

Характеристика возбудителей туберкулеза.

**Методы диагностики
туберкулеза животных**

содержание

1. Краткие сведения о болезни.
 2. Историческая справка о болезни и возбудителях туберкулеза.
 3. Классификация микобактерий.
 4. Характеристика возбудителя.
 - 4.1. Морфологические особенности микобактерий.
 - 4.2. Культуральные свойства.
 - 4.3. Антигенная структура и факторы патогенности.
 5. Устойчивость микобактерий во внешней среде.
 6. Методы лабораторной диагностики туберкулеза.
 7. Иммуитет при туберкулезе.
 8. Профилактика и меры борьбы.
- Заключение**

Литература

1. Туберкулез с.-х. животных /Под ред. Шишкова В.П., Урбана В.П.- М.: Агропромиздат, 1991.- 255 с.

2. Конопаткин А.А. и др. Эпизоотология и инфекционные болезни с.-х. животных.- М.: Колос, 1984.- 545 с.

3. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина.- 1972. – С. 177.

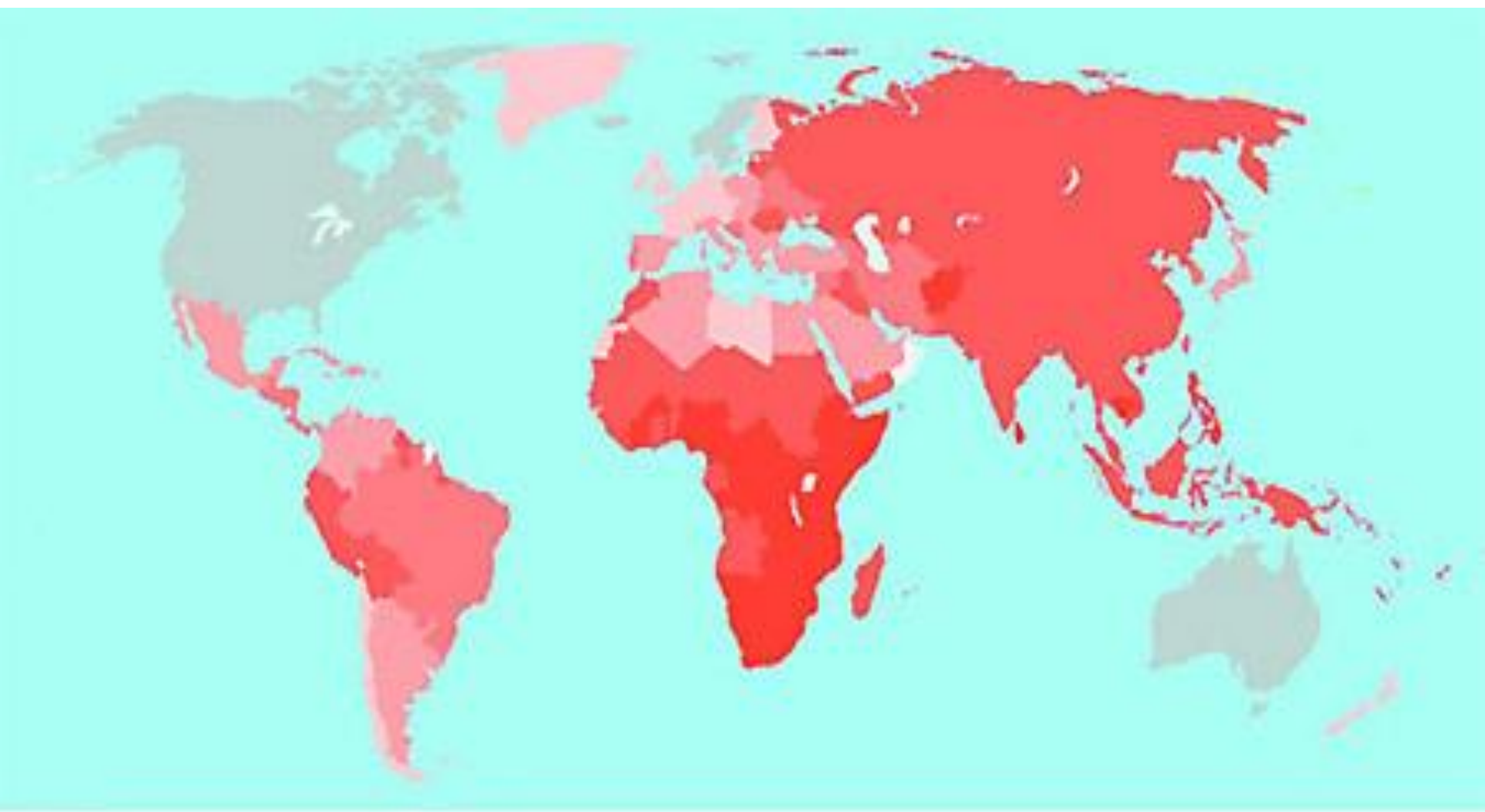
4. Шишков В.П. и др. Туберкулез животных, методы диагностики и профилактики.- М.: ВНИИ информации, 1986.- 43.

Туберкулез (*tuberculosis*)–

хронически протекающая инфекционная болезнь человека, разных видов животных и птиц, вызываемая патогенными микобактериями, характеризующаяся образованием в различных органах и тканях специфических узелков – туберкулов, склонных к творожистому распаду.

(*tuberculum* - бугорок)







По статистике, микобактерией туберкулеза инфицирована треть населения земного шара (около 2 млрд. человек)




Туберкулёз в Европе

количество заболевших на 100 тыс. человек

Минимум

	Испания	3,8
	Кипр	4,1
	Мальта	4,5
	Швейцария	4,6
	Греция	6
	Норвегия	6,1
	Финляндия	6,1

Максимум

	Молдова	122
	Румыния	120
	Грузия	101
	Россия	89
	Украина	83

Источник: Всемирная организация здравоохранения



Пути заражения:

1. Алиментарный.
2. Аэрогенный (ингаляционный).
3. Внутриутробный.
4. Трансовариальный.

Течение болезни:

Хроническое – до 45 дней.

Формы болезни:

1. Легочная.
2. Кишечная.
3. Генитальная.
4. Генерализованная.
5. Жемчужница.
6. Открытый (активный).
7. Закрытый (латентный).

Туберкулез у слона. Истощение, изменение пигментации кожи

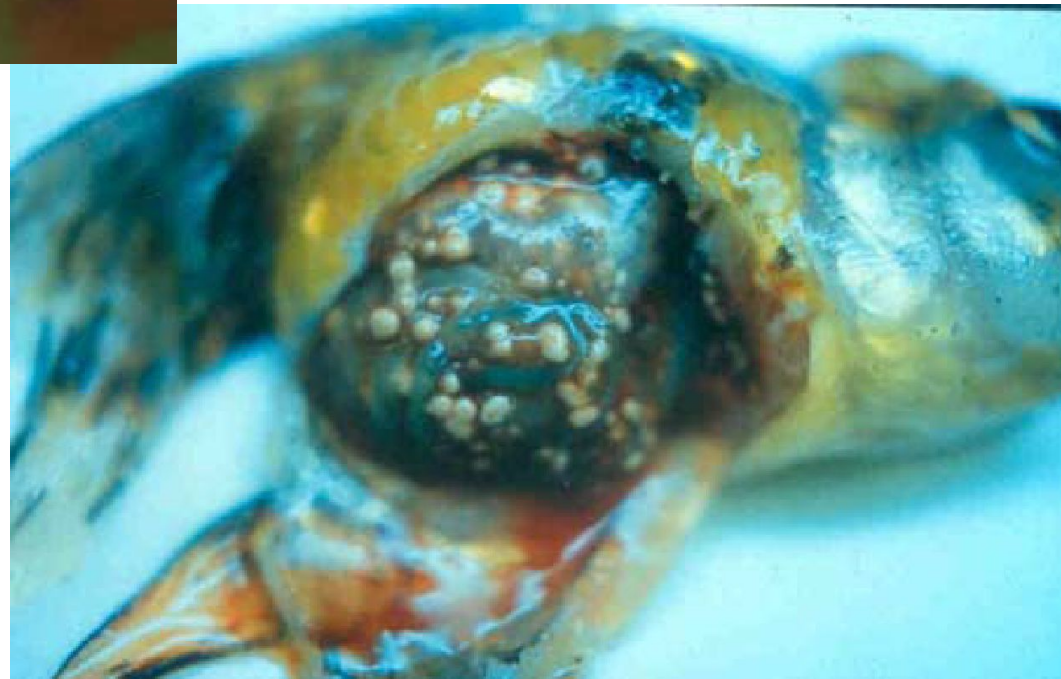


Попугай, больной туберкулезом

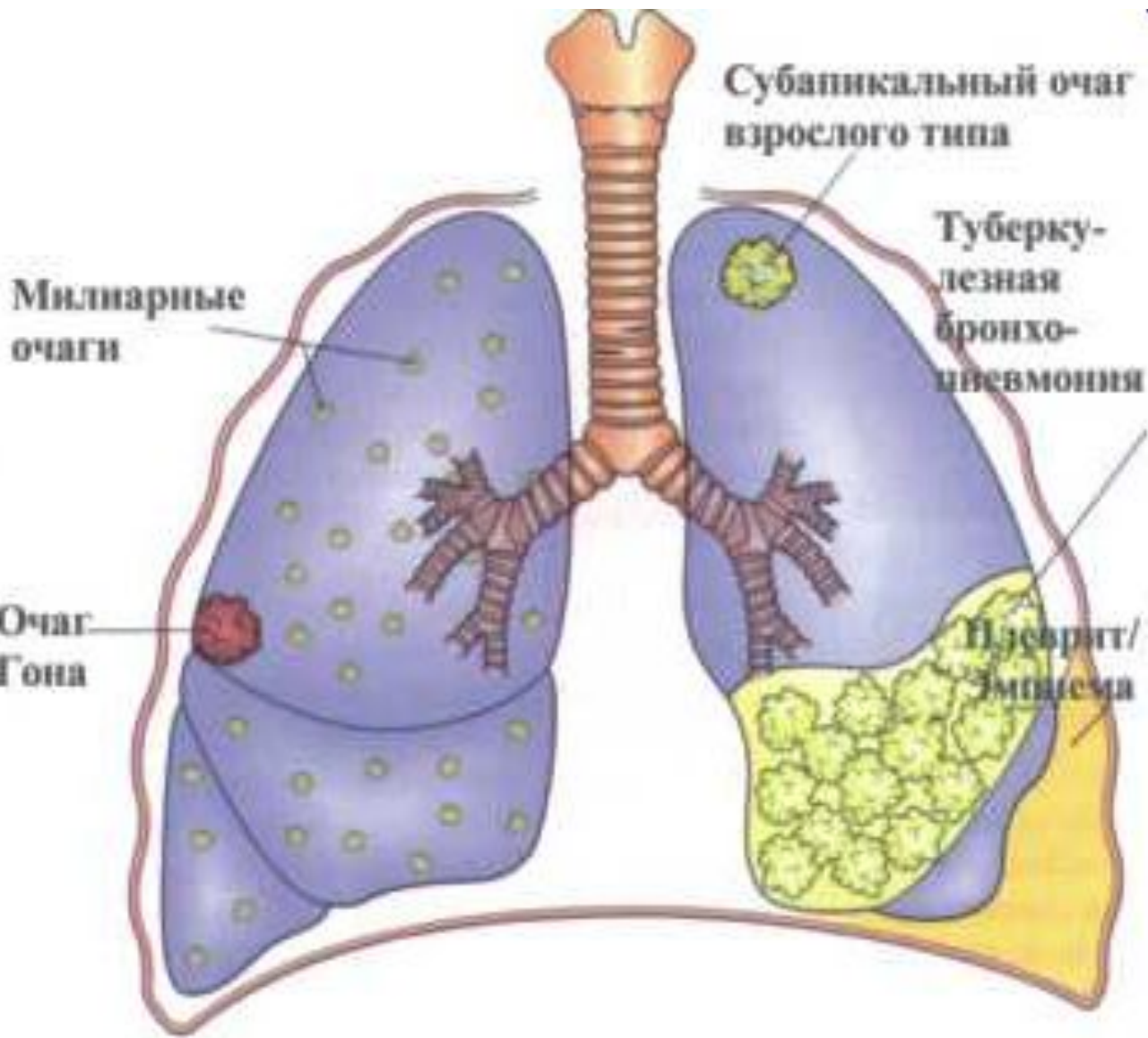




Туберкулез аквариумных рыб

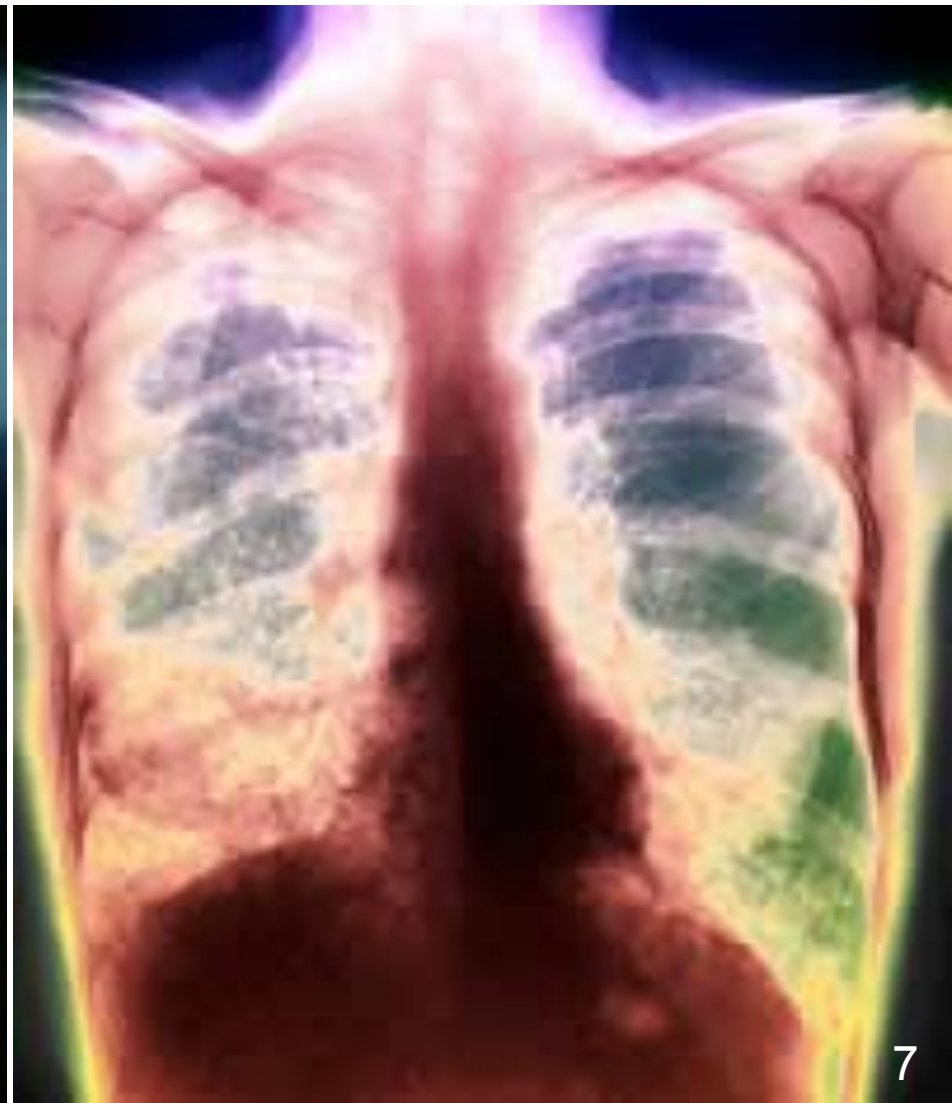


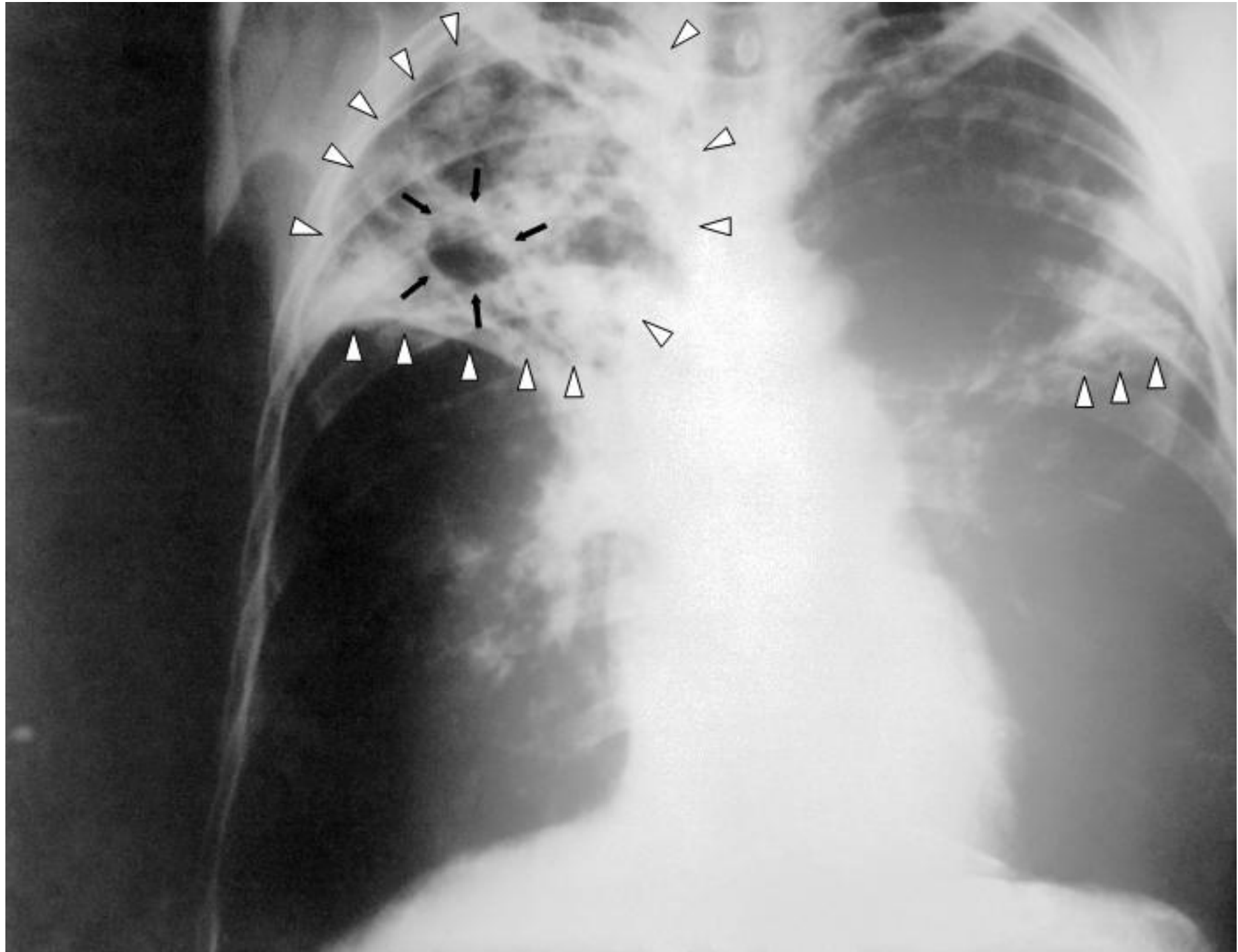
- Туберкулы на серозных оболочках органов брюшной полости рыбы.



