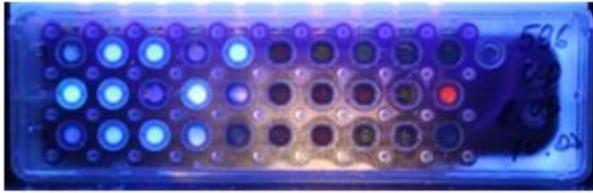
Патогенез

- **На третьей стадии процесса** легочные альвеолы наполнены нейтрофилами и остаточными пневмококками, возможно поражение соседних участков легких, что проявляется как уплотнение, или фиброз легких
- **На четвертой стадии** - нейтрофилы замещаются макрофагами, выпот рассасывается и восстанавливается структура легочной ткани.
- **Если инфекция прогрессирует,** пневмококки могут попасть в кровь. Бактериемия может стать причиной развития менингита, эндокардита, артрита, а также отита и конъюнктивита

Возбудители пневмонии (этиологически значимые бактерии)



Микробиологическая диагностика пневмококковой ПНЕВМОНИИ



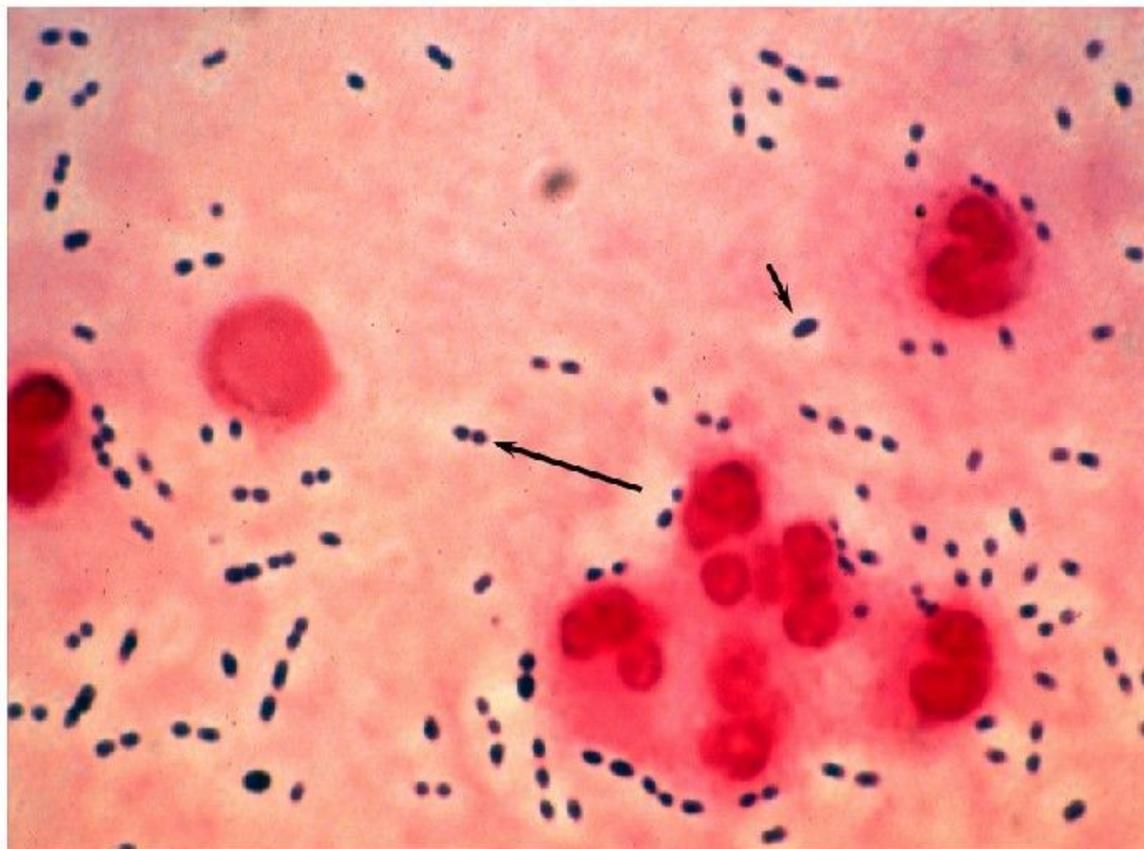
1 этап микробиологической диагностики

- **Взятие мокроты**
- Исследуют утреннюю порцию свободно откашливаемой мокроты, натошак. Перед откашливанием необходимо почистить зубы, десны, язык, слизистую щек и прополоскать рот кипяченой водой.
- Мокроту собирают в стерильный контейнер с завинчивающейся крышкой. Сроки доставки в лабораторию – не более **1,5-2** часов от момента ее получения

2 этап микробиологической диагностики пневмококковой пневмонии

- Бактериоскопический метод
- Микроскопия мазков мокроты (окраска по Граму): обнаруживают Грам+ ланцетовидные диплококки и лейкоциты (не менее 10 стрептококков/поле зрения)
- Важно выявить наличие капсул (окраска по Бурри- Гинсу)
- Применяют также метод набухания капсул по Нейфельду: на предметное стекло наносят каплю мокроты и каплю антикапсульной пневмококковой сыворотки, подкрашивают метиленовым синим и накрывают покровным стеклом.
- Положительный результат – капсулы значительно увеличиваются в размере