Туберкулез

Легочная форма туберкулеза у человека





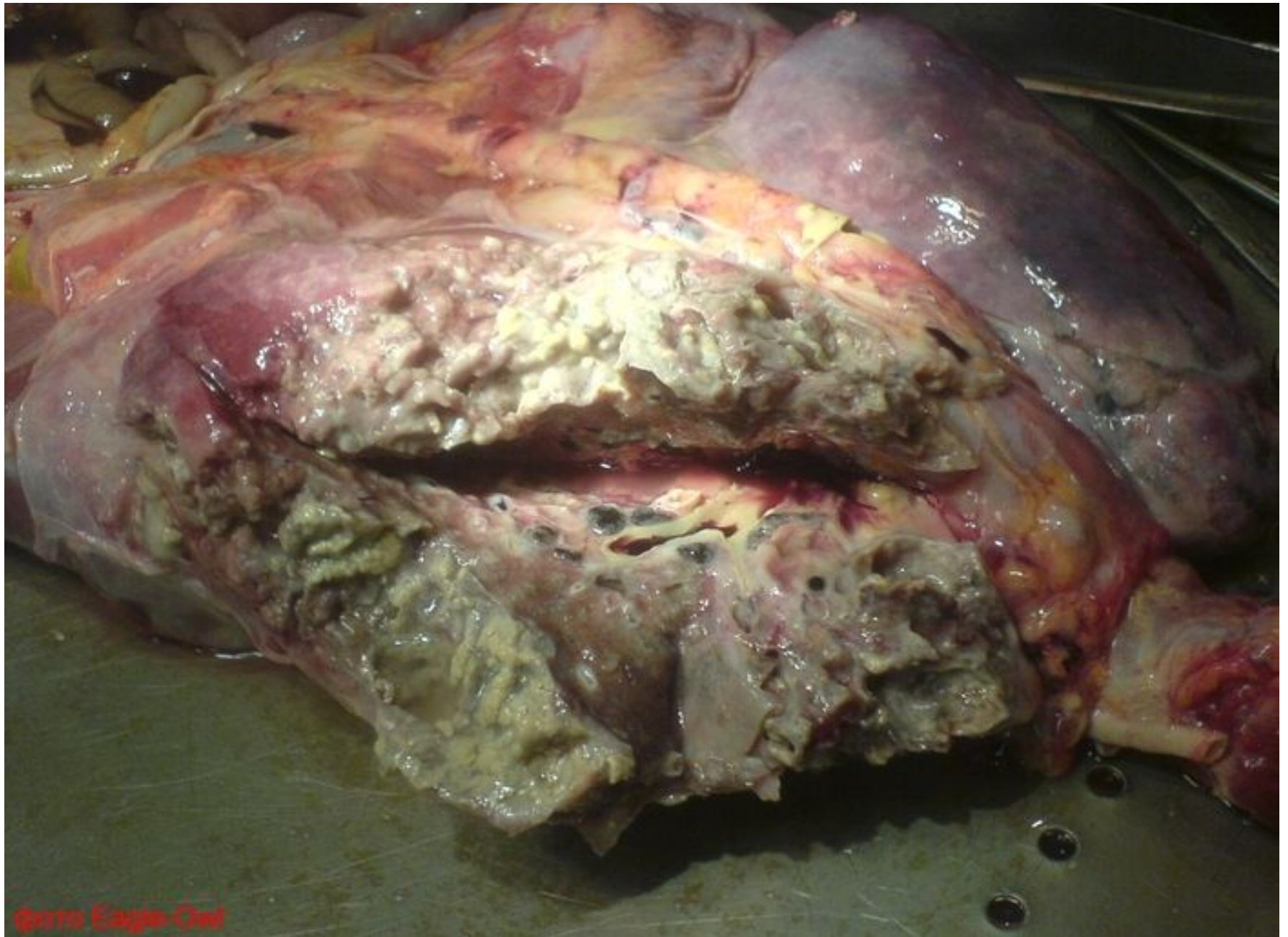


Туберкулез легких

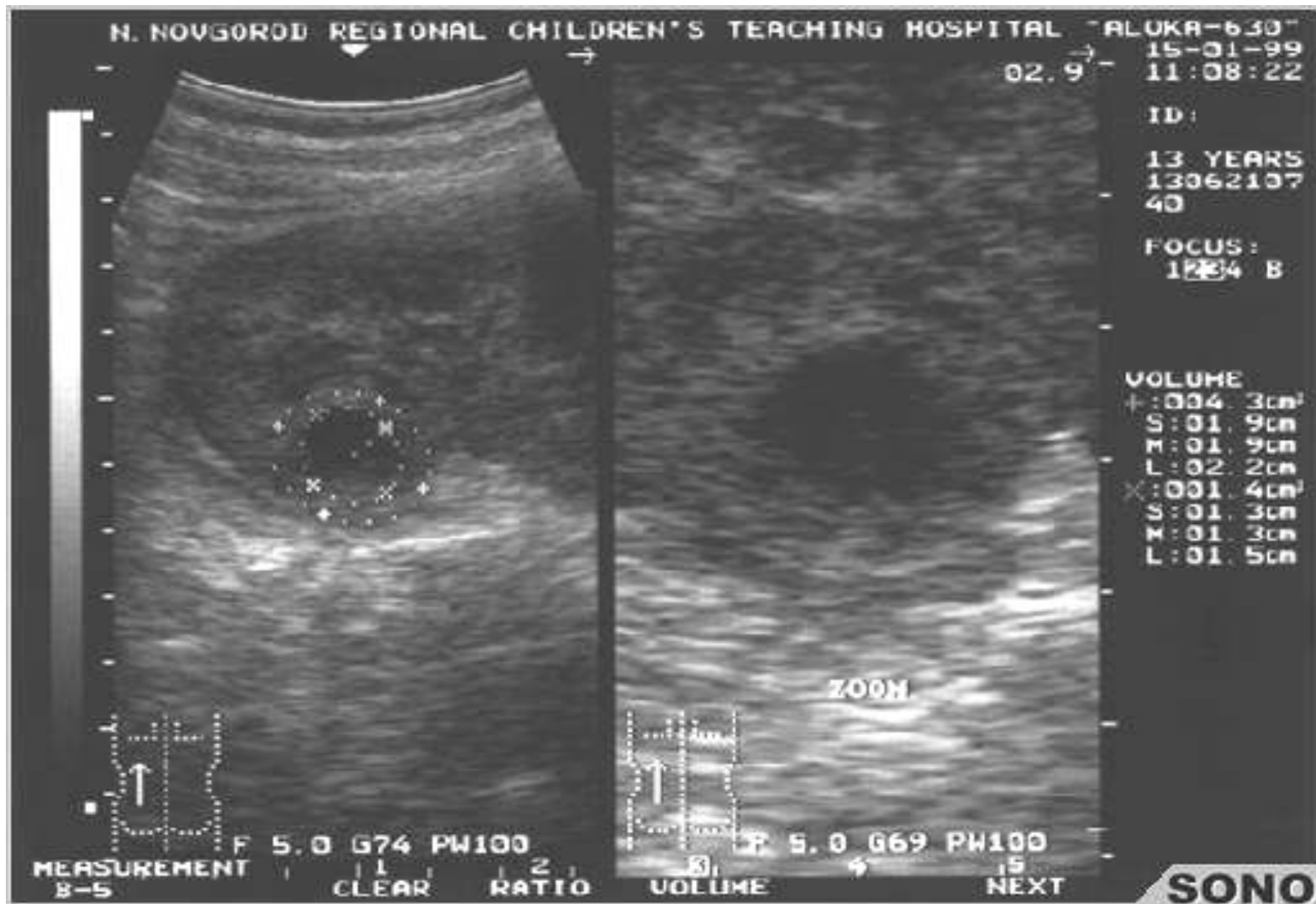




Туберкула с творожистым распадом



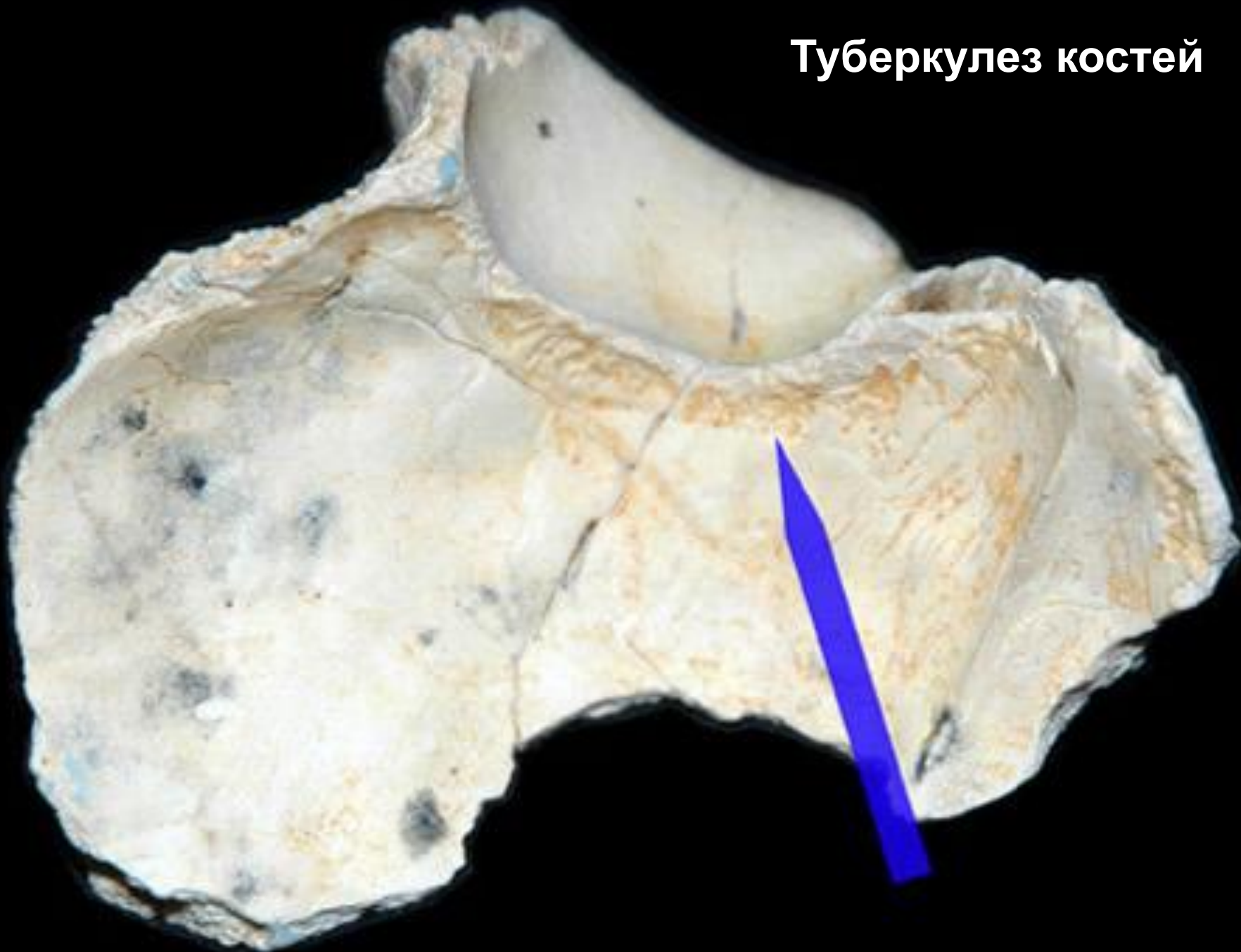
Кавернозный туберкулез левой почки



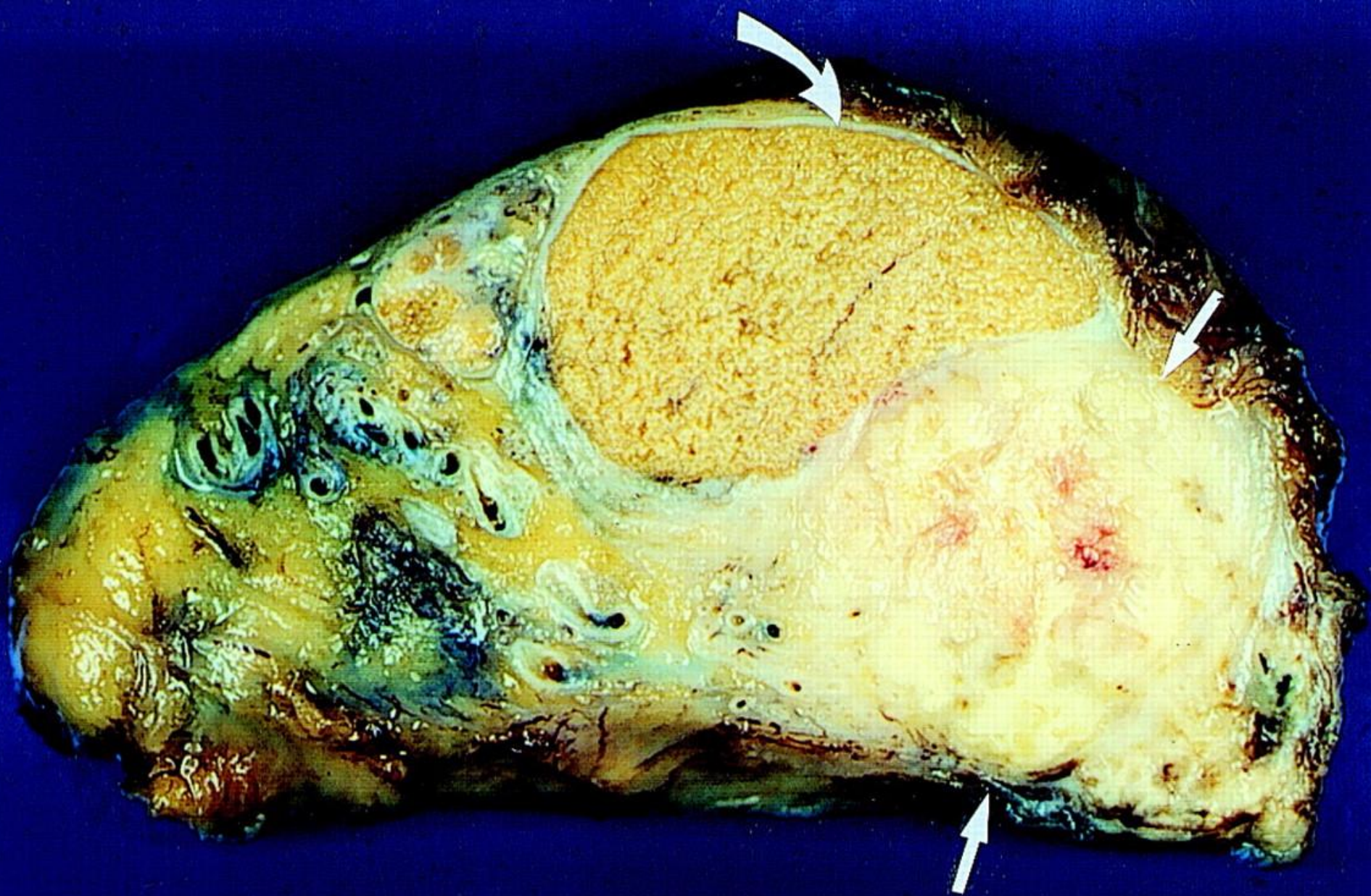


Почки

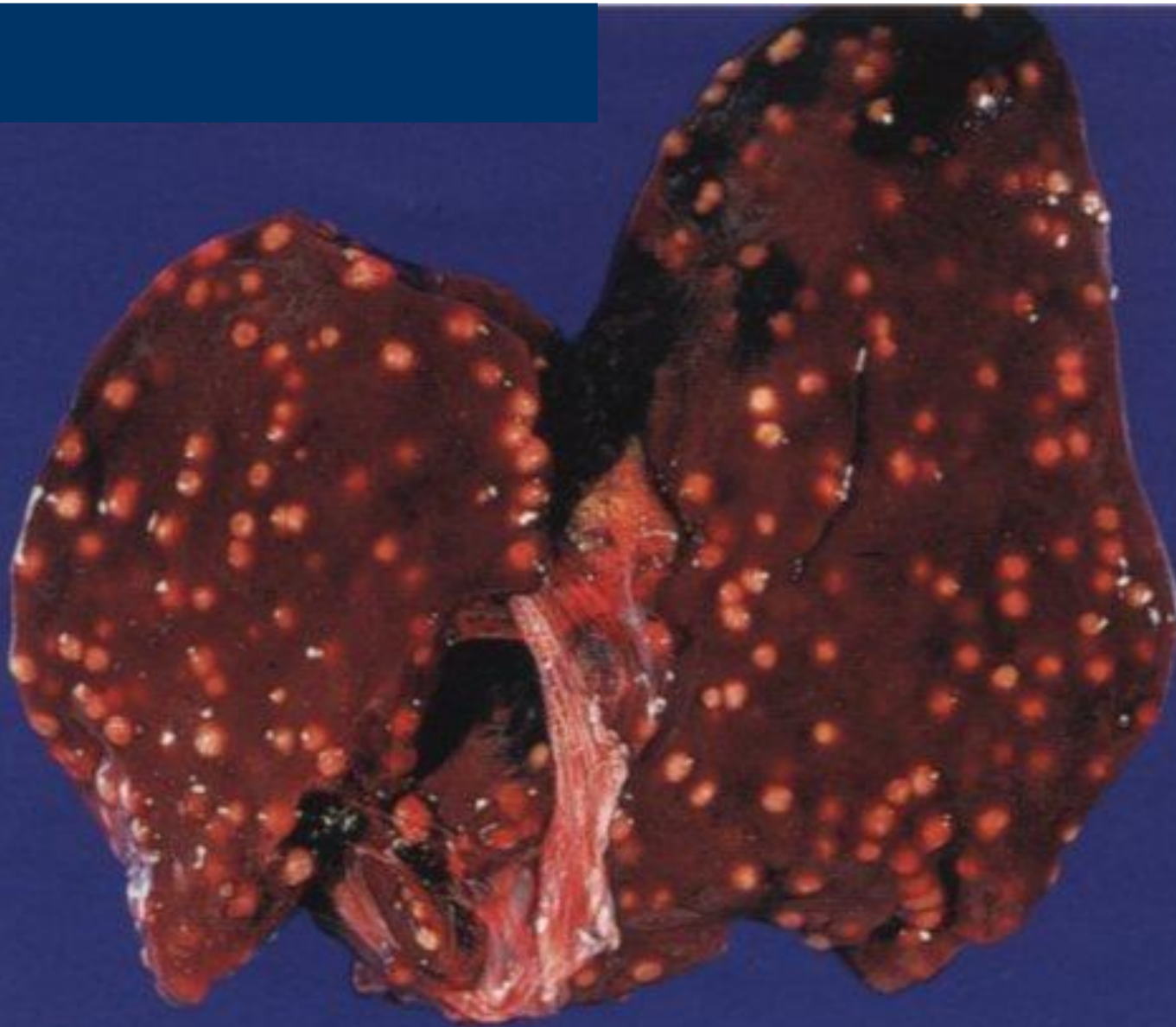
Туберкулез костей



Творожистый распад семенника при туберкулезе



Поражение печени при туберкулезе





Жемчужница



Исторические сведения

IV век д.н.э. – Гиппократ описал клиническую картину легочной формы болезни.

1819 – француз. врач Леннек дал название болезни.

1843 – Кленк установил заразительность болезни.

1865 – Виллем описал пути заражения туберкулезом.

1882 – Р. Кох открыл возбудителя туберкулеза, выделил чистую культуру, описал свойства, доказал инфекционность.

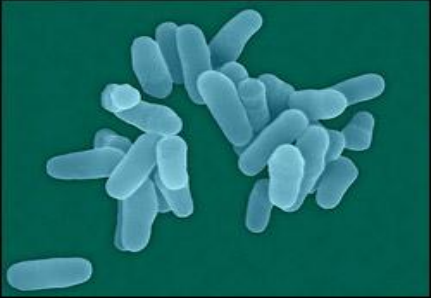
1888 – Х. Гельман предложил аллергический метод диагностики.

1890 – Кох Р. изготовил туберкулин.

1896 – Леман и Нойман систематизировали возбудителя туберкулеза.

1924 – Кальметт и Герен изготовили вакцину БЦЖ (BCG) для профилактики туберкулеза у людей.

Сегодня в мире 35% людей заражены туберкулезом



Классификация и номенклатура микобактерий

Отряд – *Firmicutes*.

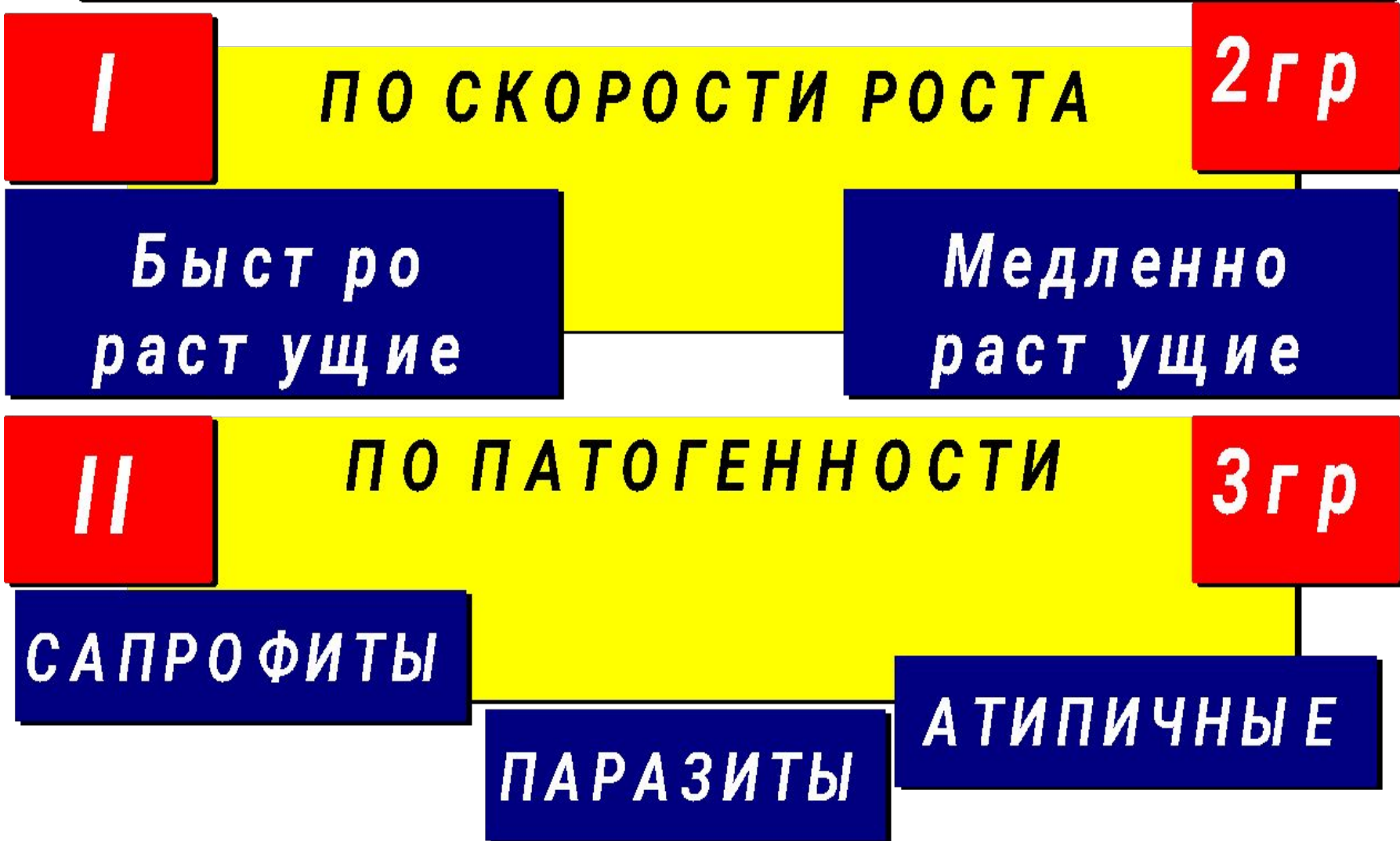
Порядок – *Actinomycetales* (грамположительные, кислотоустойчивые, аэробные, палочковидные бактерии).

Семейство – *Mycobacteriaceae* («*mycos*» - гриб, «*bacterium*» - палочка).

Род – *Mycobacterium* (ветвящиеся палочки).

Вид – 30 видов, из них 6 – патогенные (паразиты), 8 – условно-патогенные (атипичные), 16 – непатогенные (сапрофиты).

Классификация рода *Mycobacterium*



**Патогенные
микобактерии:**

M.bovis

M.tuberculosis

M.avium

M.africanum

M.paratuberculosis

M.leprae

**Условно-патогенные
микобактерии
(атипичные):**

M.kansasii

M.marinum

M.scrofulaceum

M.intracellulerae

M.xenopi

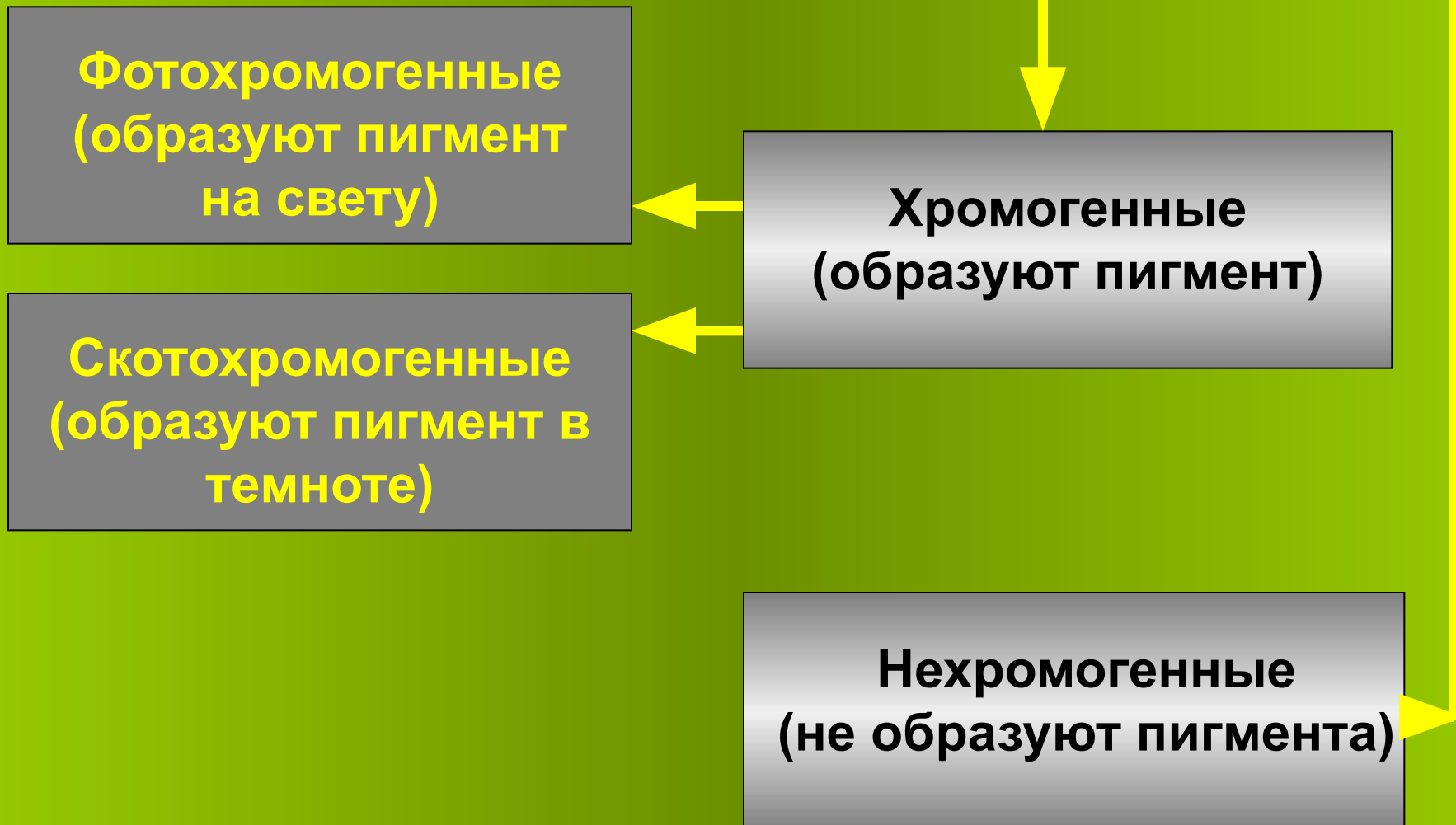
M.ulcerans

M.fortuitum

M.chelonei

Туберкулез

Классификация микобактерий по способности образовывать пигменты



КЛАССИФИКАЦИЯ АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

ФОТОХРОМОГЕННЫЕ

4 группы

ВЫДЕЛЯЮТ от реагирующих на туберкулин, но без пат изменений

Скорость роста - 15-30/10-20

Пигмент образуют на свету

СКОТОХРОМОГЕННЫЕ

ВЫДЕЛЯЮТ от свиней
(*tub* лимфоденит)