Бактериоскопия пневмококков

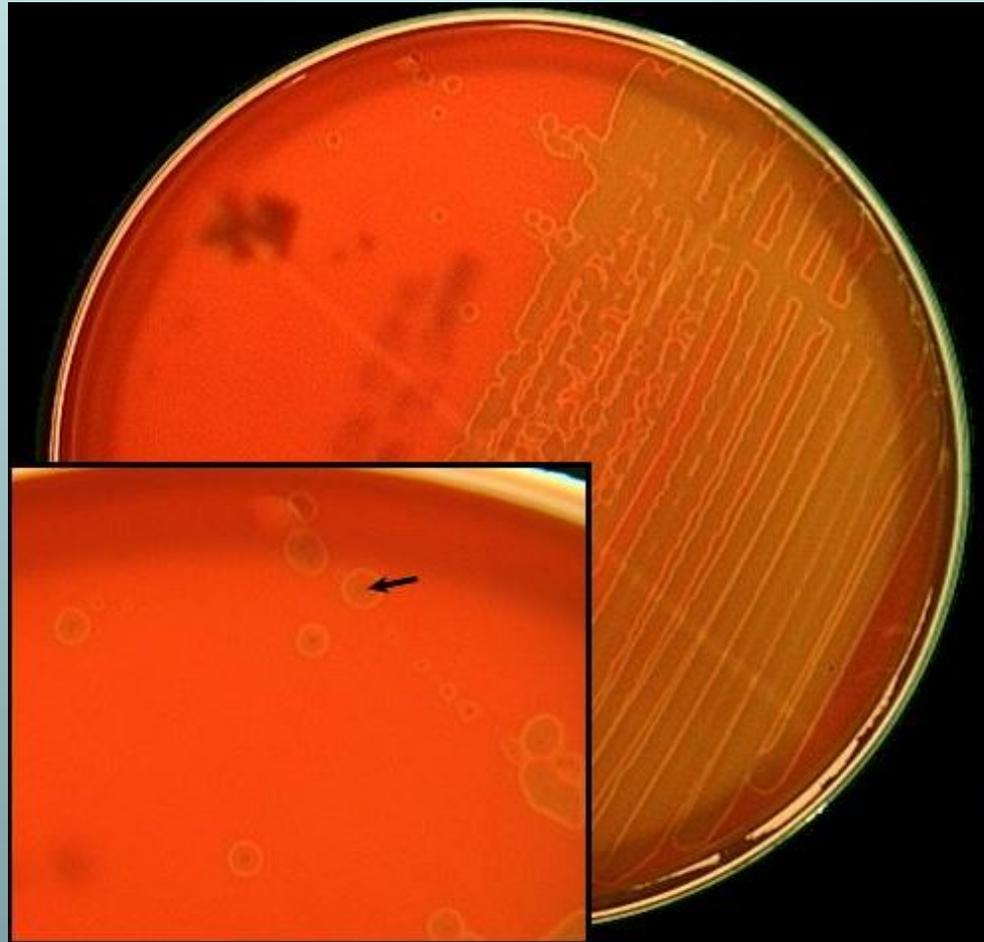


2 этап микробиологической диагностики Бактериологический метод

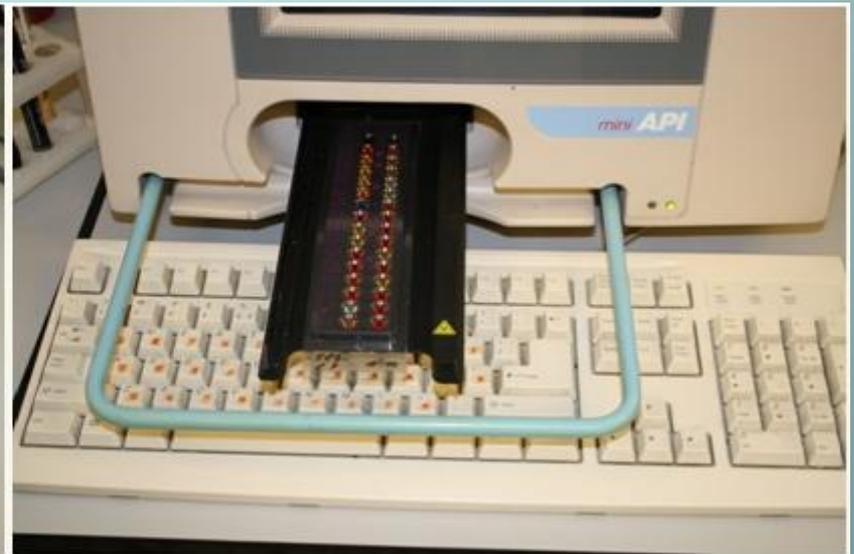
- Посев материала **на чашки Петри с кровяным агаром** (приготовлен на сердечно-мозговом бульоне)
- Инкубация при **37° С** (с повышенным содержанием CO₂) в течение **18-24** час
- Выявляют характерные колонии – **мелкие, плоские, с зоной альфа-гемолиза** (неполный гемолиз с зеленоватым оттенком – гемоглобин превращается в метгемоглобин)
- Капсульные штаммы образуют **гладкие, блестящие колонии**, бескапсульные - **шероховатые**