ПОЛИМОРФНЫЕ

Пигмент образуют в темноте

КЛАССИФИКАЦИЯ АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

НЕХРОМОГЕННЫЕ

4 группы

ВОЗБУДИТЕЛЬ микобактериозов у
свиней и людей

Скорость роста - 15-30/10-25

Пигмент не образуют

БЫСТРОРАСТУЩИЕ

ВЫДЕЛЯЮТ из неизмененных
лимфоузлах "+"-реагирующих, при
абсцессах собак и кошек, маститах

быстро растут

Медленно растущие

Возбудители туберкулеза

Нехромогенные

Хромогенные

M. tuberculosis

M. africanum

M. bovis

M. avium complex

M. xenopi

M. haemophilum

M. malmoense

M. shimoidei

M. genavense

M. celatum

M. ulcerans

M. terrae complex

M. triviale

M. gastri

M. kansasii

M. marinum

M. simae

M. asiaticum

M. xenopi

M. gordonae

M. scrofulaceum

M. szulgai

M. flavescens



Туберкулез

Быстро растущие

Нехромогенные

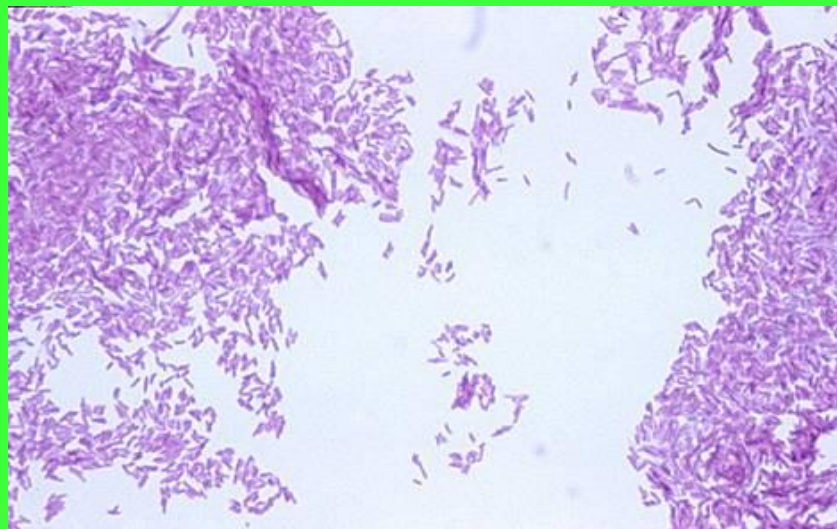
M. fortuitum

M. chelonae

M. abscessus

M. mucogenicum

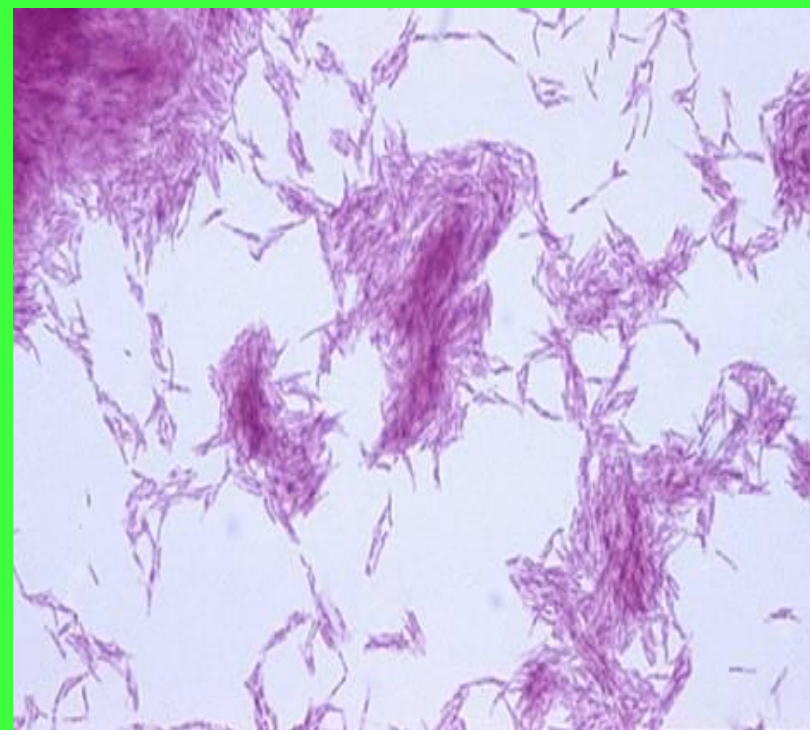
M. smegmatis



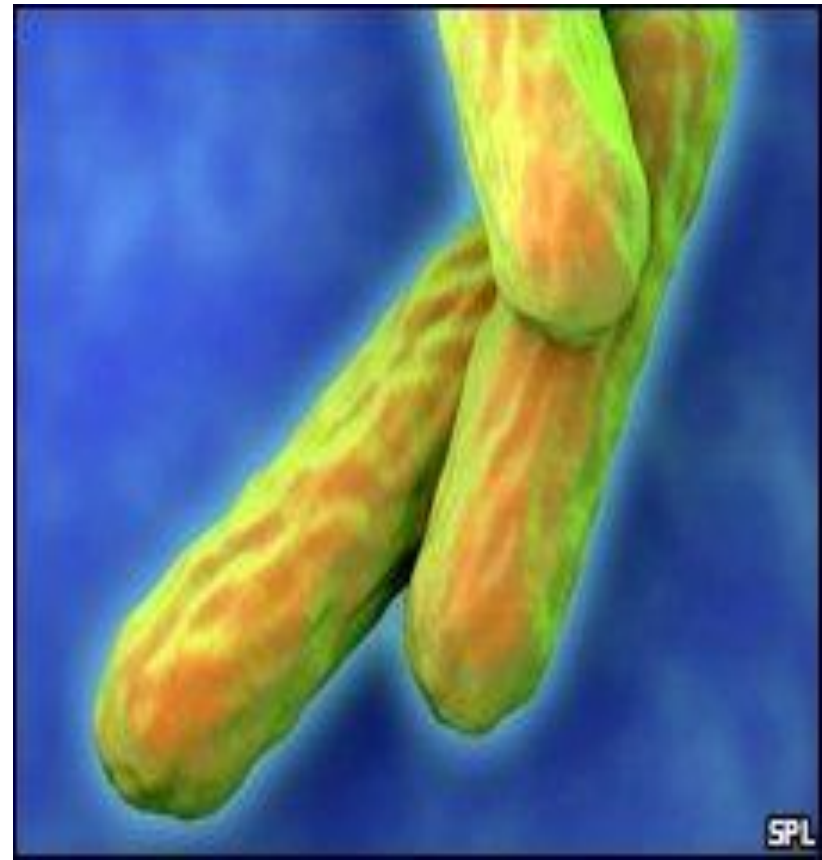
Хромогенные

M. phlei

M. vaccae



**Фотохромогенные
микобактерии на
среде Петраньяни**

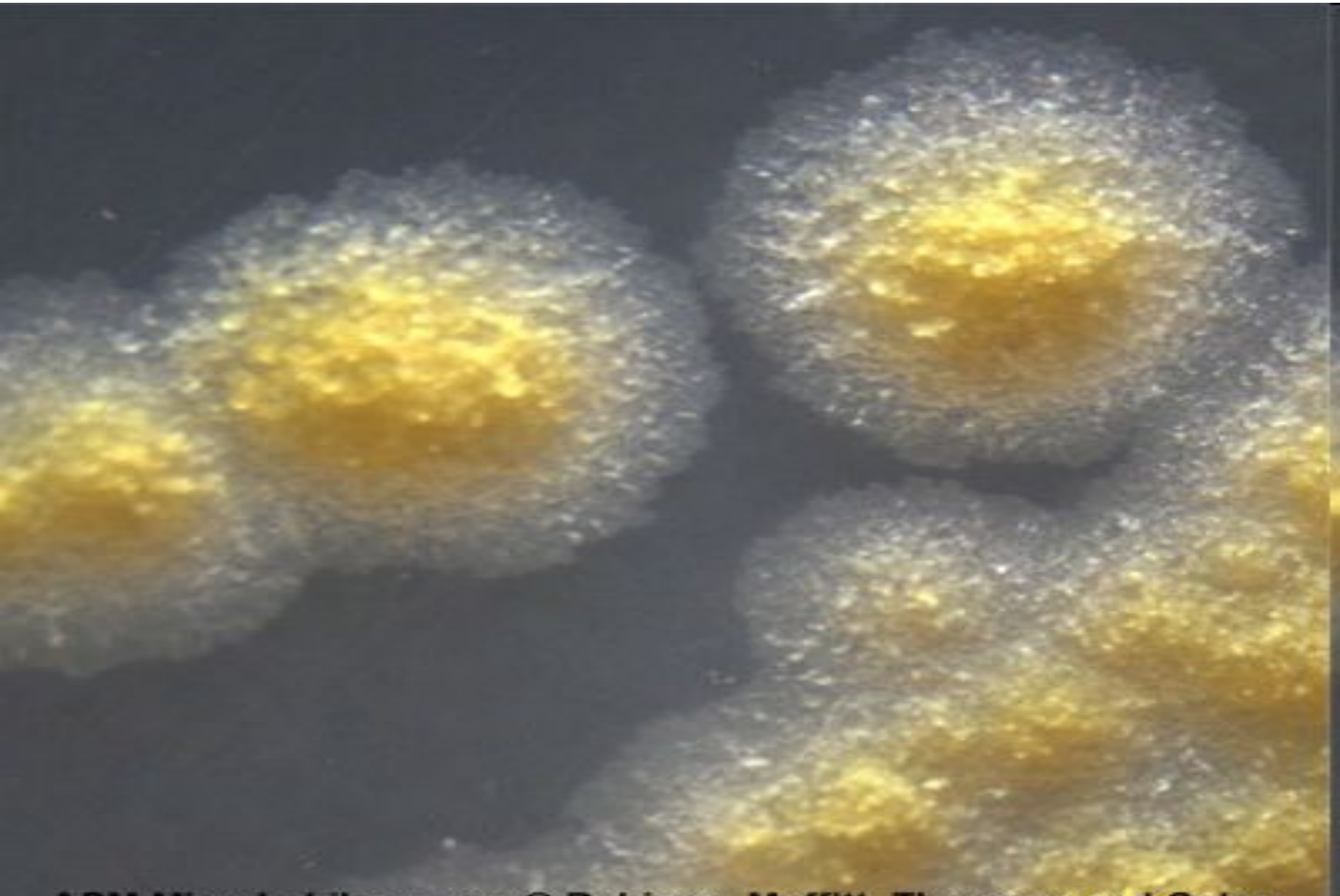




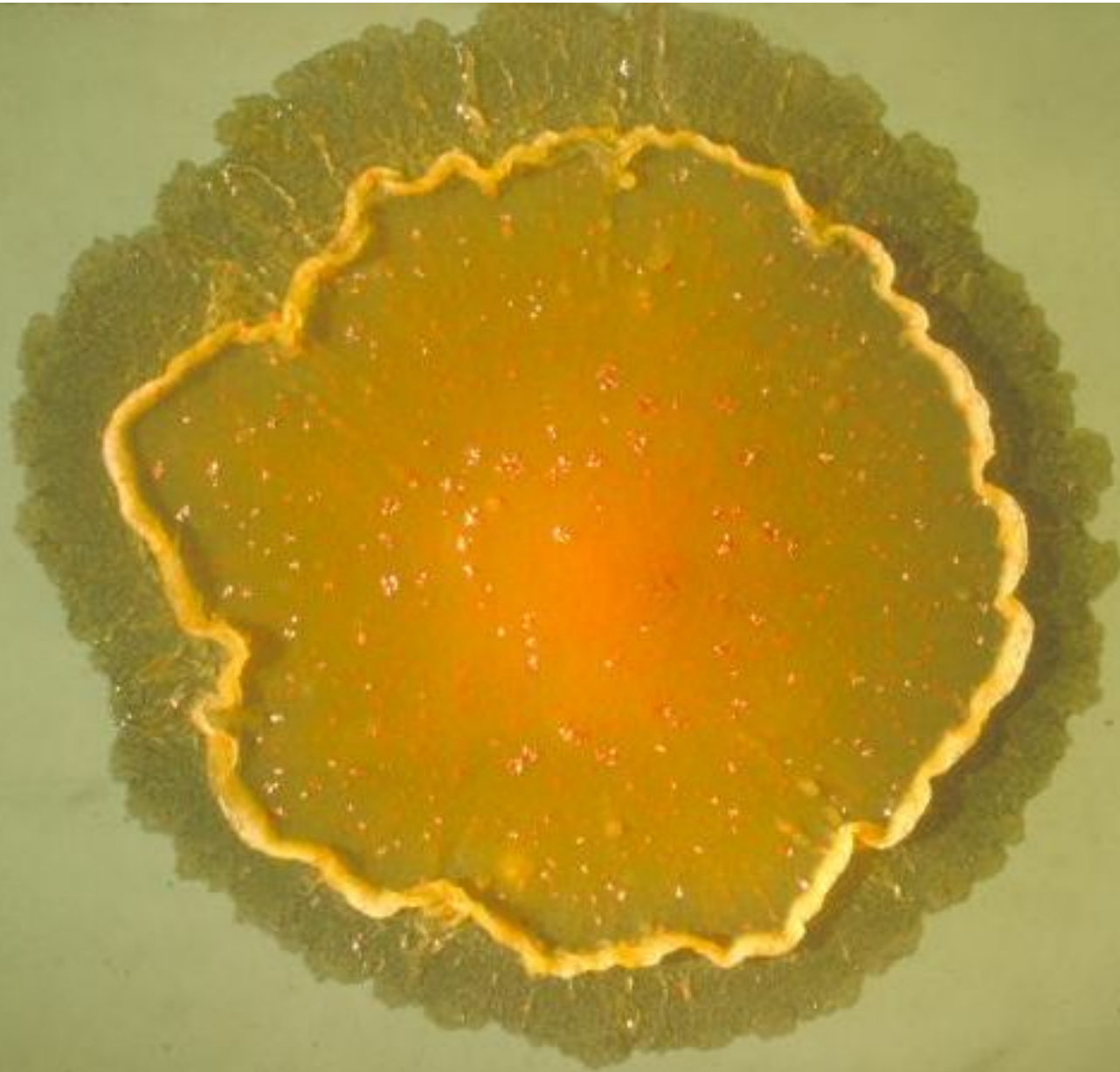
Культура хромогенных микобактерий *M. phlei*



Mycobacterium marium



Фотохромогенные микобактерии





***Mycobacterium
kansasii***
**на среде
Левенштайна-
Йенсена**

Истинные возбудители туберкулеза

Бычьего вида

M.bovis

Птичьего вида

M.avium

Человеческого вида

M.tuberculosis

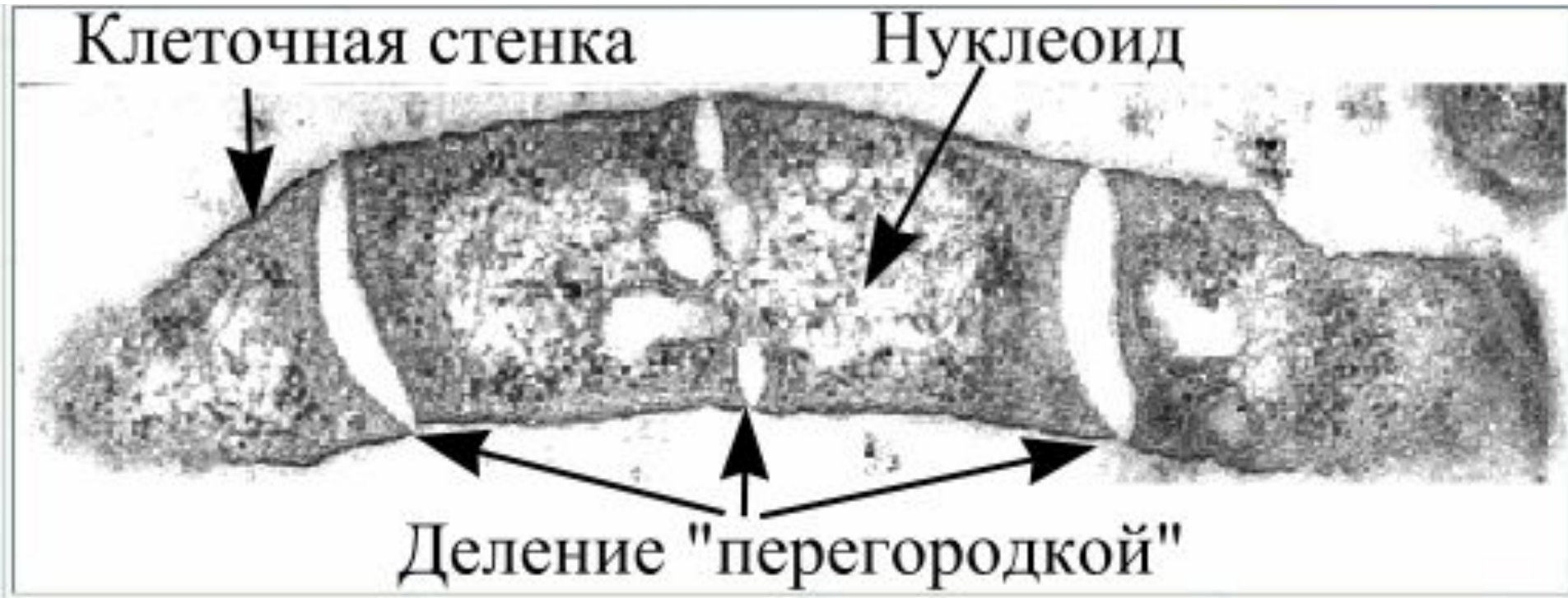
Общие морфологические признаки микобактерий

- Тонкие, прямые, слегка изогнутые палочки размером 0,2-0,6 x 1-10 мкм или полиморфные (нитевидные, ветвящиеся, вакуолизированные формы).
- Неподвижные. Аэробы. Спор не образуют, жгутиков не имеют.
- По строению клеточной стенки – грамположительные, однако плохо окрашиваются по Граму.
- В клеточной стенке высокое содержание липидов (до 40% от сухого вещества) поэтому кислото-спирто-



Электроннограмма ультратонкого среза делящейся клетки **M.tuberculosis**

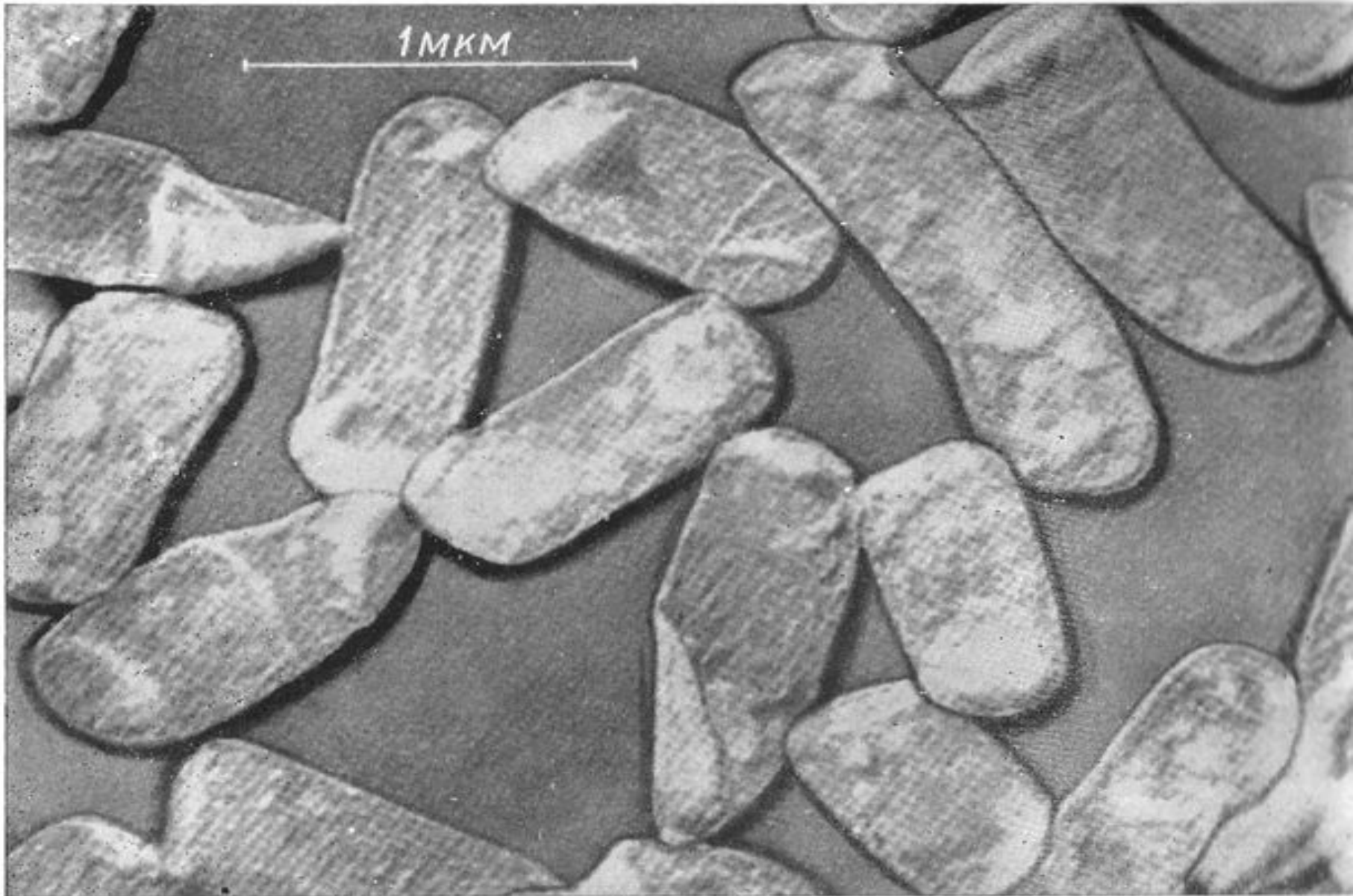
Деление происходит путем формирования перегородки деления с последующим расхождением клеток (препарат Д. Д. Меньшикова).

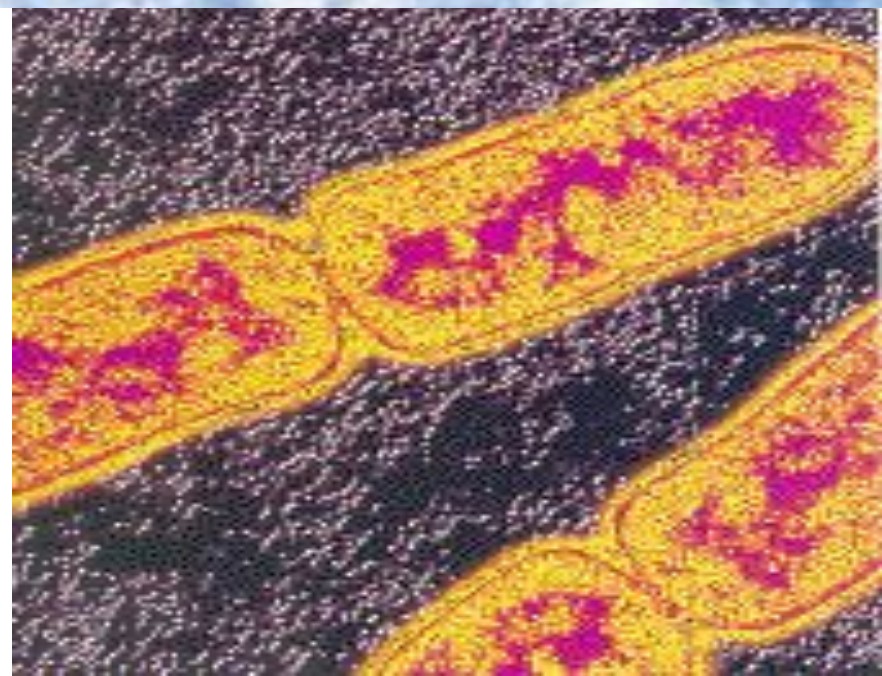
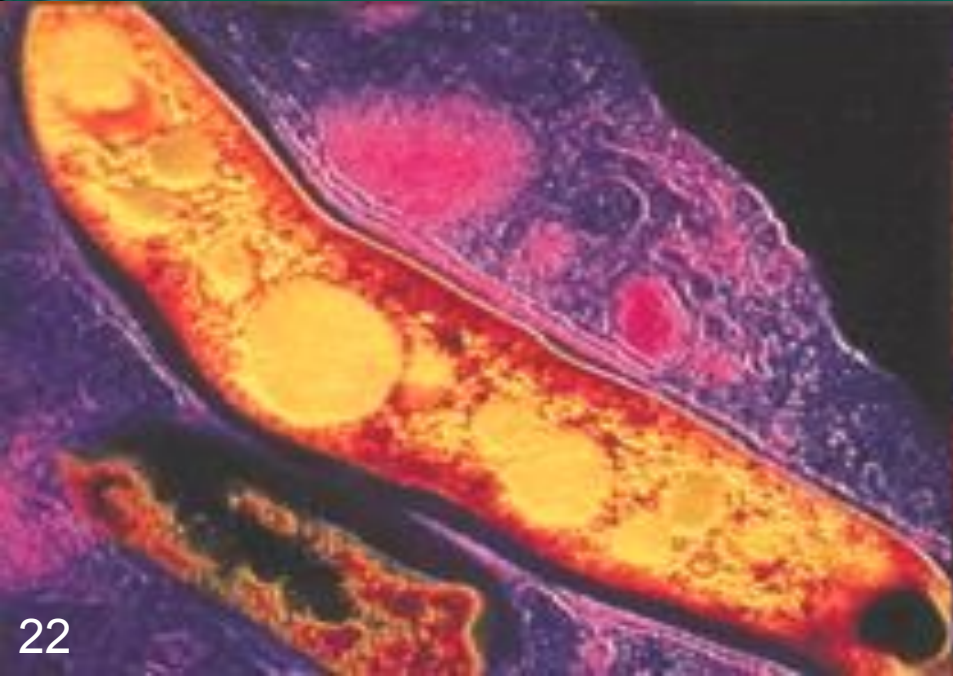
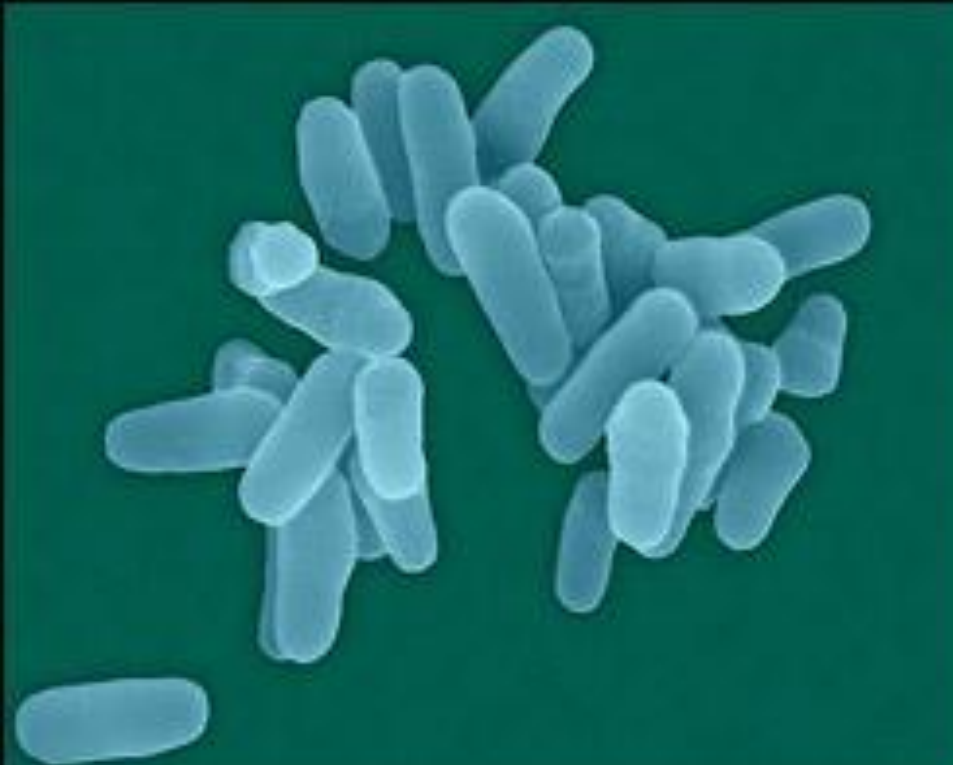


В цитоплазме видны кислотонеустойчивые гранулы – зерна Муха



Клеточные стенки микобактерий



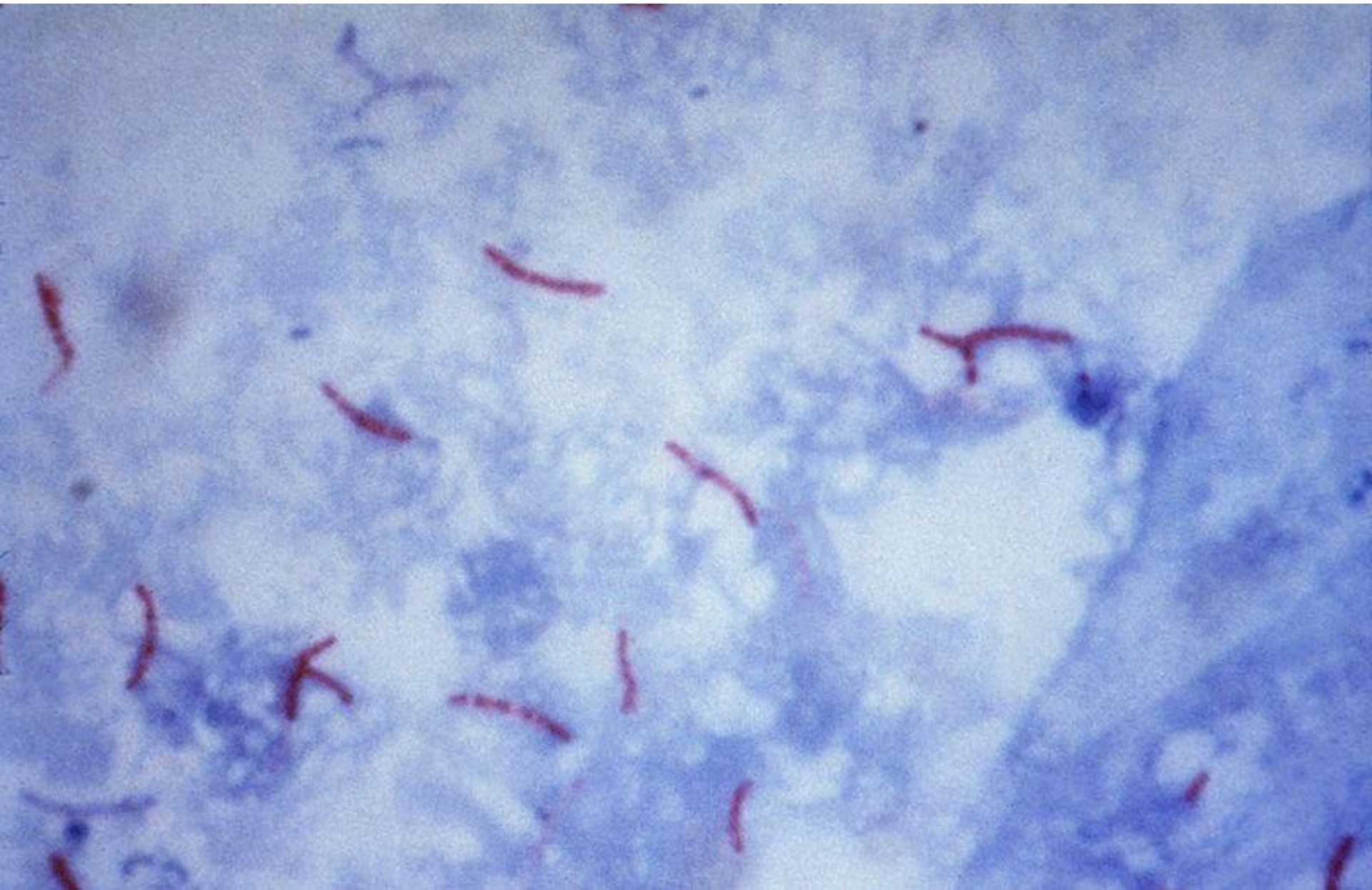


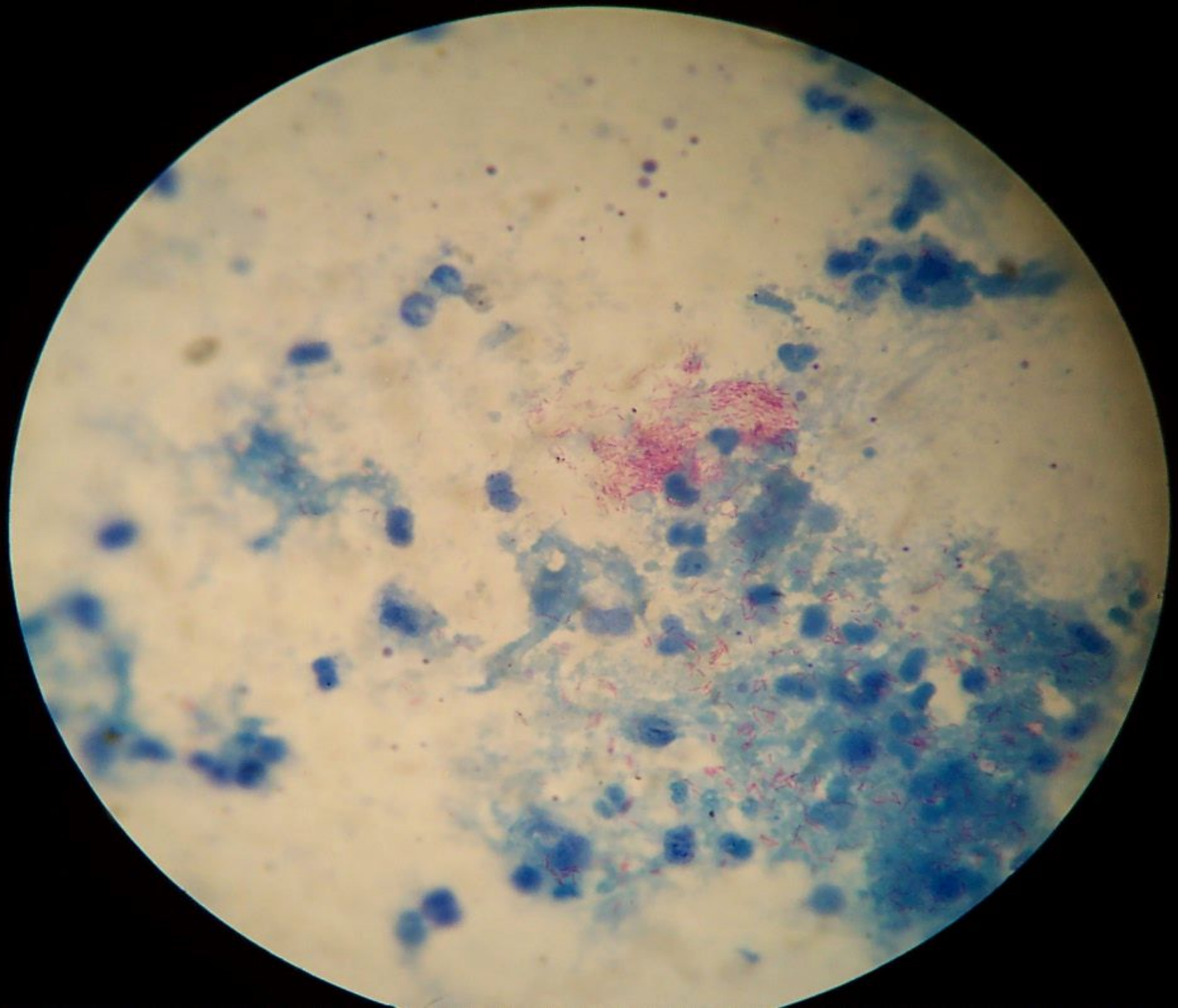


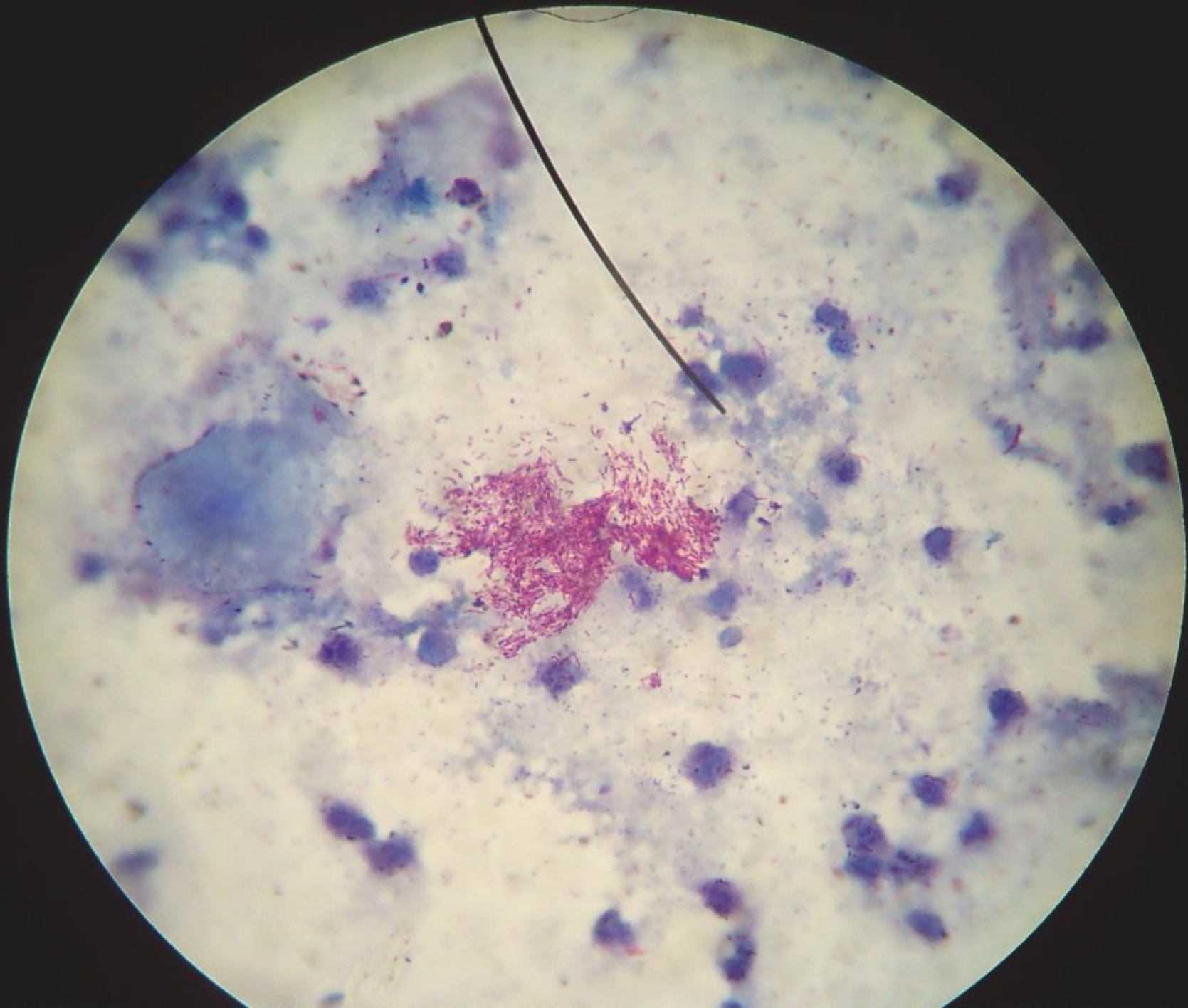


Микобактерии с
гранулами
внутри
(зерна Муха)