S.pneumoniae

альфа-гемолитические колонии



Определение чувствительности к антибиотикам



Методы дифференциальной диагностики

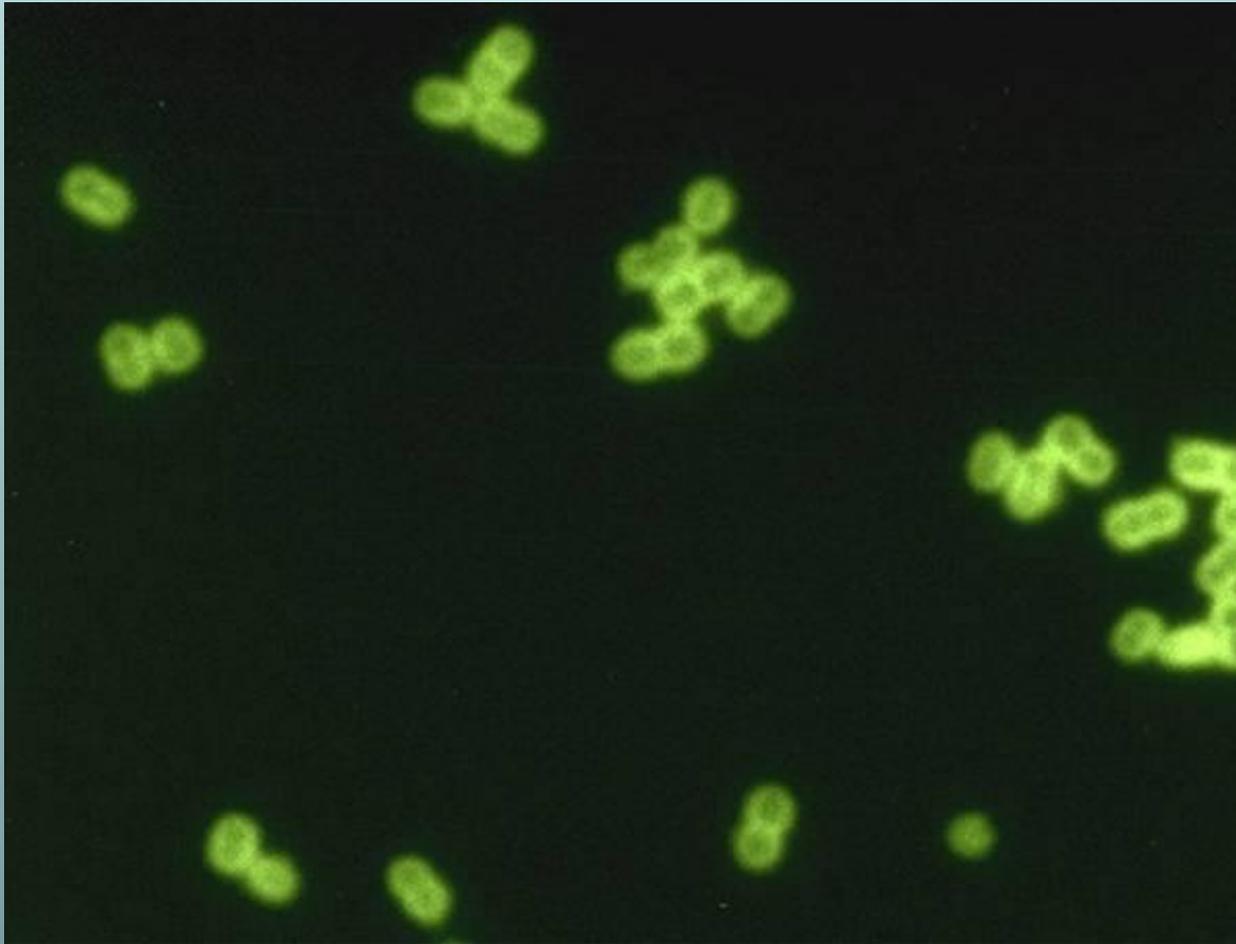
- Альфа-гемолитические стрептококки, к которым относятся ***S. pneumoniae***,
не обладают следующими свойствами:
- Лизис при добавлении каплей желчи или желчнокислых солей
- Ферментация инулина
- Чувствительность к оптохину (**5 мкг/мл**)

2 этап микробиологической диагностики

Серологический метод

- **Обнаружение пневмококковых полисахаридных антигенов**
- Для этого проводят идентификацию выделенной культуры пневмококка с помощью антикапсульных сывороток – поливалентных и типовых (наиболее часто выделяют серовары **1** и **2**)
- Выявляют антигены в клиническом материале (мокрота, ликвор, сыворотка крови) с помощью ИФА, ИФ, встречного иммуноэлектрофореза
- **Серологическое исследование парных сывороток (рестроспективная диагностика)** – в качестве антигена используют аутоштамм пневмококка (от того же больного) или лабораторные штаммы) - повышение уровня антител не менее чем в **4** раза

Иммунофлюоресценция
S. pneumoniae



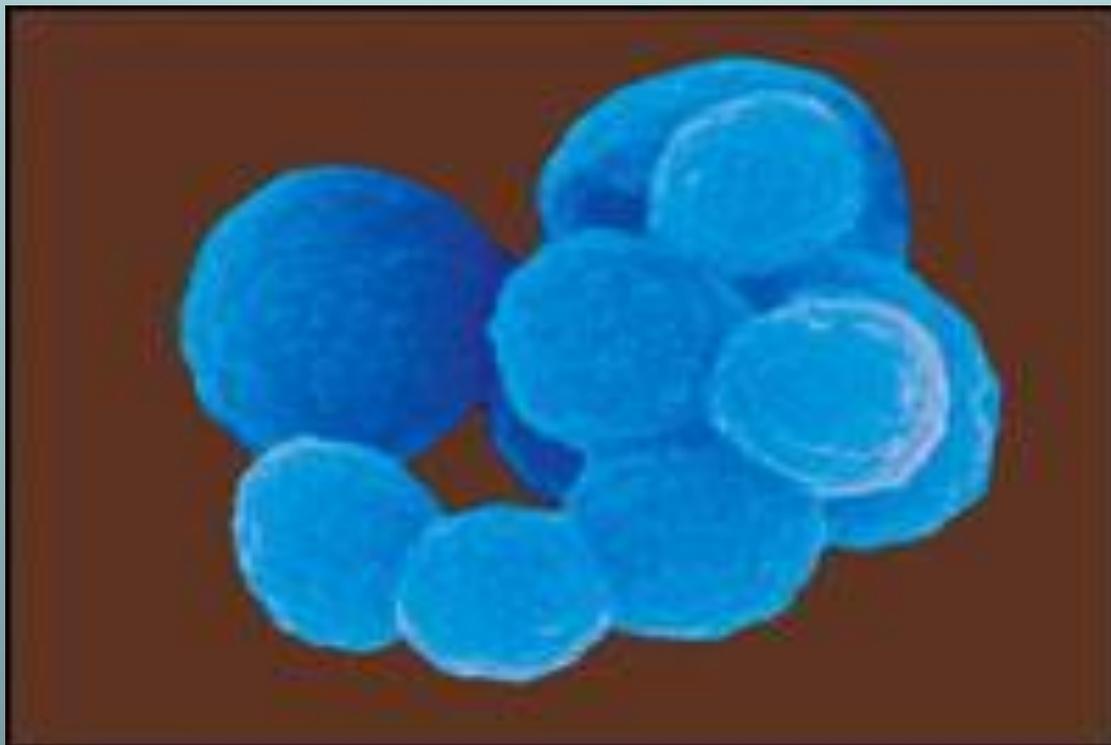
3 этап микробиологической диагностики

- С помощью методов микробиологической диагностики были выделены и идентифицированы пневмококки серотипа **1**
- Бактериологический метод подтвердил обнаружение альфа-гемолитического стрептококка (включая отсутствие лизиса в тесте с желчью и отсутствие чувствительности к оптохину)
- Серологический анализ установил вариант полисахаридного антигена, а также уровень антител в сыворотке пациента к аутоштамму пневмококка
- Ретроспективная диагностика с парными сыворотками указала на повышение уровня антител после проведенной терапии
- **Терапия ампициллином обусловила положительный клинический эффект**