Микобактерии, окрашенные по Циль-Нильсену

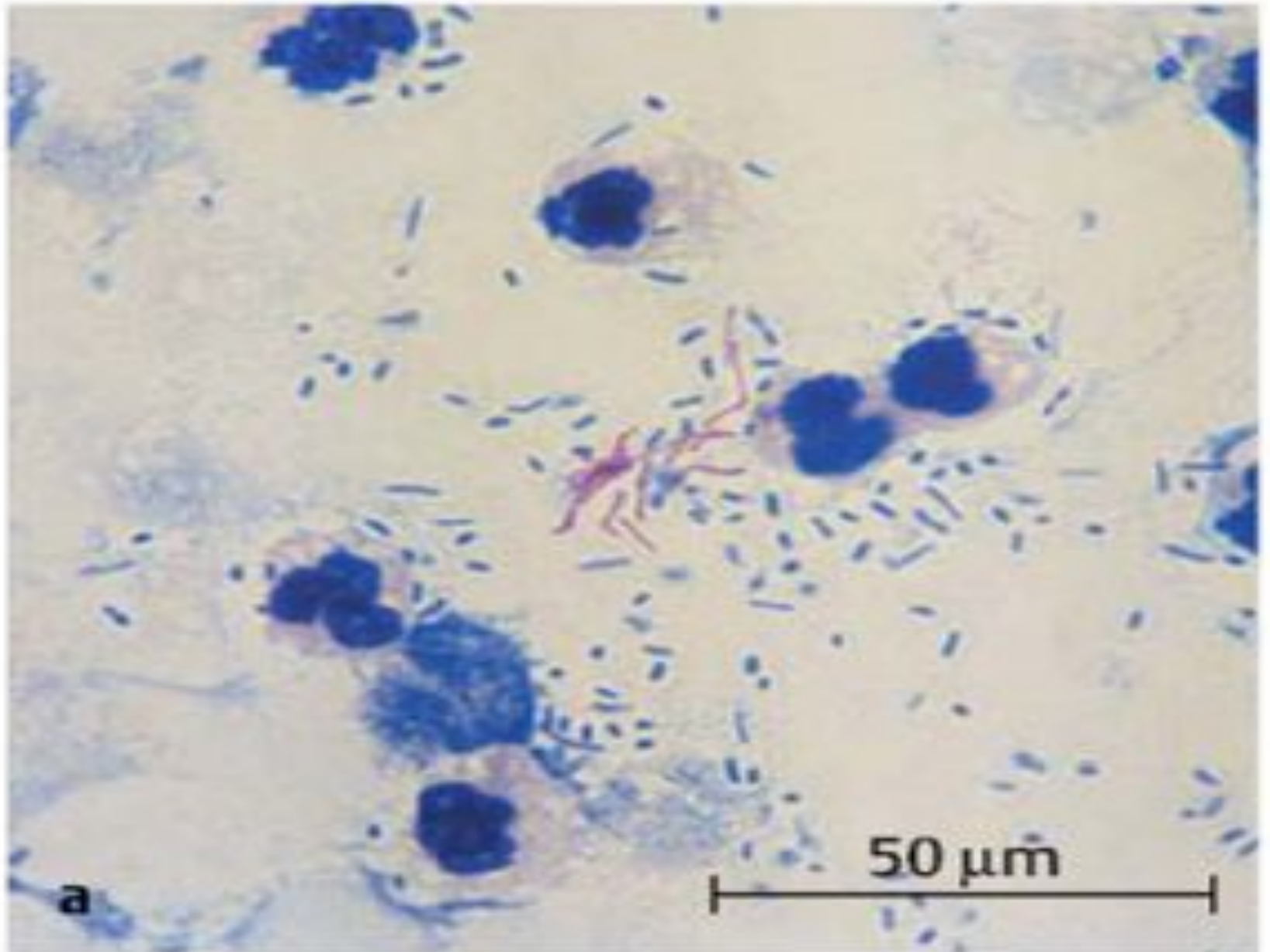




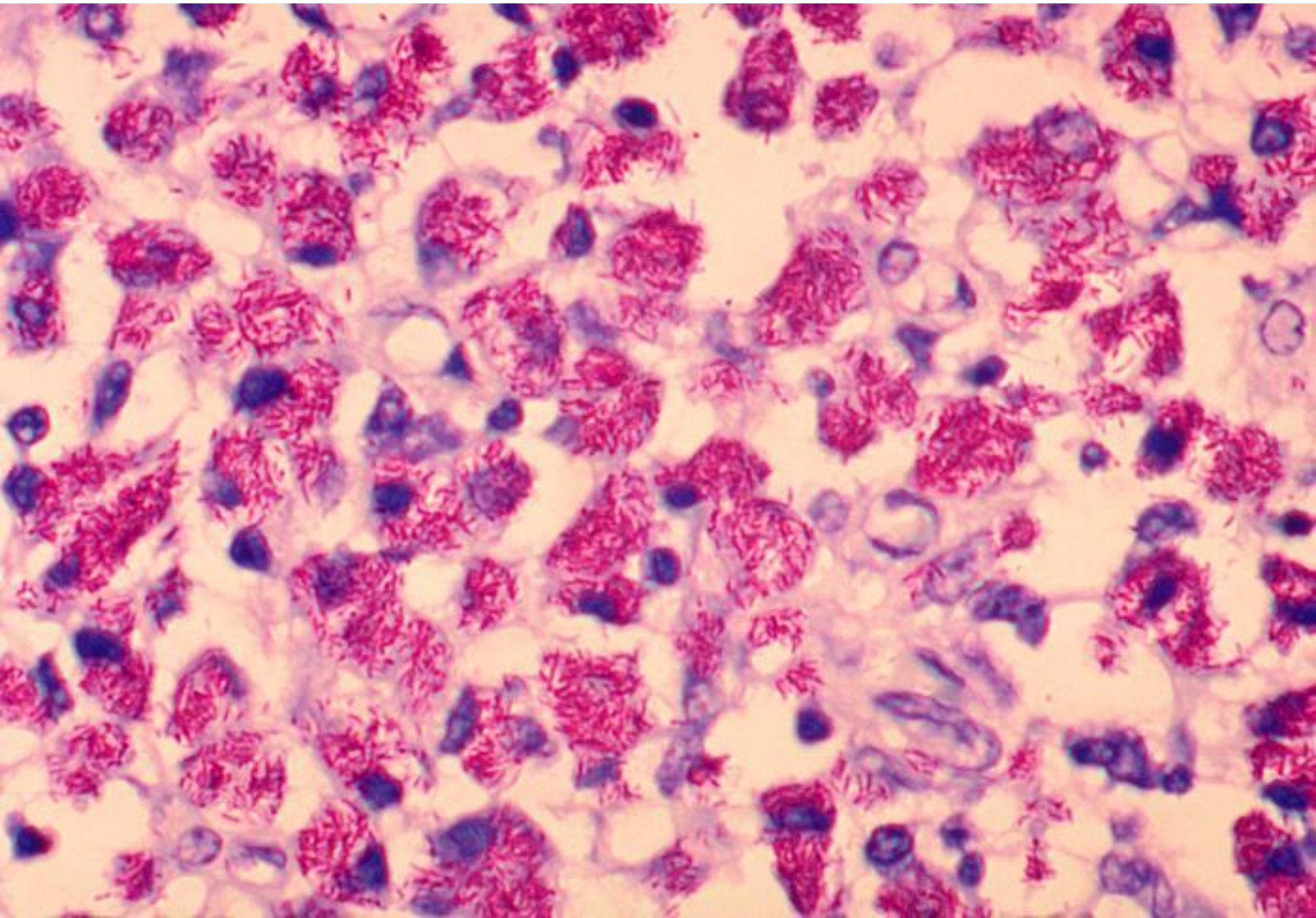


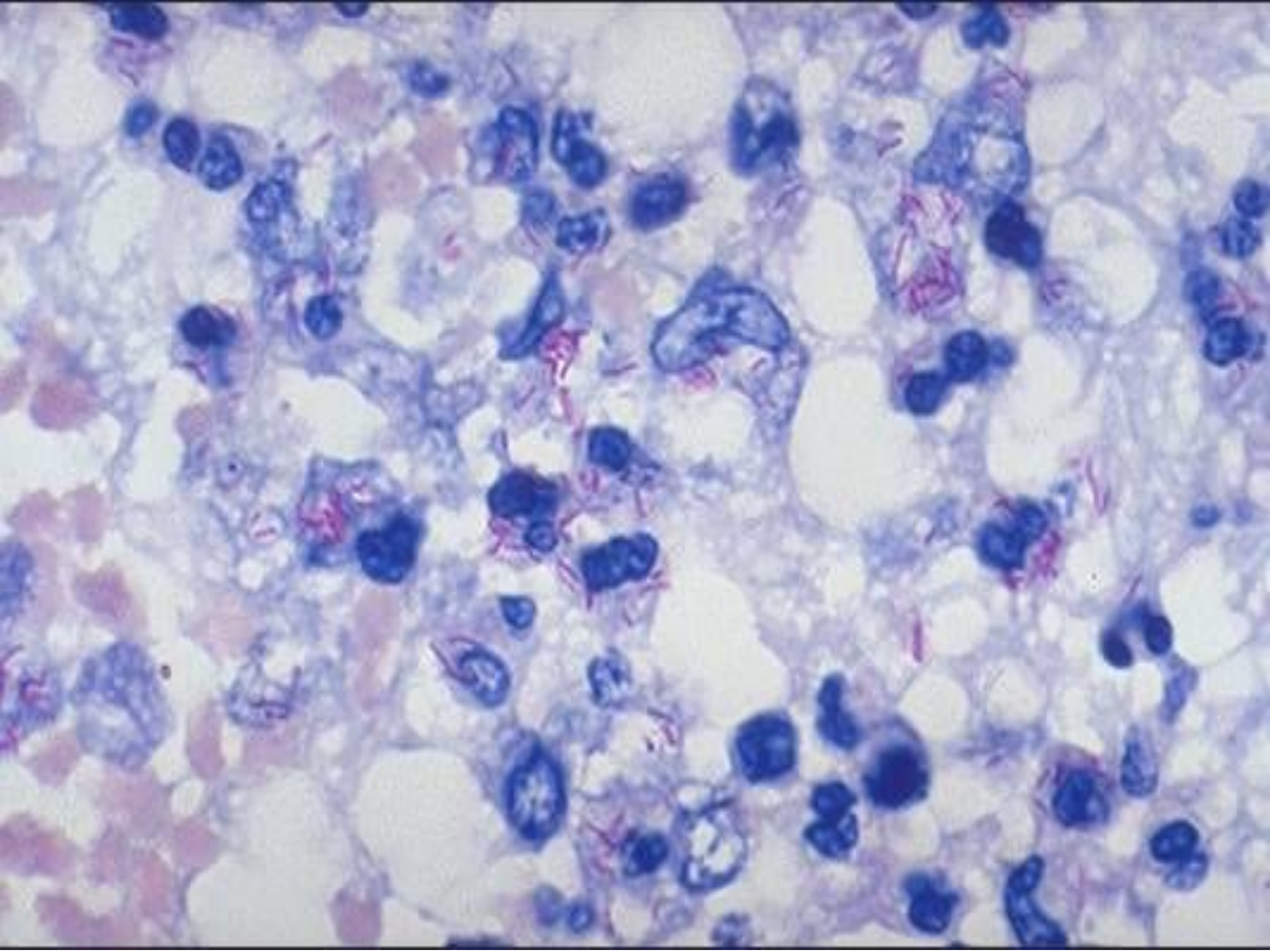


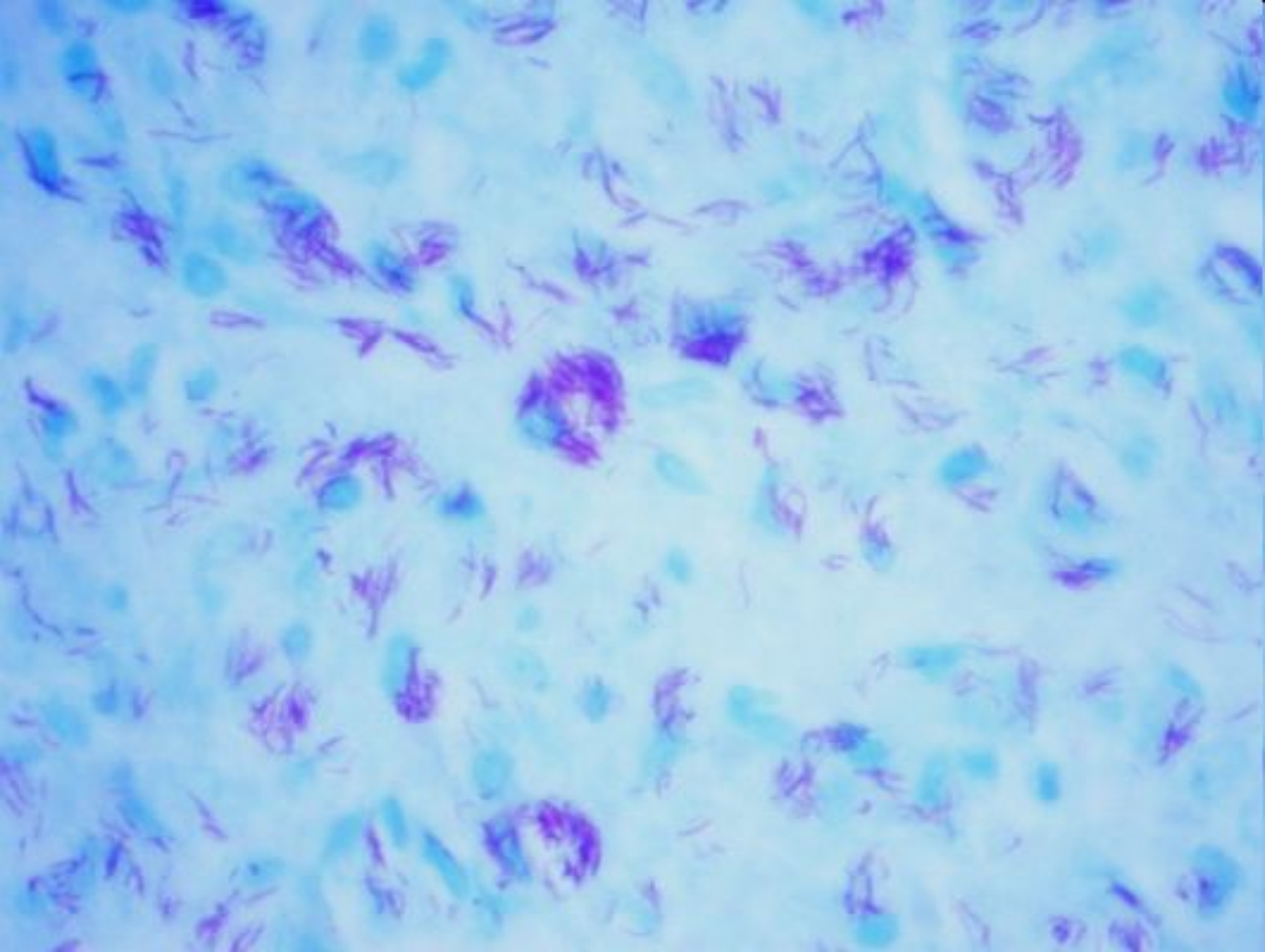
— *Mycobacterium Tuberculosis* —



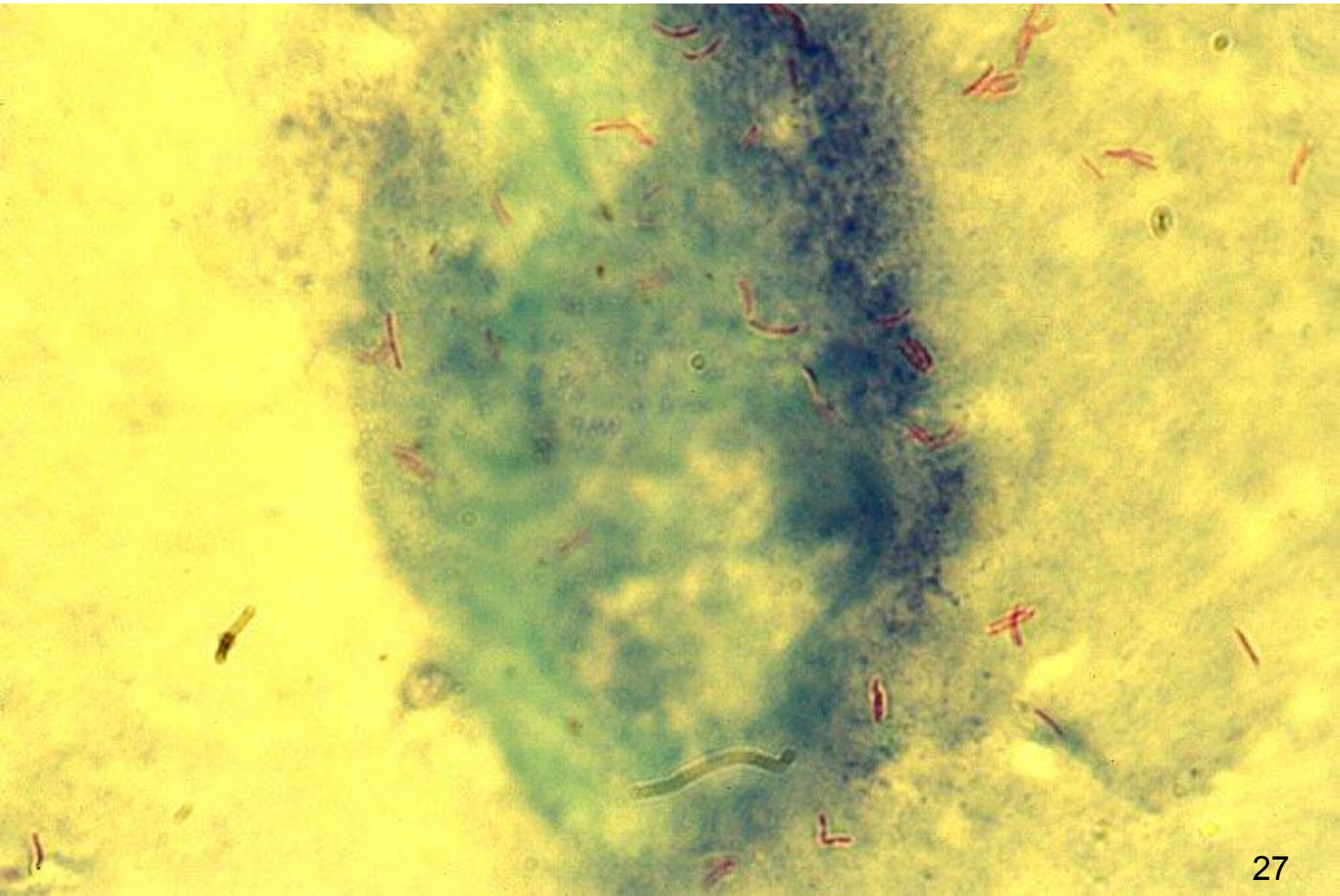
Микобактерии в легких



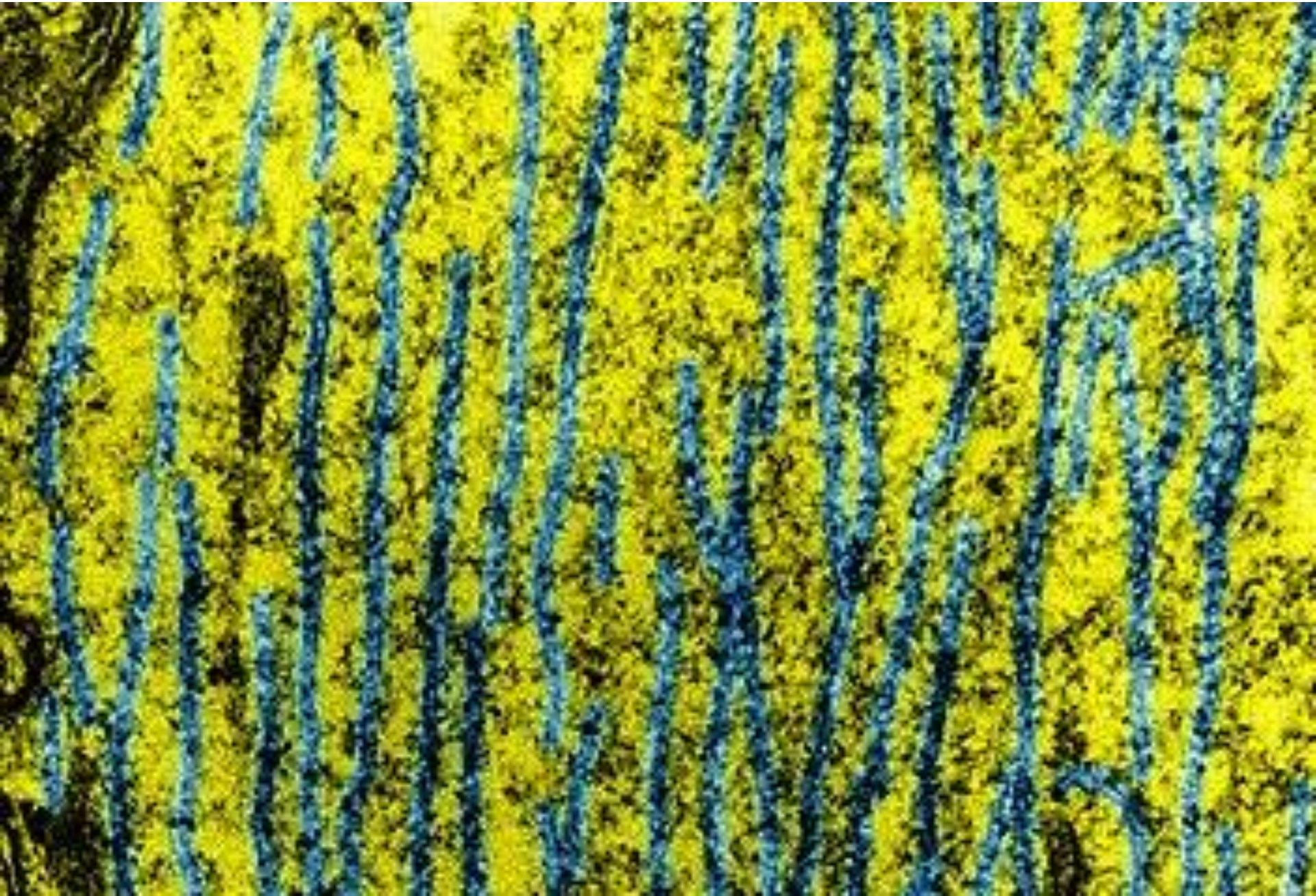




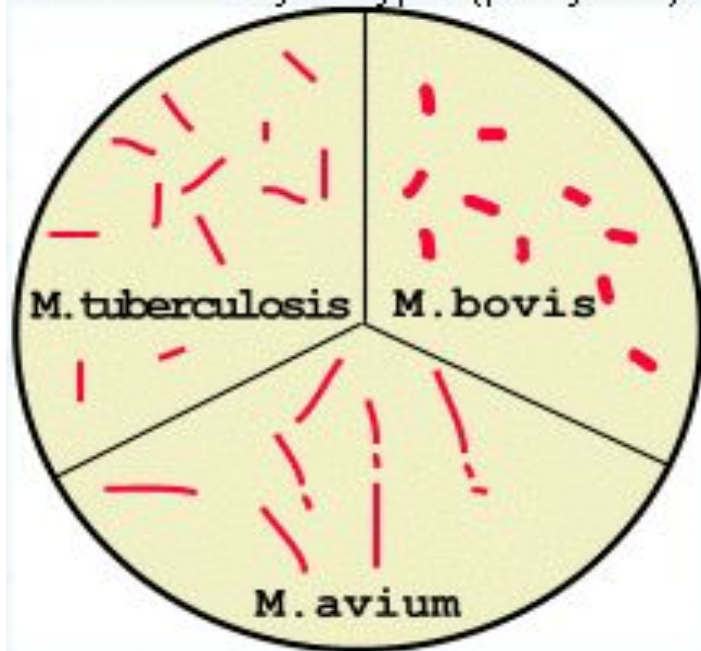
Микобактерии в патологическом материале



В клеточной стенке микобактерий до 40% липидов



Туберкулезные палочки
в чистой культуре (рисунок)



M.bovis – изогнутые или прямые короткие палочки с закругленными концами 1,5-4 мкм в длину и 0,3-0,6 мкм в ширину. Как в культуре, так и в патматериале наблюдается полиморфизм – коккоподобные и длинные формы. Оптимальная температура роста 37-38°C. Микроаэрофил.

M.avium – тонкие, изогнутые или прямые палочки с закругленными концами, в 2-3 раза длиннее других микобактерий. Не требовательна к питательным средам. Оптимальная температура роста 40°C.

M.tuberculosis – тонкие, изогнутые, прямые, короткие, длинные, ветвящиеся 1,3-6 мкм в длину и 0,2-0,6 мкм в ширину. Оптимальная температура роста 37°C. Высокоаэробна. При комнатной температуре не дает роста. Образует L-формы.

КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ

Температурный диапазон - 29-42°C (opt. 36-38°C).

Жидкие среды - среда прозрачная, на поверхности пленка.

Плотные среды – микроколонии или налет беловато-желтого цвета.

На сложных питательных средах длительный рост (длительная адаптация).

ЭЛЕКТИВНЫЕ СРЕДЫ:

Глицериновый бульон (среда Сотона);

Среда Петраньяни (молоко, картофель, яйца);

Среда Левенштайна-Йенсена (яйца, крахмал, глицерин, факторы роста);

Яичная среда Гельберга.

Культуральные свойства патогенных микобактерий

M. tuberculosis

M. bovis

M. avium

Скорость роста

30-60 /
20-30

30-60 /
20-30

15-30 /
10-20

Форма колоний

R-
сухие

R- сухие,
шероховатые

Гладкие,
мелкие

Рост на МПБ при 37-38⁰С

-

-

+

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

M. tuberculosis

M. bovis

M. avium

Рост на яичных средах при $t 45^{\circ}\text{C}$

-

-

+

Патогенность для морских свинок

генерализо-
ван tub

генерализо-
ван tub

-

Патогенность для кроликов

локальный
tub

генерализо-
ван tub

tub сепсис

Патогенность для кур

-

-

генерализо-
ван tub

Выращивание микобактерий в среде Сотона



M. tuberculosis

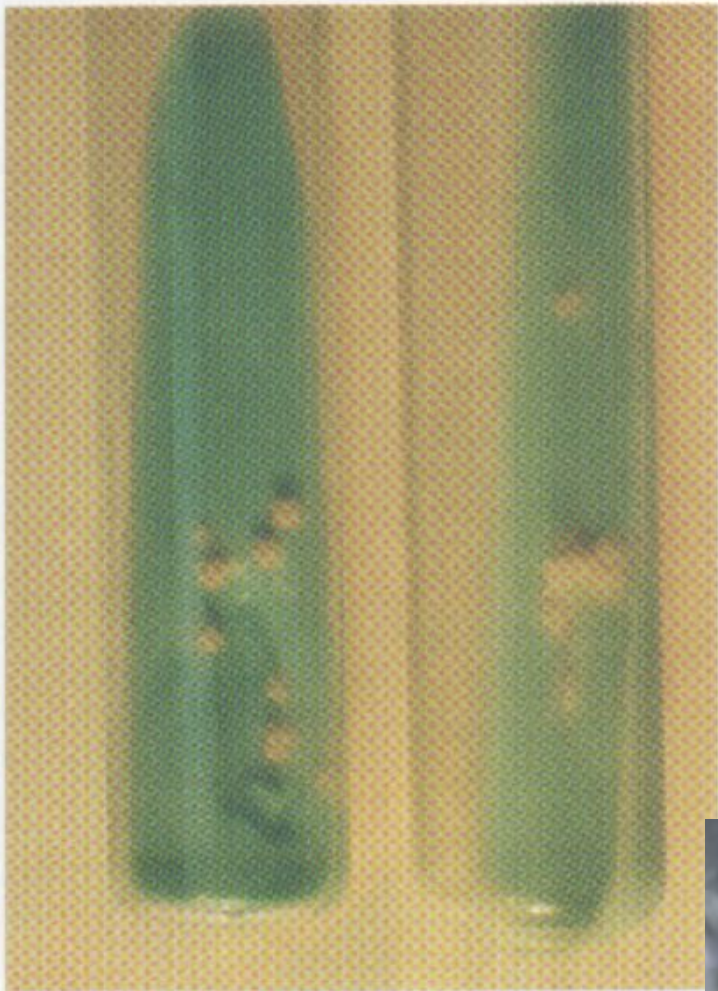
M. bovis

M. avium

**Рост патогенных микобактерий на среде
Петраньяни**



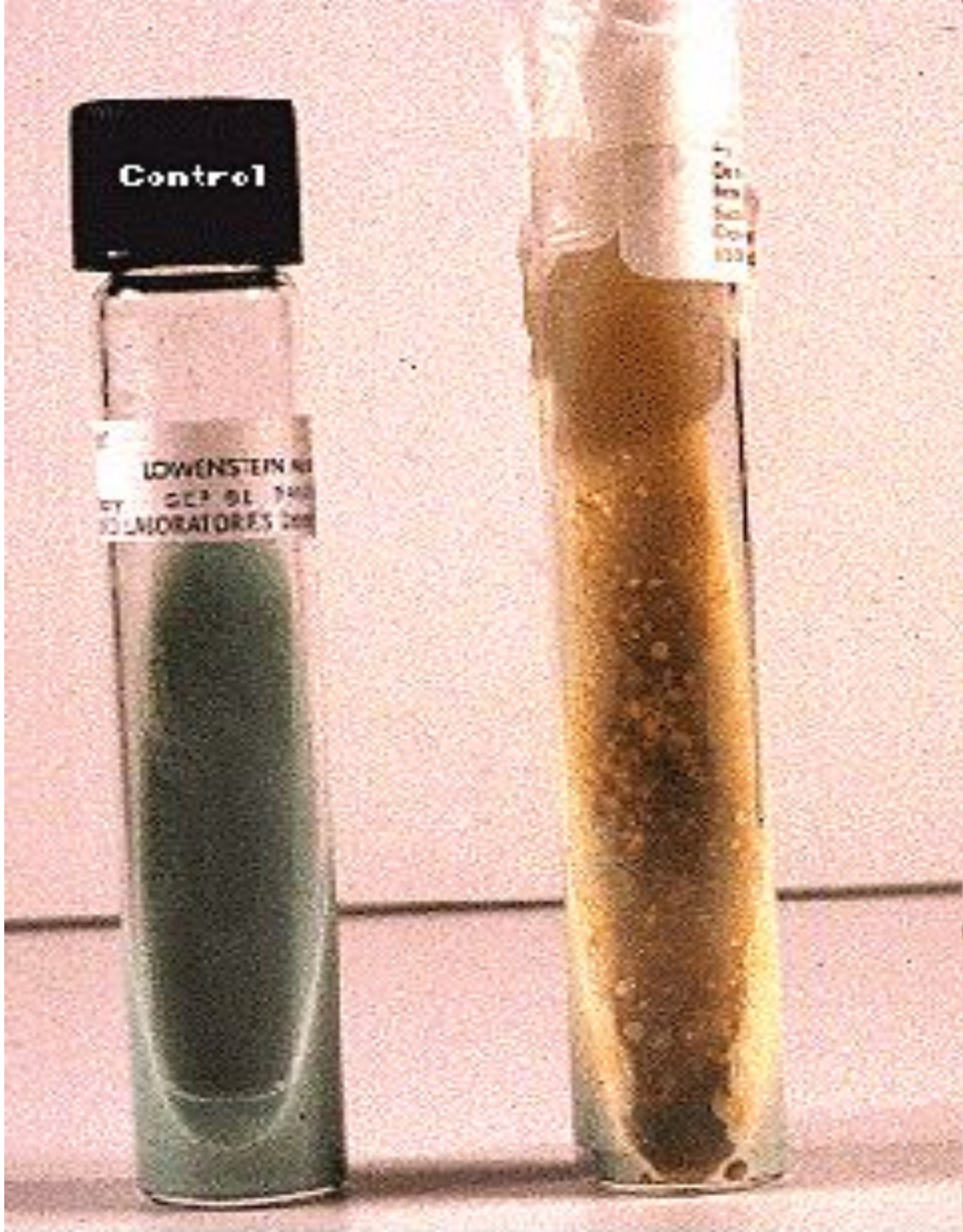
**Рост патогенных
микобактерий на среде
Левенштайна-Йенсена**