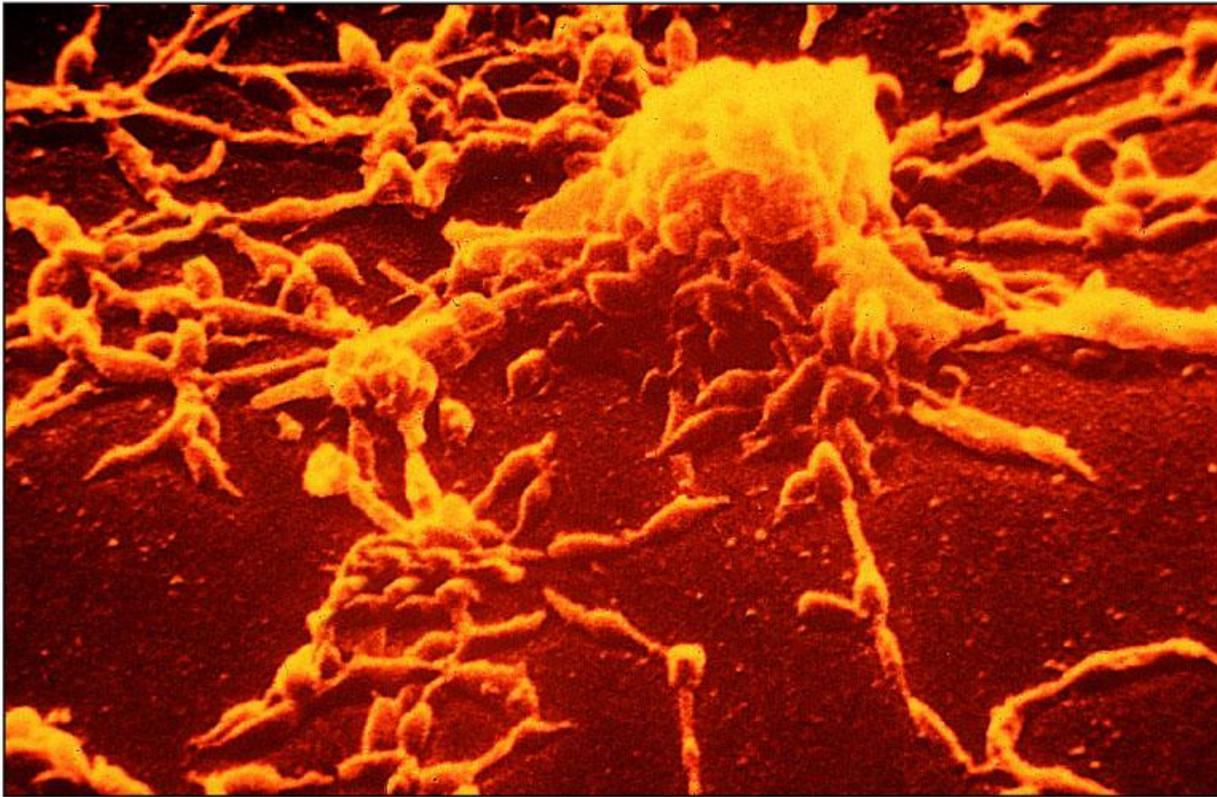
Профилактика и терапия

- Для профилактики разработана поливалентная вакцина, включающая капсульные полисахаридные антигены (наиболее значимых **23** сероваров)
- Вакцина показана группам риска
- Лечение проводят антибиотиками группы пенициллина
- Необходимо периодически проверять выделенные пневмококки на чувствительность к препаратам выбора

Микоплазмы



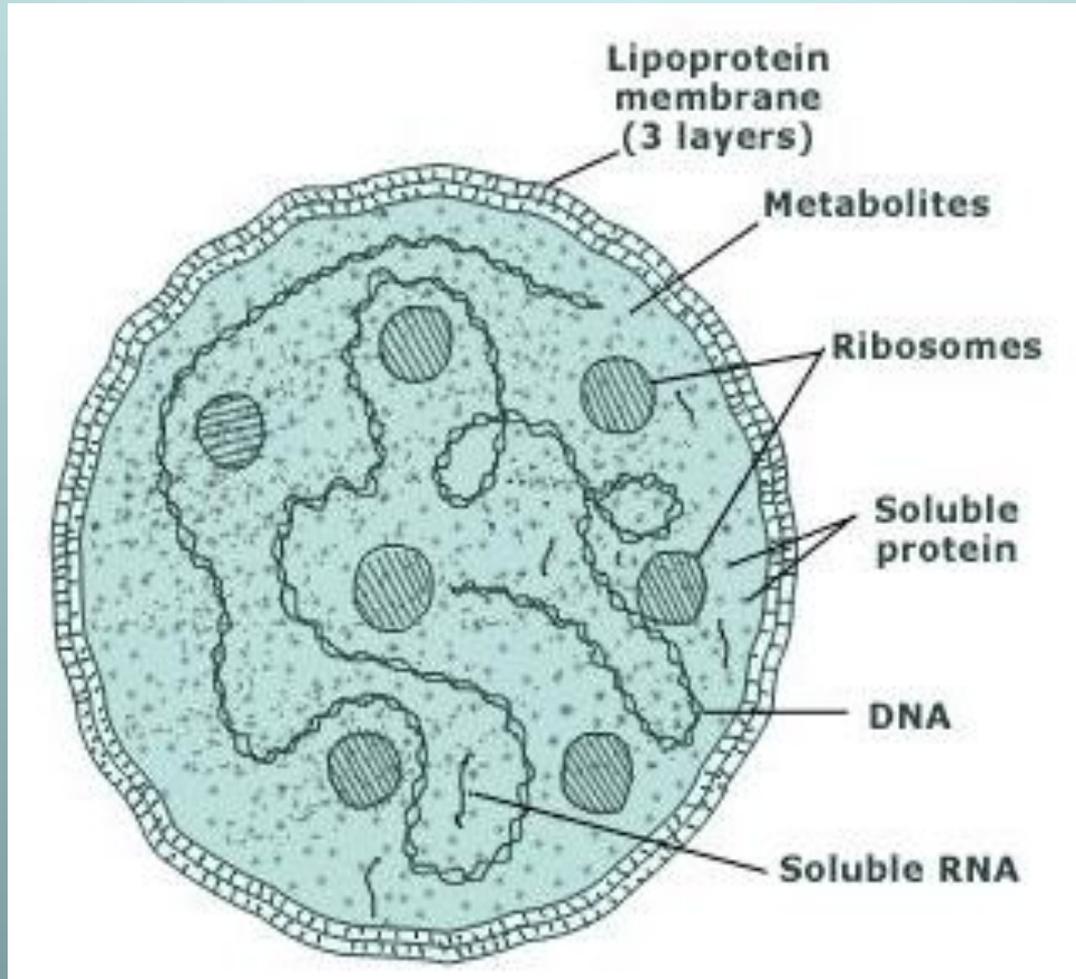
Mycoplasma pneumoniae



(b)

Mycoplasma

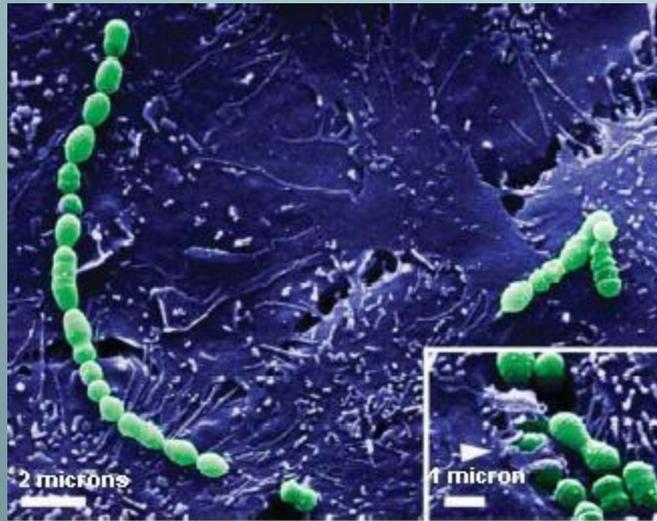
Структура



M.pneumoniae

– возбудитель острой пневмонии

Mycoplasma pneumoniae
(электронная
микроскопия)



Этиология

- Сем. **Mycoplasmataceae**
- Род **Mycoplasma**
- Вид **M.pneumoniae**
- Микоплазмы- мелкие полиморфные бактерии
- Отсутствует клеточная стенка –
- отсутствует пептидогликан

Факторы патогенности

- **Факторы адгезии и колонизации – адгезины** – на концах присутствует белок **P1** и другие белки мембраны
- **Ферменты инвазии:** нейраминидаза, протеазы, нуклеаза
- **Токсические вещества:** перекись водорода – повреждает эпителиоциты слизистого эпителия респираторного тракта
- **Гемолизин** способствует выработке холодовых антител (**IgM**), которые вызывают гемолиз и могут привести к гемолитической анемии

Патогенез микоплазменной пневмонии

- Микоплазмы – это «мембранные паразиты»: прикрепляясь к мембране клеток, усваивают из клеточной мембраны метаболиты, в частности, стеролы, необходимые для их размножения.
 - Эпителиоциты повреждаются, а после продукции токсических веществ – их деструкция усиливается
 - Реснички поврежденных клеток утрачивают подвижность и выведение слизи нарушается
- Обычно микоплазмы не проникают в глубокие ткани и в кровь

Патогенез

- Интерстициальная пневмония – поражение легких при участии иммунных механизмов (наподобие –ГЗТ –гиперчувствительности замедленного типа)
- Сначала формируются небольшие инфильтраты (мелкоочаговая пневмония), которые могут сливаться в более крупные очаги, что характерно для микст-инфекции (микоплазмы и другие виды бактерий)
- Нарушение иммунных механизмов проявляется в аутоиммунном процессе - выработке аутоиммунных холодовых антител класса **IgM**, которые вызывают гемолиз у пациента при низкой температуре (доставку клинического материала – периферической крови – не следует проводить при низкой температуре окружающей среды)

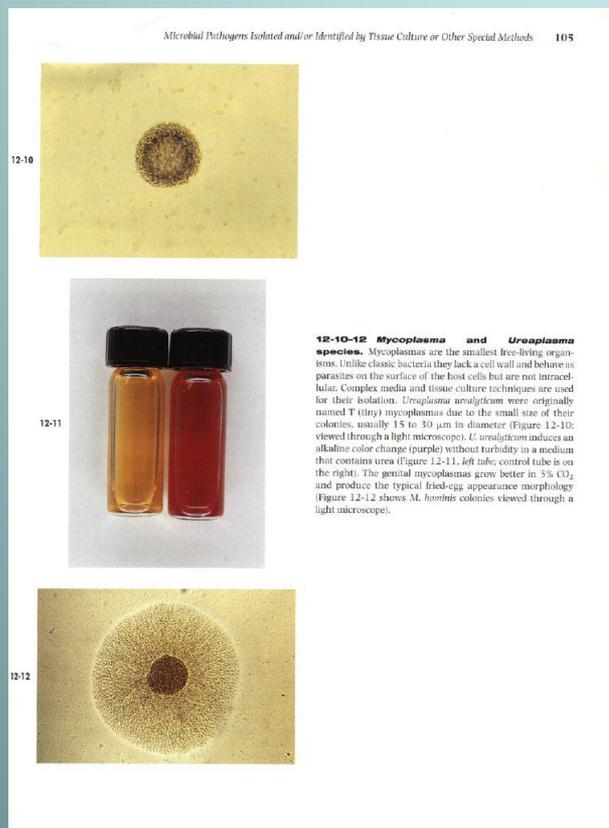
Микробиологическая диагностика микоплазменной пневмонии

1 этап

- **Взятие клинического материала**
- Исследуют утреннюю порцию свободно откашливаемой мокроты, слизь из носоглотки, пробы периферической крови
- Идентификацию микоплазм осуществляют методом ПЦР (молекулярно-генетический анализ)
- Бактериологическое исследование проводят сравнительно редко, с учетом его сложности
- Основной метод диагностики – серологический –