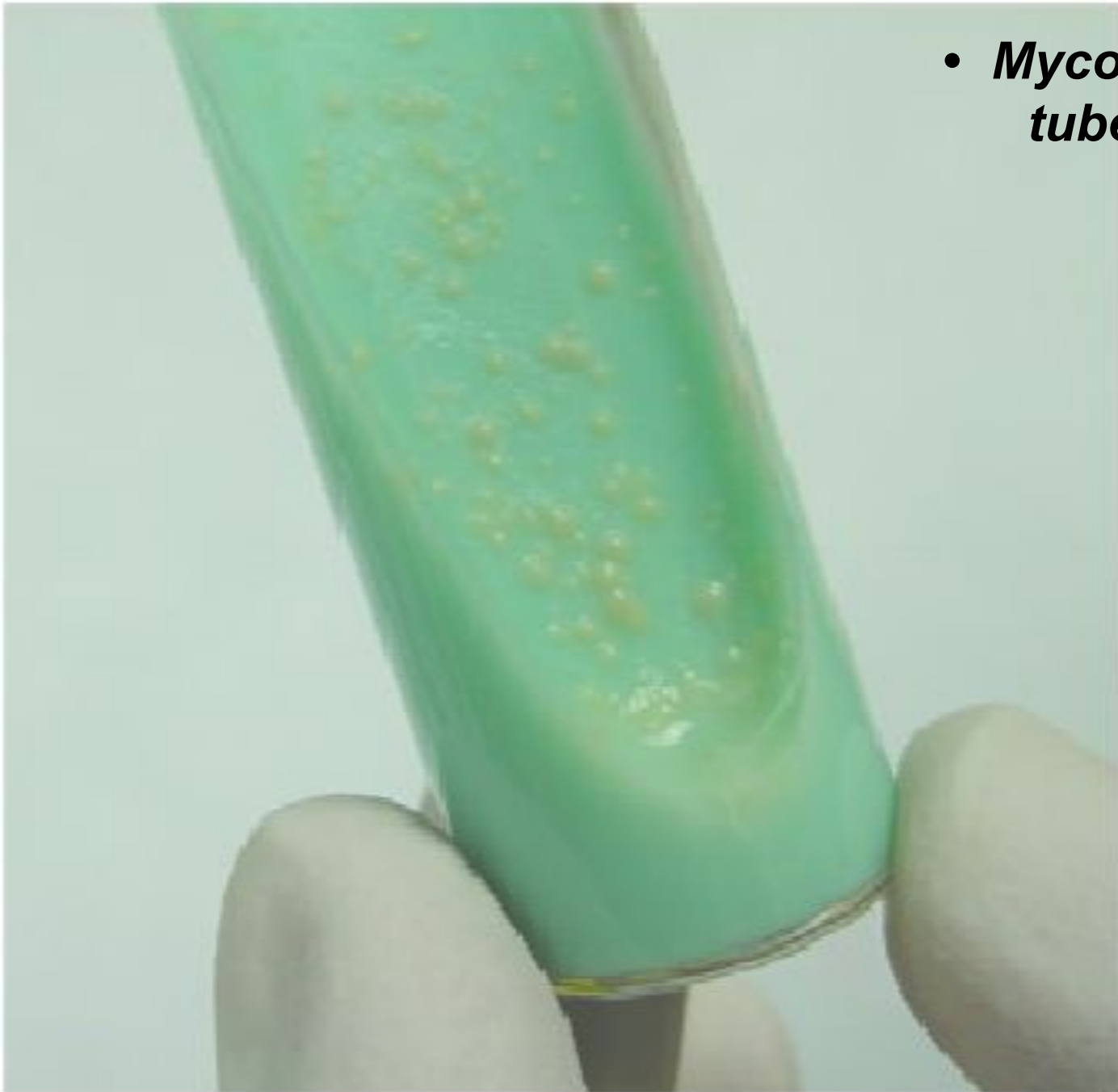
Колонии микобактерий на среде Левенштайна-Йенсена





- ***Mycobacterium tuberculosis***

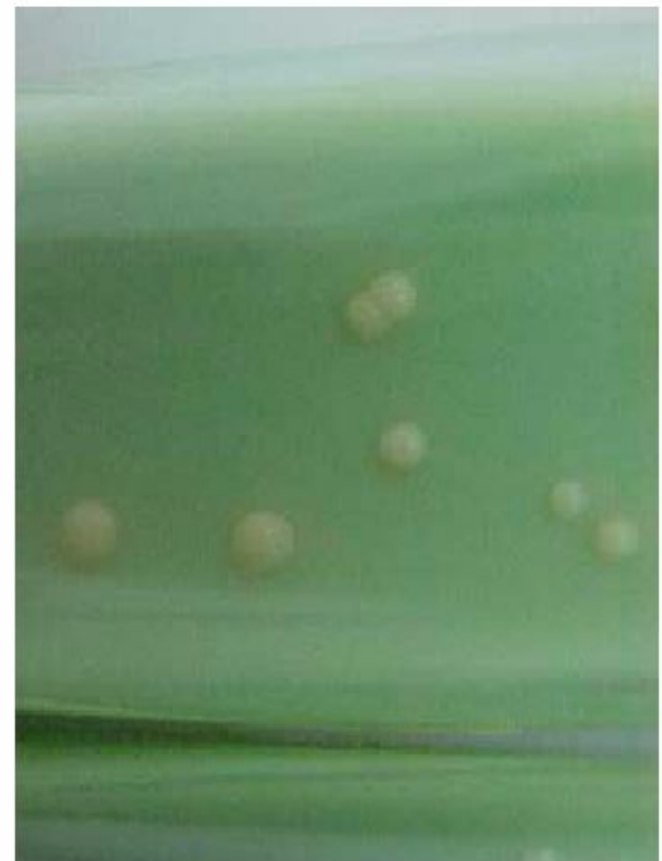
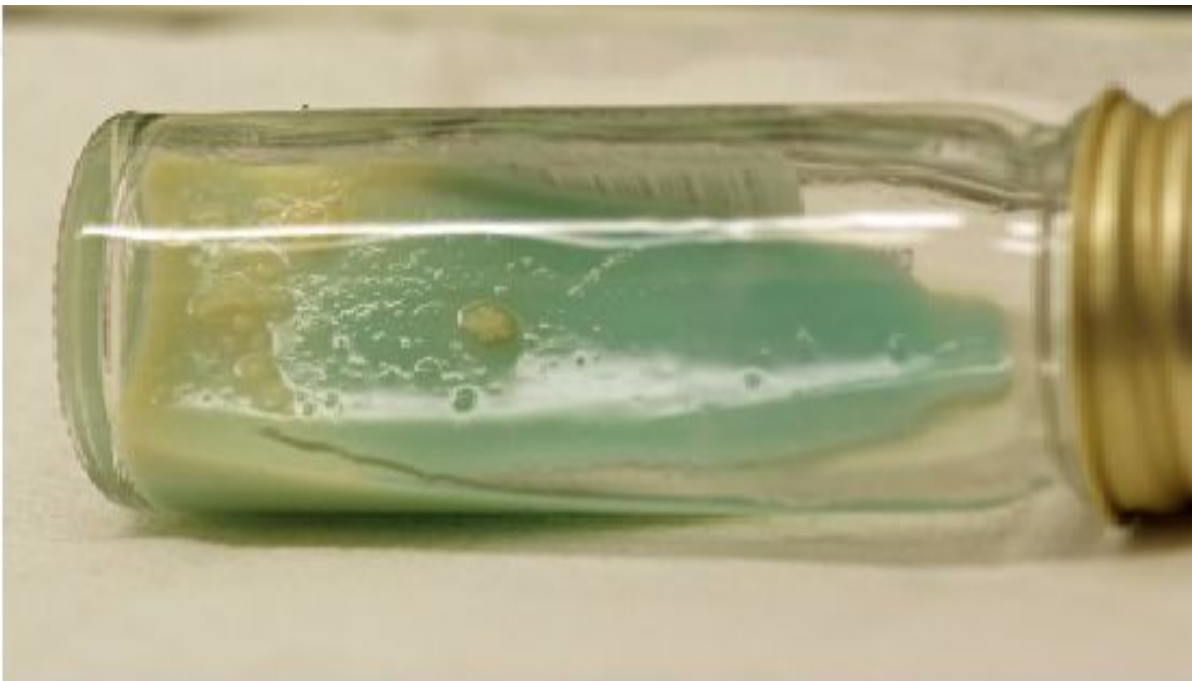
- ***Mycobacterium tuberculosis***

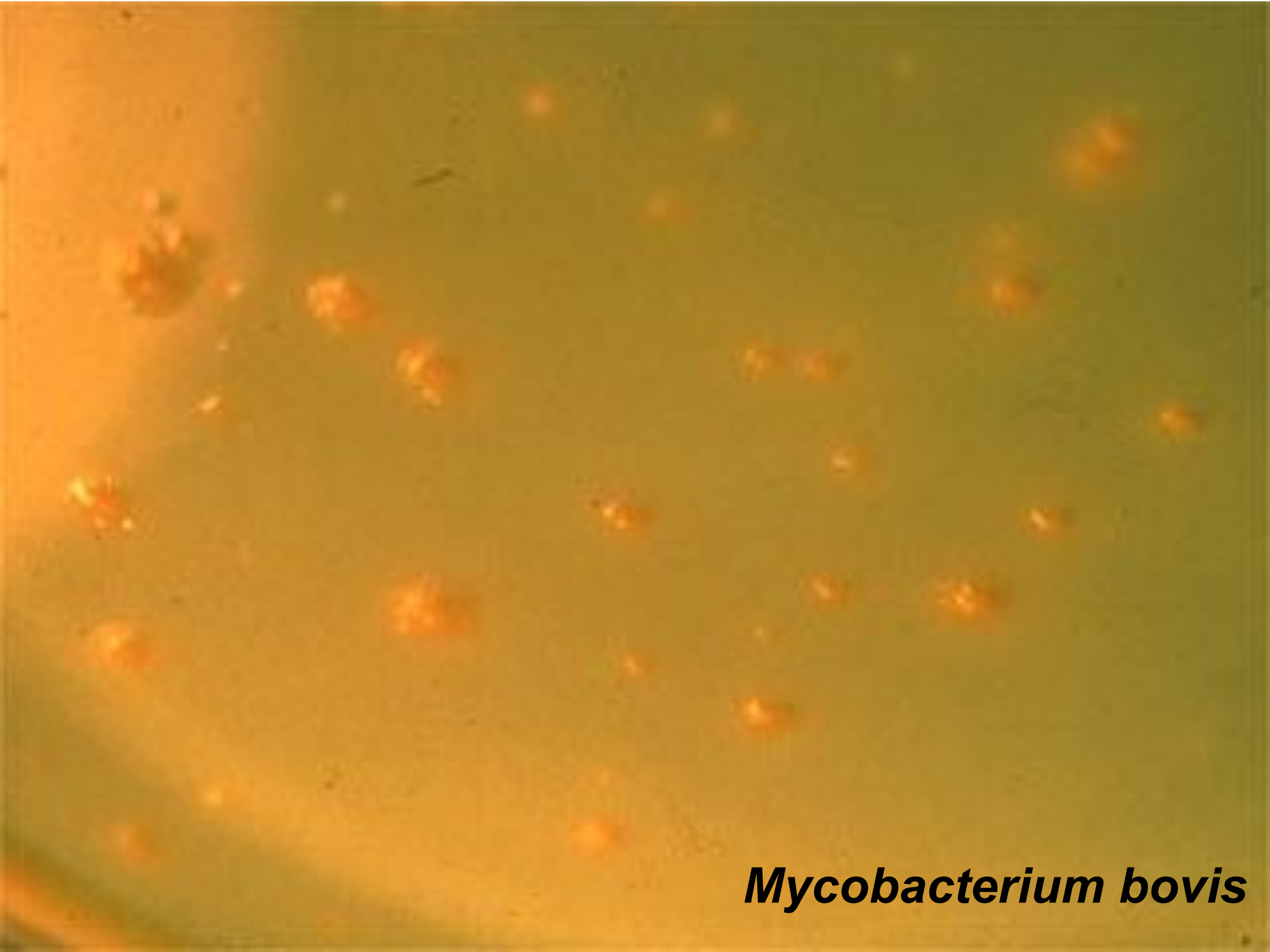




- *Mycobacterium avium*

**M. bovis на среде
Левенштейна-Иенсена**





Mycobacterium bovis



M. bovis

M. bovis





Микроколонии микобактерий на плотной питательной среде



Биохимические признаки микобактерий

Активность	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i>

* (+/-) – варьирующий признак

Антигенная структура микобактерий

У человеческого вида – 17 антигенов, у бычьего вида – 20 антигенов, у птичьего вида – 10 антигенов, у атипичных микобактерий – 8-10 антигенов.

Сложные антигены

А_с клеточной стенки

А_с цитоплазмы

А_с рибосом

ОБЩИЕ (МЕЖРОДОВЫЕ)

термостабильный

устойчив к протеазам

СПЕЦИФИЧЕСКИЙ

протективные **MPB 83**

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

ЭНДОТОКСИНЫ

КОРД-ФАКТОР (микрокапсула)

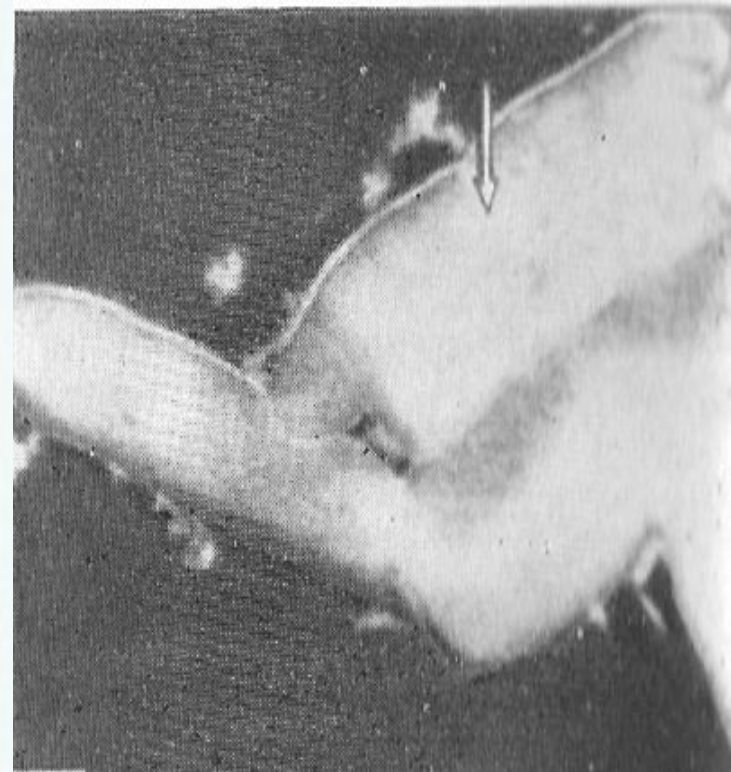
нарушает митохондрии (функция дыхания клетки)

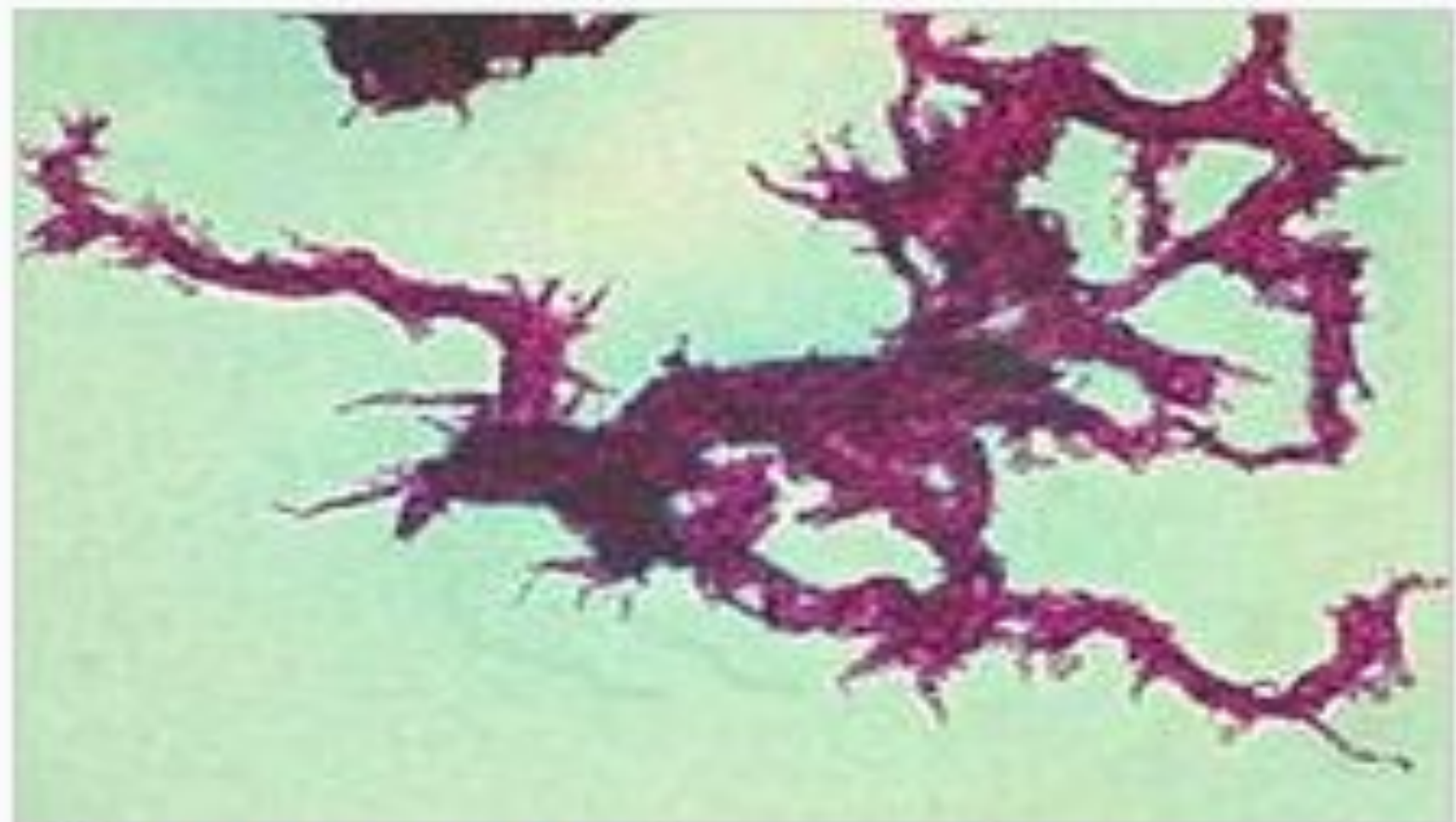
ЛИПИДЫ

Воск Д фтионовые к-ты МУРАМИДИПЕПТИДОН
сульфатиды

гибель макрофагов, пролиферация гистиоцитов,
трансформация их в эпителиоидные и гигантские

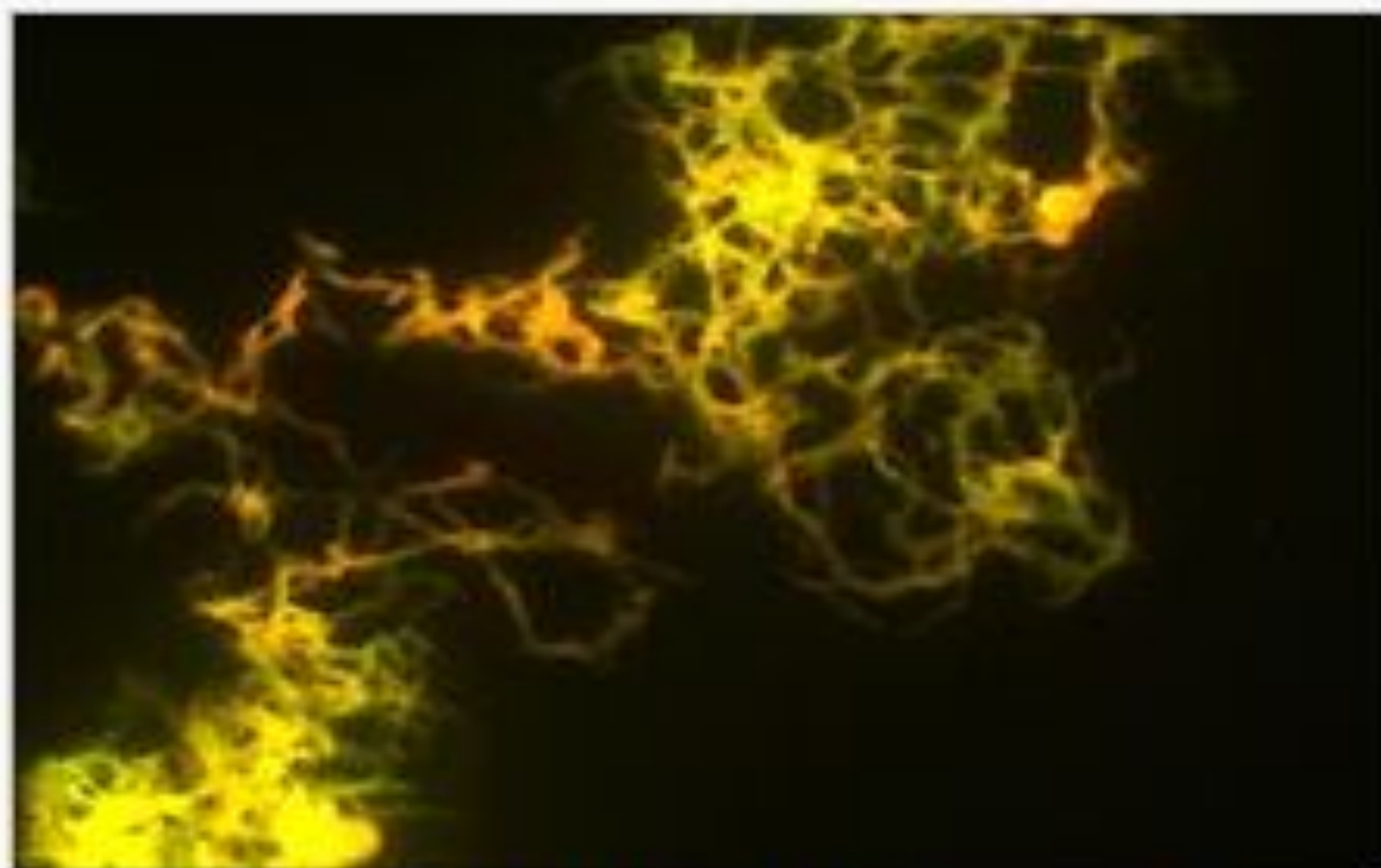
Корд-фактор **M.tuberculosis**: палочки,
расположены
в виде "косы", жгутов





Проявление корд-фактора (рост колонии МБТ, напоминающий мицелий грибницы)