2 этап микробиологической диагностики

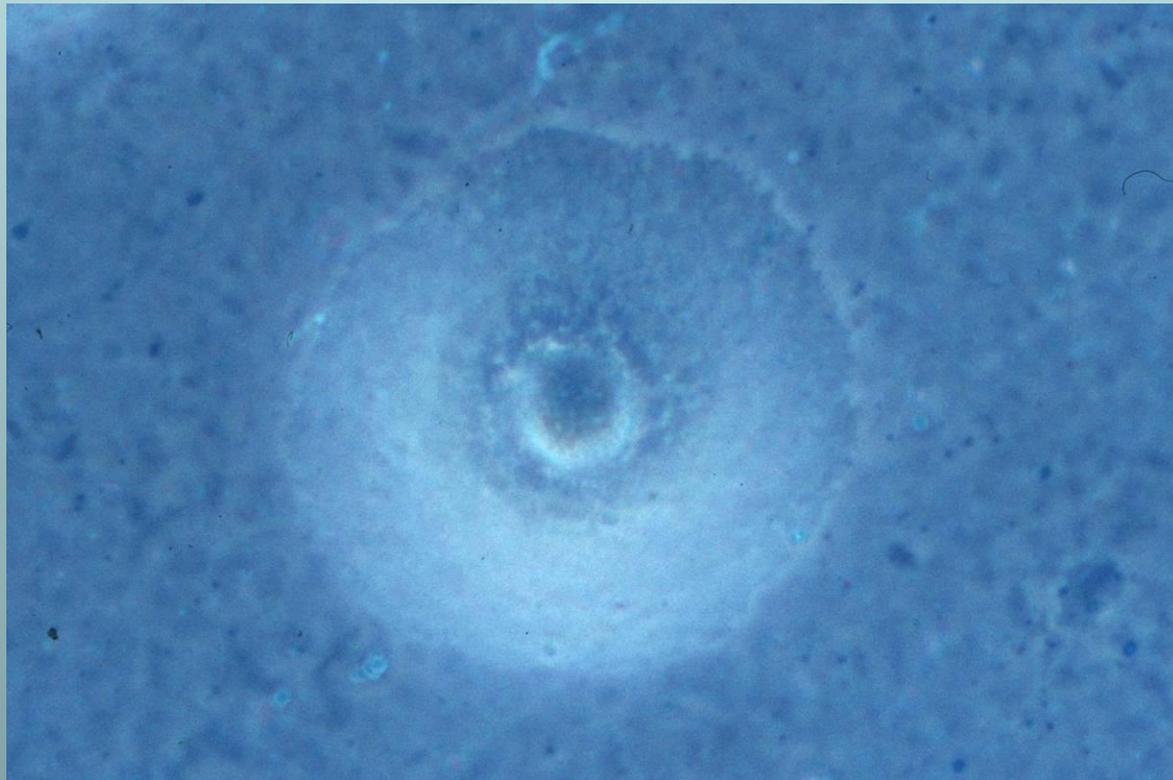
Колонии микоплазм



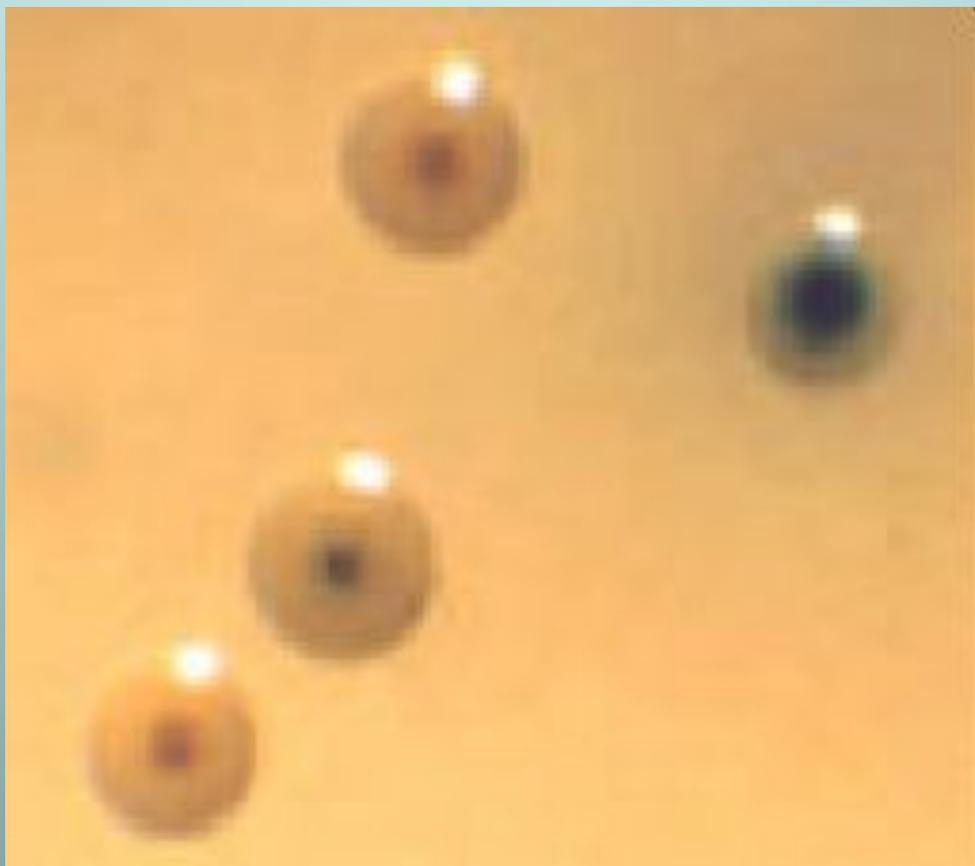
Бактериологический метод

- Для культурального метода используют среды, содержащие стерол
- Колонии микоплазм напоминают вид «яичница-глазунья»