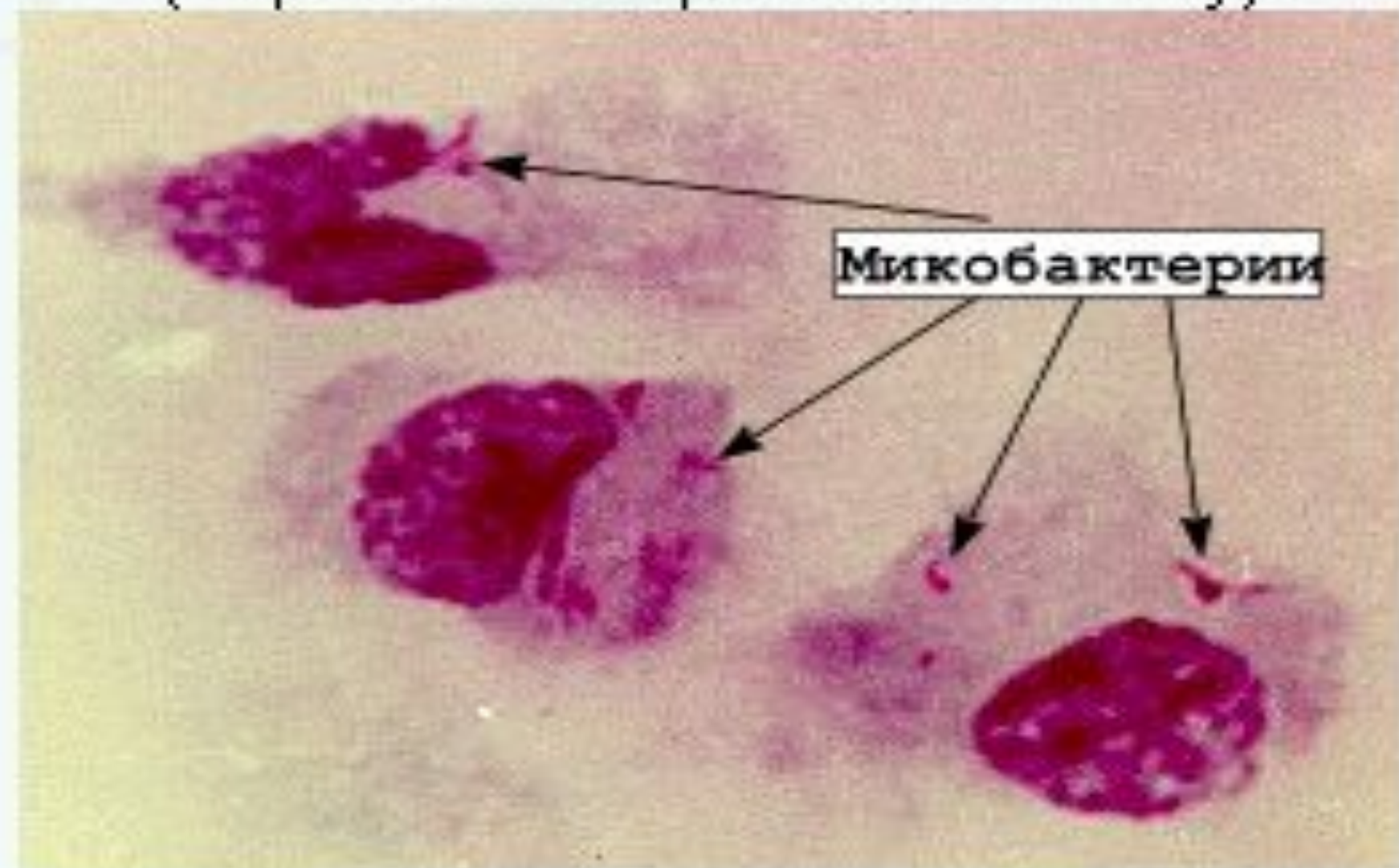


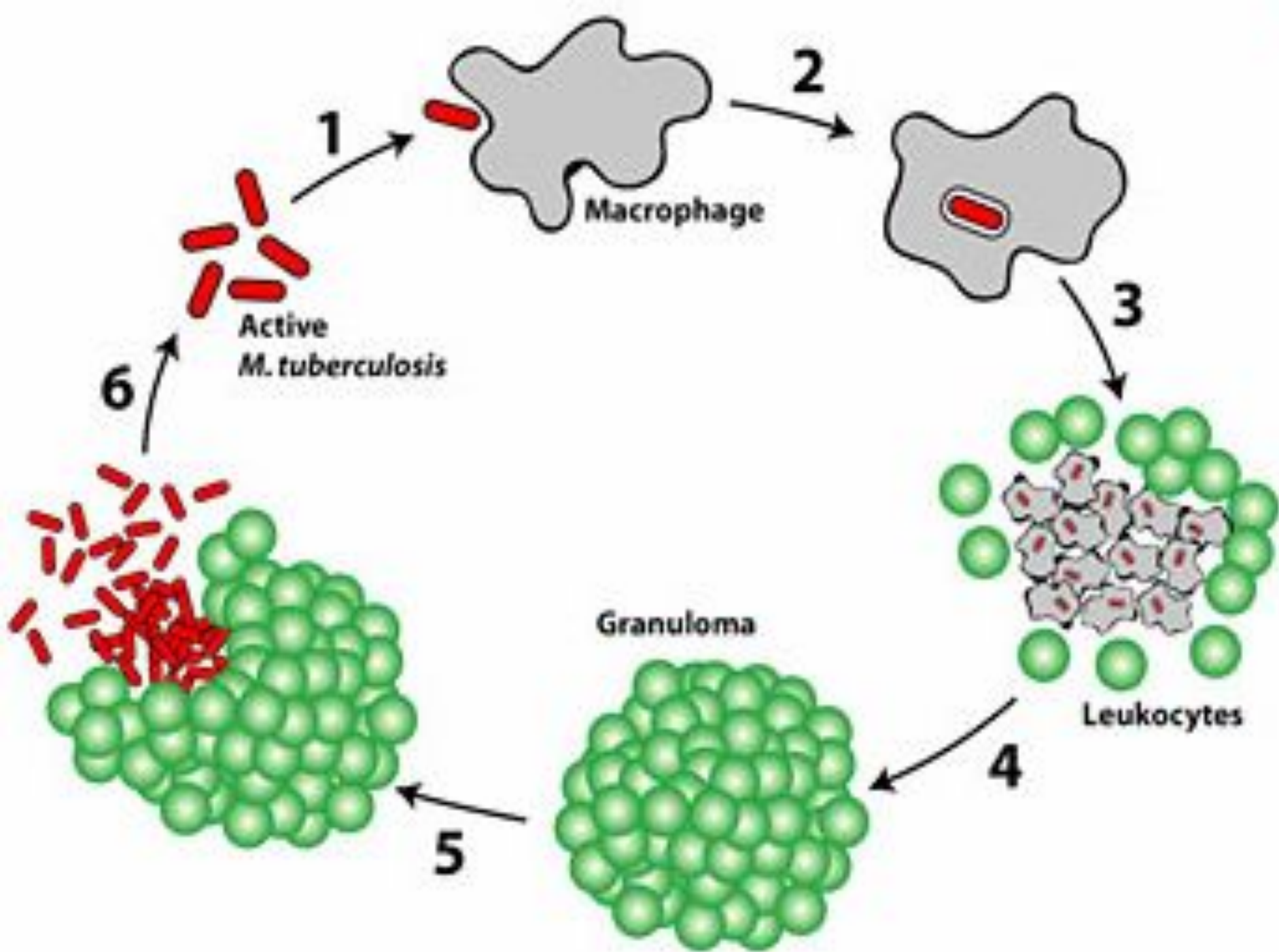


Корд-фактор при люминисцентной
микроскопии



Незавершенный фагоцитоз
микобактерий
(окраска по Цилю-Нельсену)



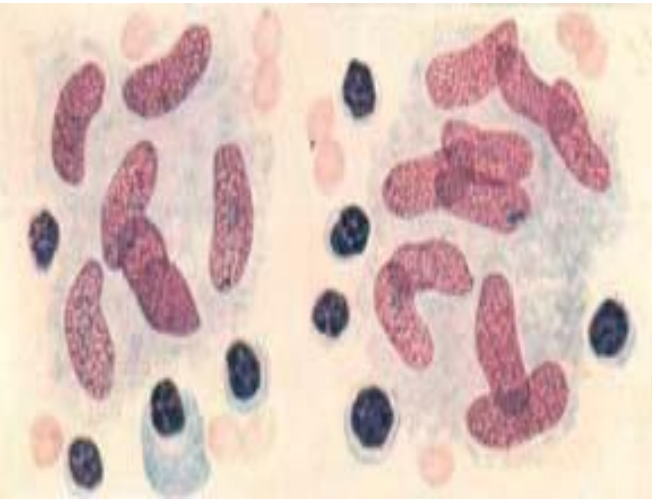


Патогенность микобактерий для лабораторных животных

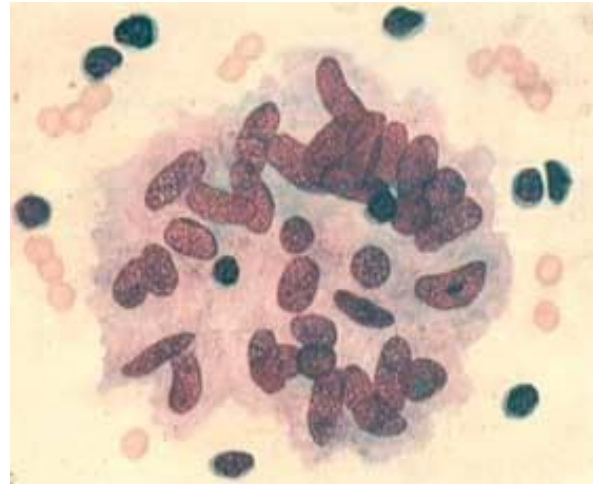
Вид микобактерий	Морская свинка	Кролик	Куры

Развитие инфекционной гранулемы

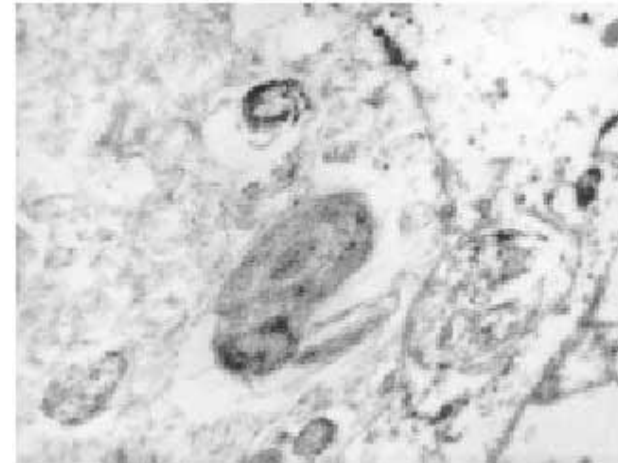
Клетки, являющиеся результатом защитной реакции организма на внедрение туберкулёзной палочки



**эпителиоидные
клетки**



Гигантские клетки



ИДЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР

УЧИТЫВАЮТ:

**СКОРОСТЬ ПОЯВЛЕНИЯ
ПЕРВИЧНОГО РОСТА**

**Культ урально-морфологические
и типологические свойства**

**Способность к росту при
различных температурных
режимах**

**Патогенность для
лабораторных животных**

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ОТ АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ

АТИПИЧНЫЕ

ПАТОГЕННЫЕ

Скорост ь р о с т а

**15-30 /
10-20**

**3-10 /
3-10**

**30-60 /
20-30**

**15-30 /
10-20**

ПИГМЕНТО ОБРАЗОВАНИЕ

+

-

ПАТОГЕННОСТЬ для лаб. жив.

-

+

ИЗМЕНЧИВОСТЬ

L-ФОРМЫ

стабильные

нестабильные

**ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ
ФОРМЫ**

мелкие размеры

слабовирулентны

способны к реверсии (при пассажах на морских свинках)

**ЛЕКАРСТВЕННО-
УСТОЙЧИВЫЕ ФОРМЫ**

**изменение культуральных
свойств**

трудно диагностировать, не выявляются при аллергических исследованиях

L - ФОРМЫ

Понижение метаболизма

Слабовирулентны

Быстро разрушаются во внешней среде

Трудно обнаружить бактериоскопически

Вызывают латентные формы болезни

стабильные

нестабильные

-

ВИРУЛЕНТНОСТЬ

+

-

**ПАТОГЕННОСТЬ ДЛЯ
МОРСКИХ СВИНОК**

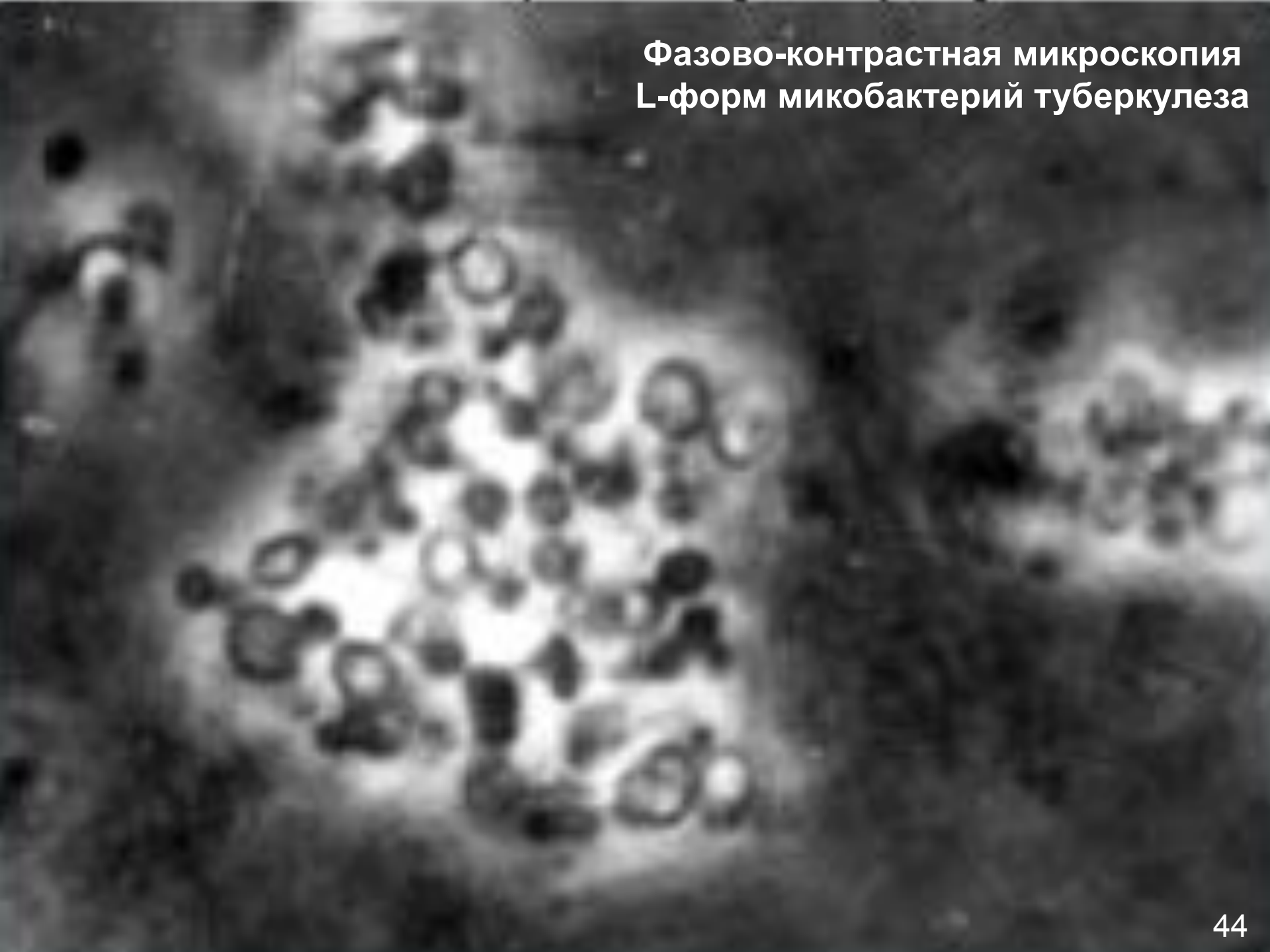
+

**В
неактивных
tub очагах**

**Обнаруживаются в
организме**

**В АКТИВНЫХ
tub очагах**

Фазово-контрастная микроскопия
L-форм микобактерий туберкулеза



УСТОЙЧИВОСТЬ

t

70⁰С - через
20мин

кипячение - 1-3 мин

РЕЖИМ
ПАСТЕРИЗАЦИИ

65⁰С - 30 мин

высушивание

в высохшей мокроте -
до 3 мес.

гниение

в подстилочном
навозе - 7 мес

в жидком навозе -
более 1 год

**прямые
солнечные лучи**

гибель через 60 мин

**молочные
продукты**

в масле при 4⁰С до 300дней

в сыре - до 260дней

в молоке-14 дн

УСТОЙЧИВОСТЬ

в яице

сваренные всмятку M.avium не теряет вирулентность

в замороженном мясе

до одного года

к дез. веществам

УСТОЙЧИВ, требуется большие дозы и длительная экспозиция

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

ТУБЕРКУЛИНОВАЯ
ПРОБА

РГЗТ

ЛАБОРАТОРНОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ

микроскопия

люминесцентная микроскопия

выделение культуры на спец.

питательные среды

идентификация культур

биопроба

Лабораторные методы диагностики туберкулеза

Биологические

Заражение лабораторных животных (биопроба на морских свинках, кроликах и курах)

Серологические

Иммуноферментный анализ (ИФА), РИФ, РСК с туберкулезным антигеном, РА, РПГА, агрегатагглютинация, применение моноклональных антител

Молекулярно-генетические

Полимеразная цепная реакция (ПЦР), лигазная цепная реакция (ЛЦР)