Колония *M.pneumoniae*

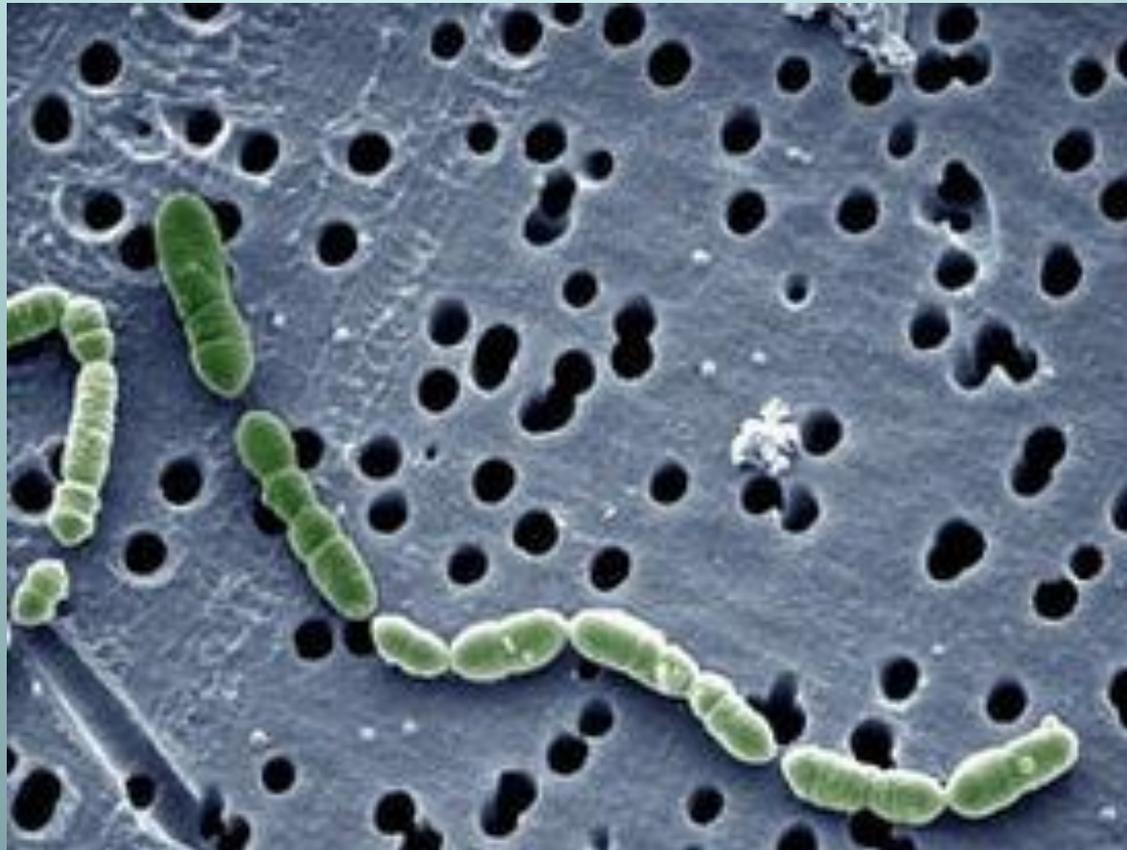


Колонии микоплазм



M.pneumoniae

культуральный метод



2 этап микробиологической диагностики – серологический метод

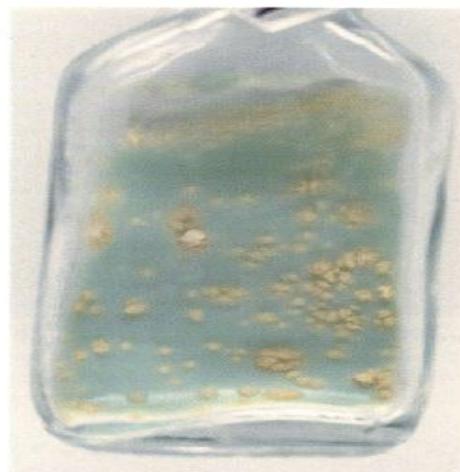
- В начале болезни выявляют антигены в слизи из носоглотки, в мокроте или бронхоальвеолярной жидкости с помощью ИФА или прямой ИФ
- В острый период инфекции выявляют антитела в сыворотке крови. Это антитела класса **IgM**
- В поздние сроки заболевания исследуют парные сыворотки, взятые до **6** дня болезни и спустя **10-14** дней для определения уровня антител к микоплазменному антигену с помощью ИФА, РПГА, непрямой ИФ. Положительный результат: **4-кратное** повышение титра специфических антител

Профилактика

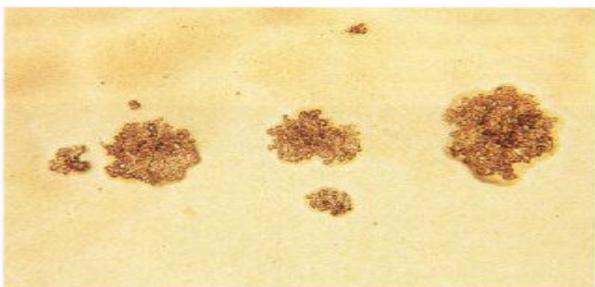
- Меры специфической профилактики микоплазменных респираторных инфекций не разработаны



11-3 *M. tuberculosis* on Middlebrook 7H11 agar. Colonies appear as cream-colored, dry, and wrinkled. Middlebrook 7H11 agar is a widely used medium for the isolation and antimicrobial susceptibility testing of mycobacteria. Although similar to Middlebrook 7H10 agar, 7H11 agar contains casein hydrolysates that improve the recovery of isoniazid-resistant strains of *M. tuberculosis* and shortens the incubation time for *M. avium* complex isolates. Seen here is a rough colony of *M. tuberculosis* growing on Middlebrook 7H11 agar.



11-4 *M. tuberculosis* on Löwenstein-Jensen (LJ) agar slant. LJ agar has been used as the standard for isolating mycobacteria. It contains coagulated whole eggs, glycerol, potato flour, and salts. Malachite green is added to inhibit the growth of contaminating bacteria. The disadvantage of this medium is that it becomes hydrolyzed when contaminants do grow on it, and the culture must be discarded. Illustrated here are rough, buff-colored colonies that appeared within 3 weeks, typical of *M. tuberculosis*.



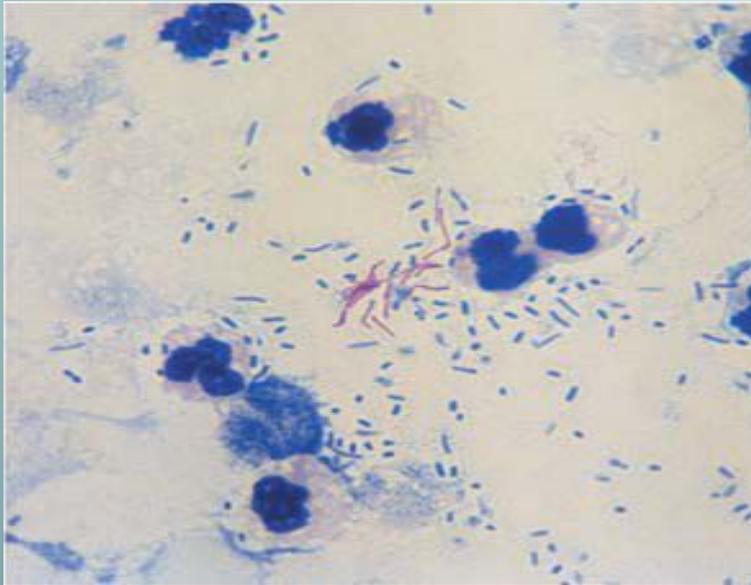
11-5 Colonies of *M. tuberculosis* ($\times 10$). Very young colonies (less than 10 days old) growing on Middlebrook 7H11 agar. Viewed microscopically, the very beginning of the cording characteristic of *M. tuberculosis* can be observed.

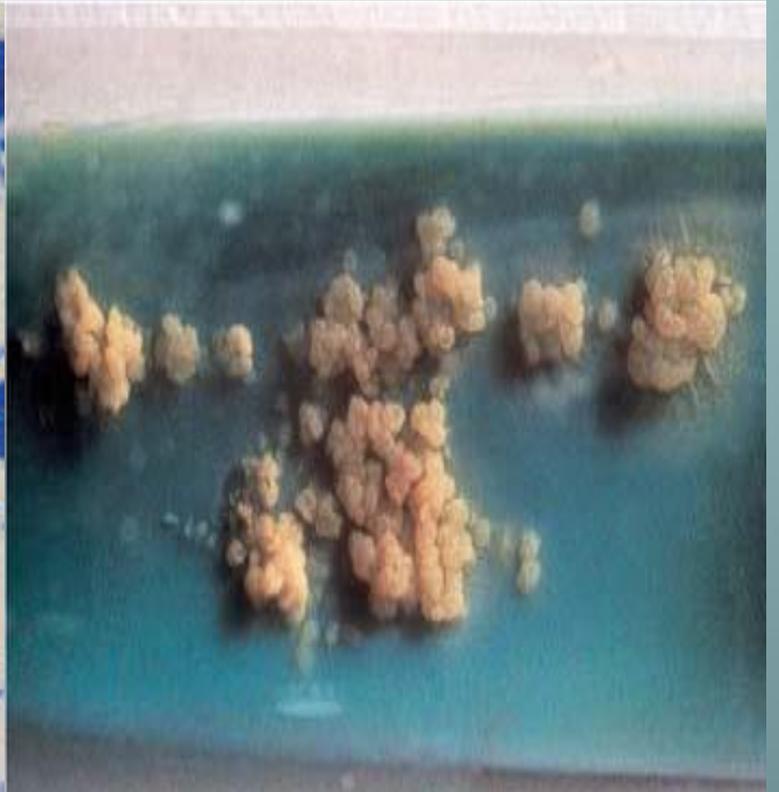
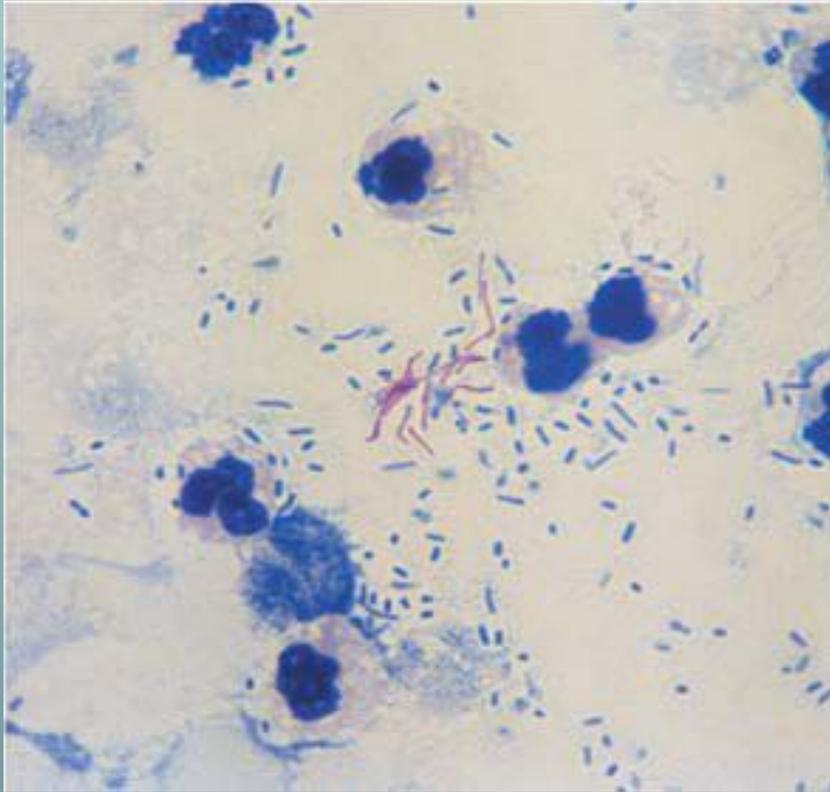


11-6 Colonies of *M. tuberculosis* ($\times 75$). Older colonies (3 to 4 weeks old) growing on Middlebrook 7H11 agar. The colonies have a rough appearance and exhibit cording, exemplified by the darker areas.

Лабораторная диагностика

(слева – окраска по Цилю-Нильсену, справа-колонии **M.tuberculosis**)





M.leprae