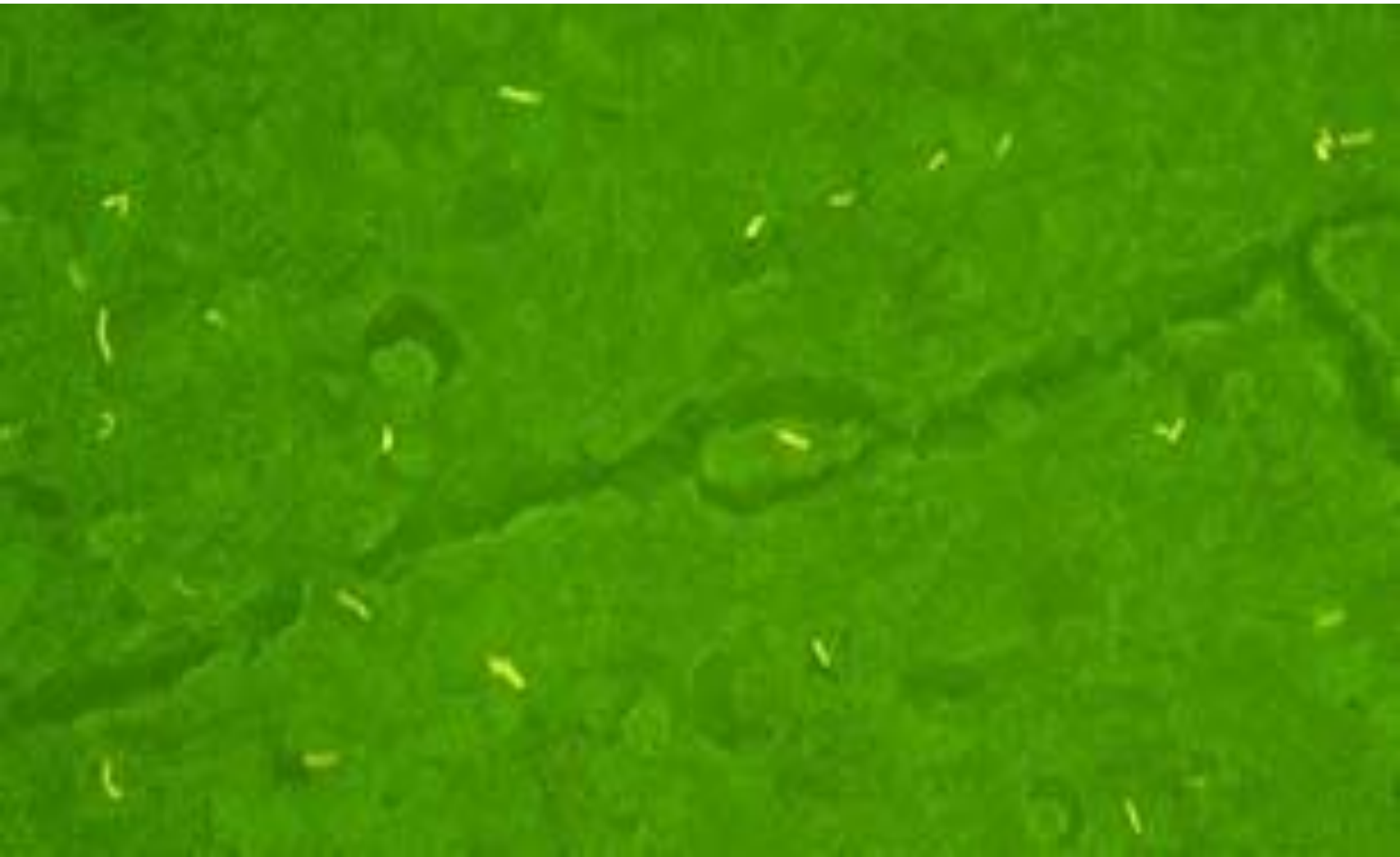
Микробиологические

Бактериоскопические

Окраска по Циль-Нильсену, окраска флуорохромом

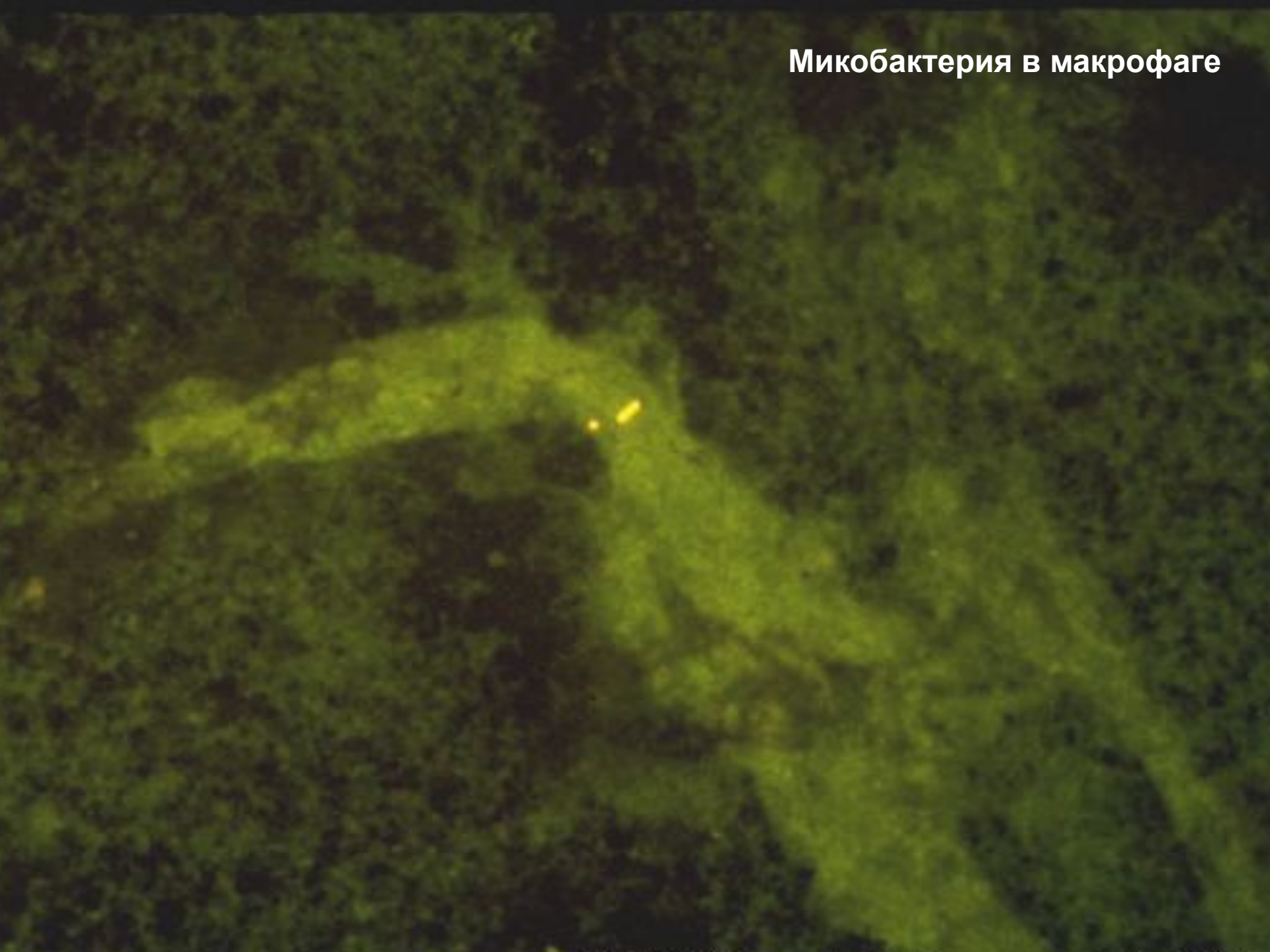
Культуральные

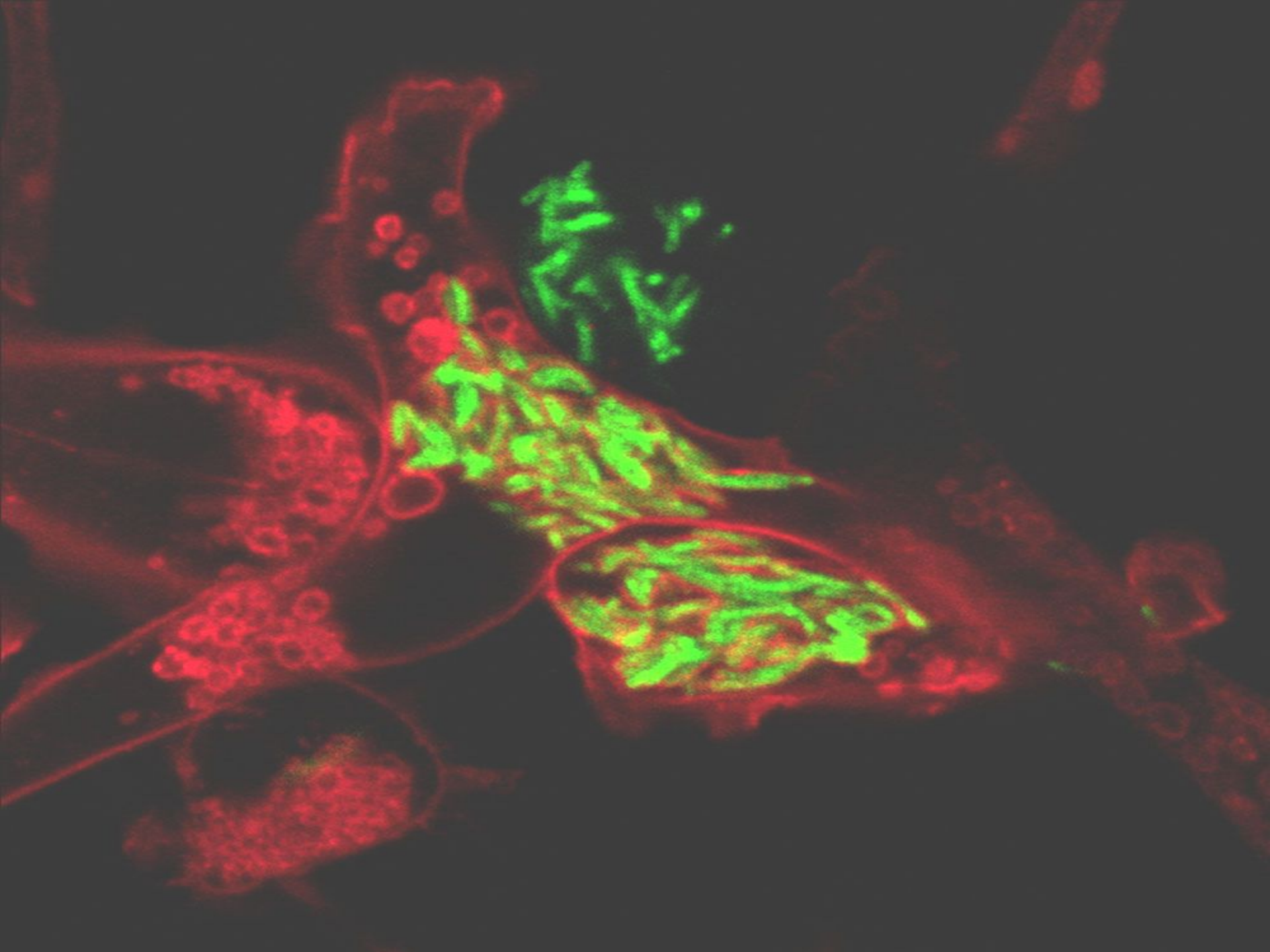
Посевы на плотные и жидкие питательные среды



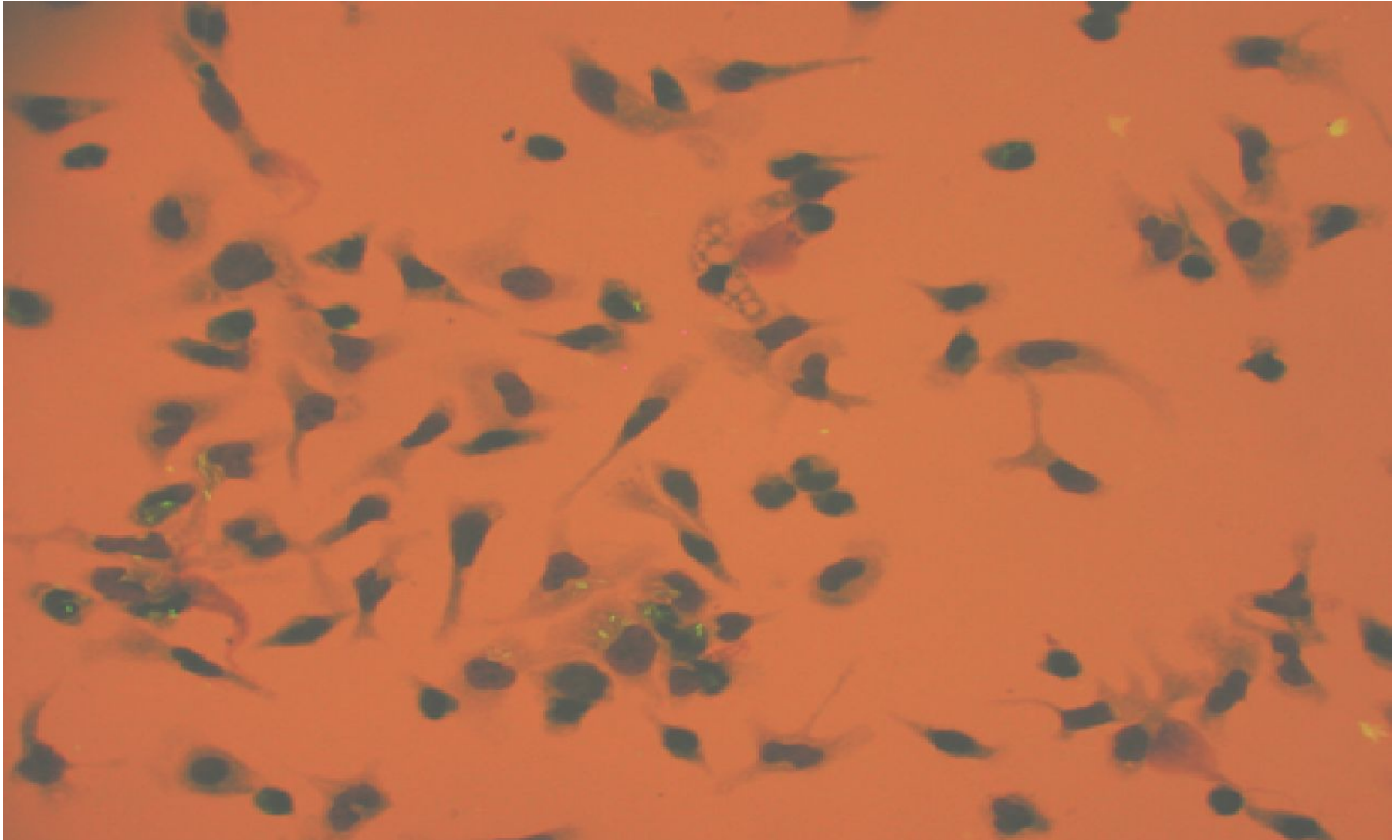
Микобактерии окрашены аурамином и при исследовании в ультрафиолетовых лучах люминесцентного микроскопа выглядят светящимися жёлтыми палочками

Микобактерия в макрофаге



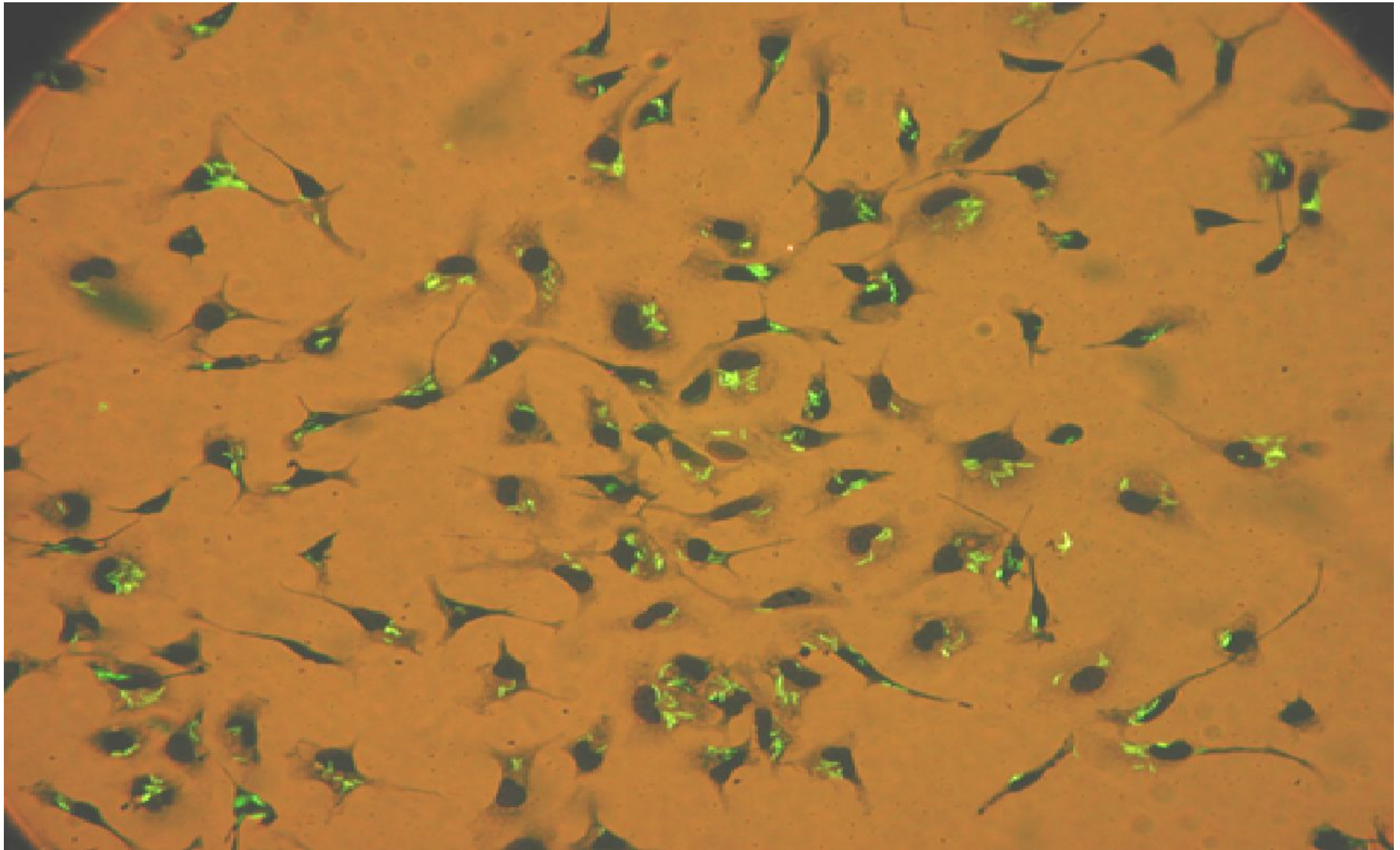


Размножение микобактерий туберкулеза в перитонеальных макрофагах



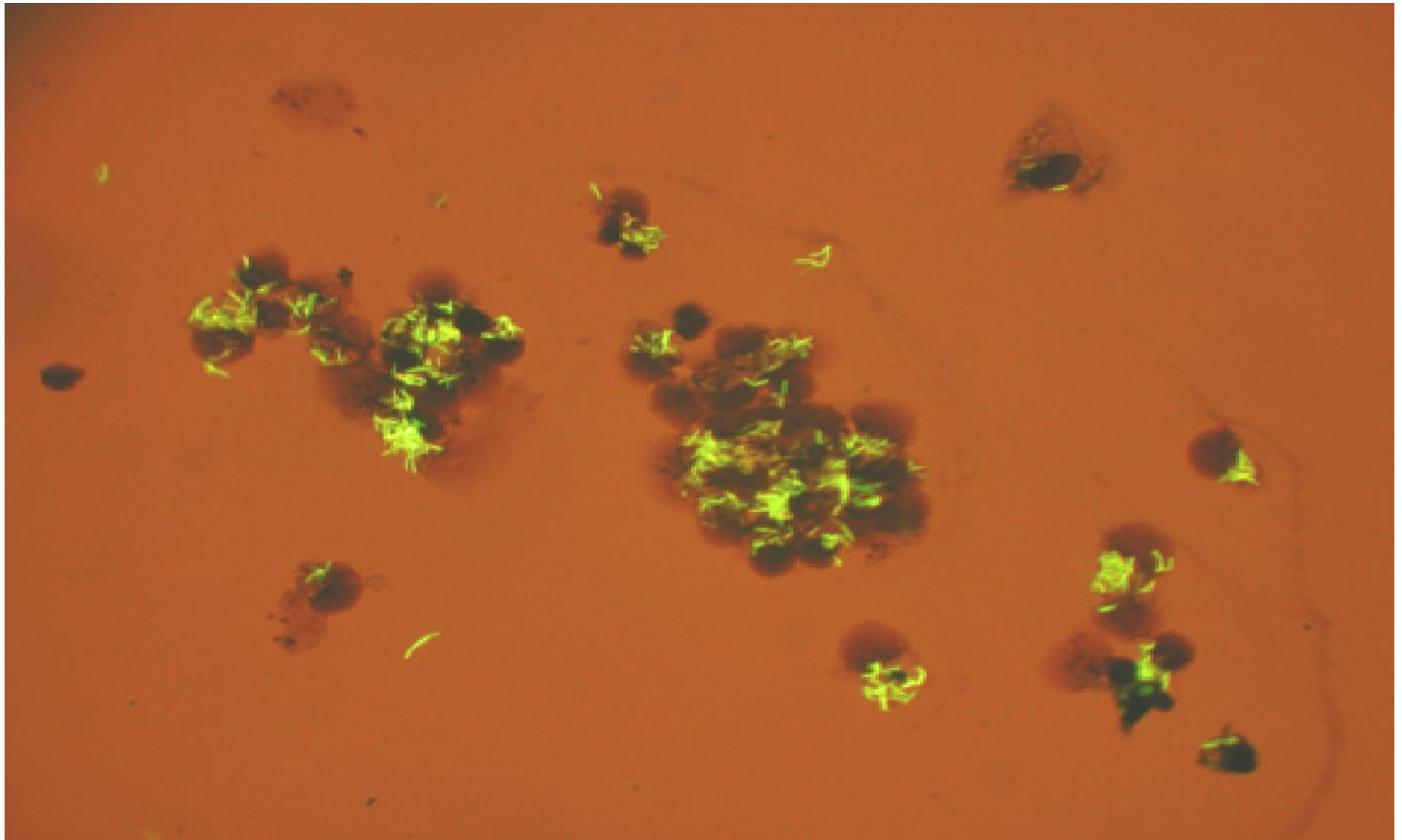
а) через 7 часов культивирования

Размножение микобактерий туберкулеза в перитонеальных макрофагах

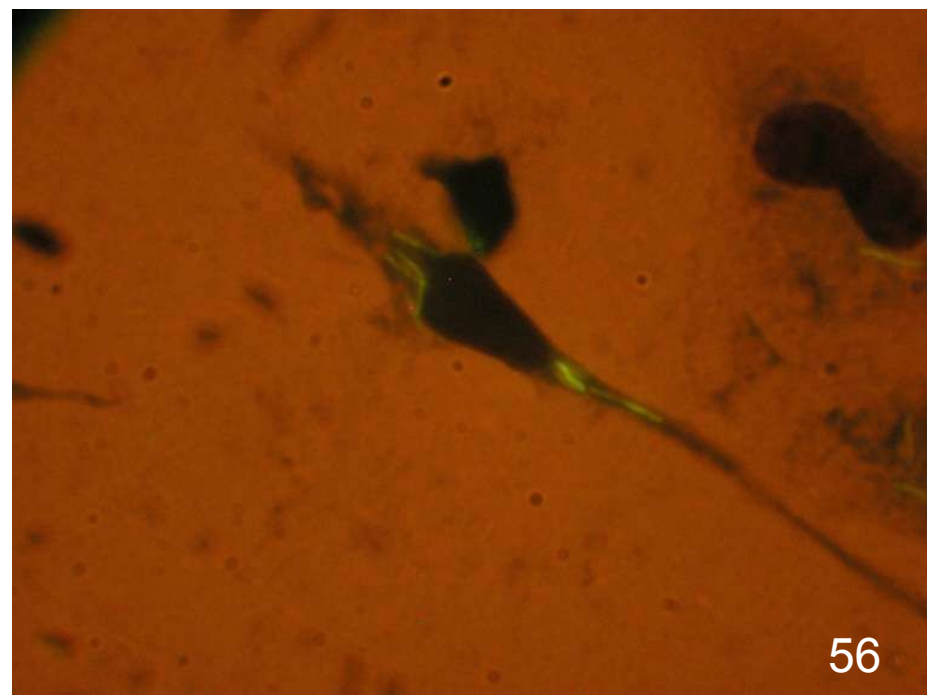
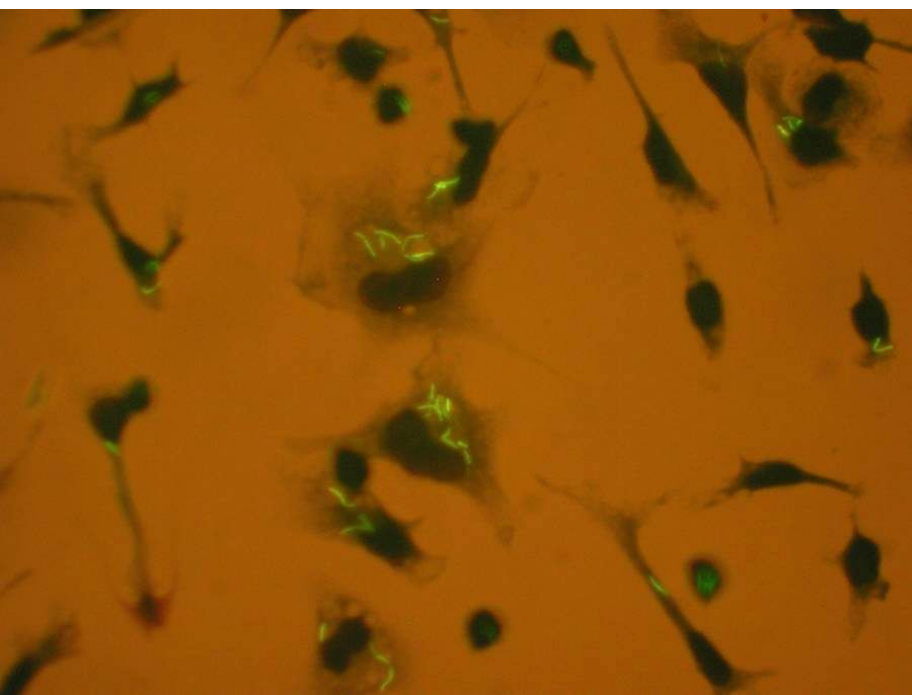
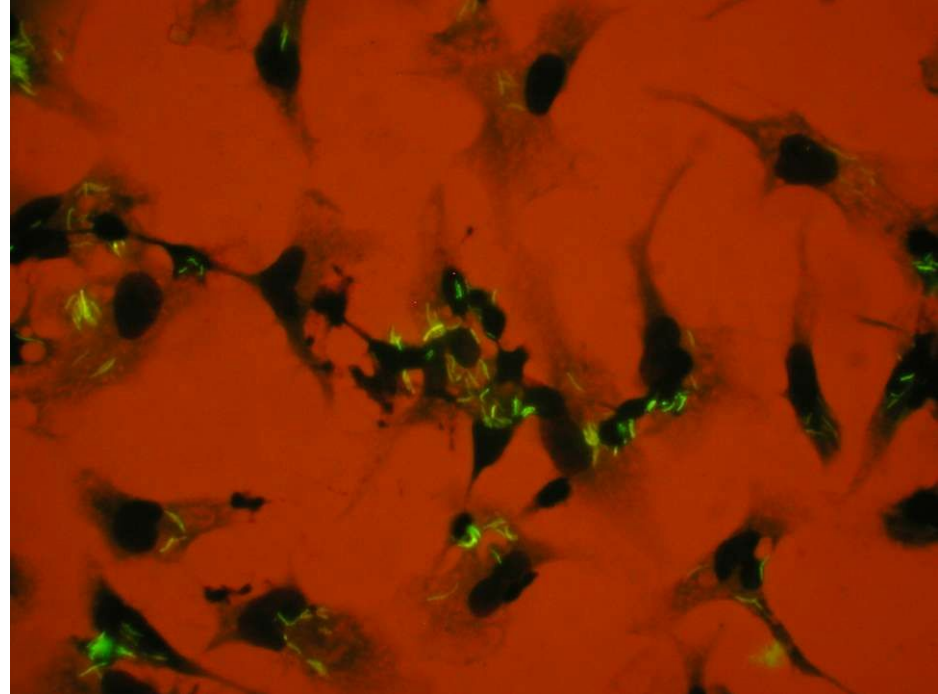
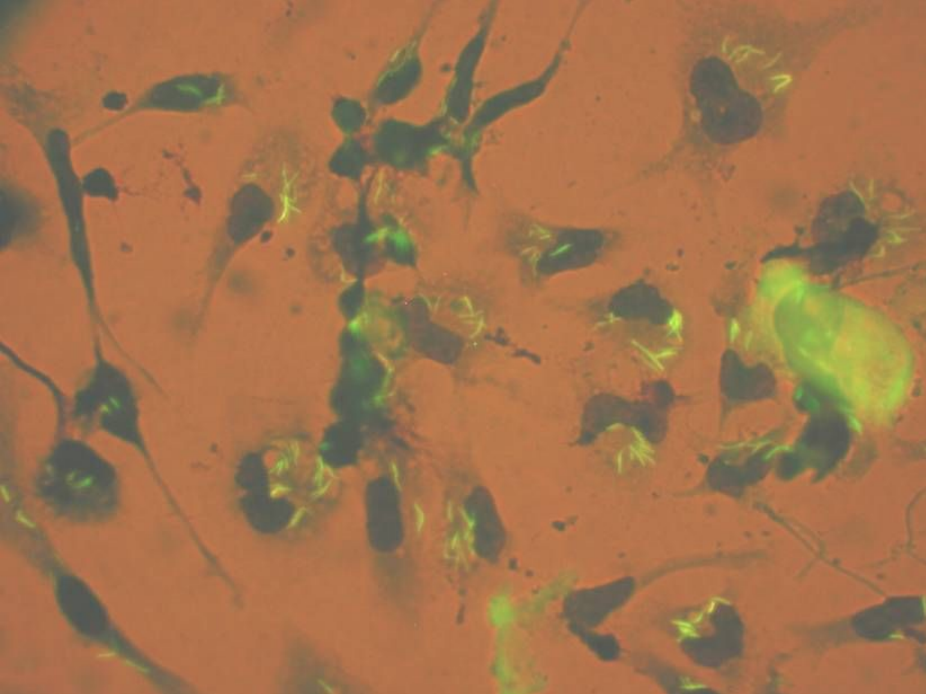


в) через 25 часов культивирования

Размножение микобактерий туберкулеза в перитонеальных макрофагах



через 48 часов культивирования



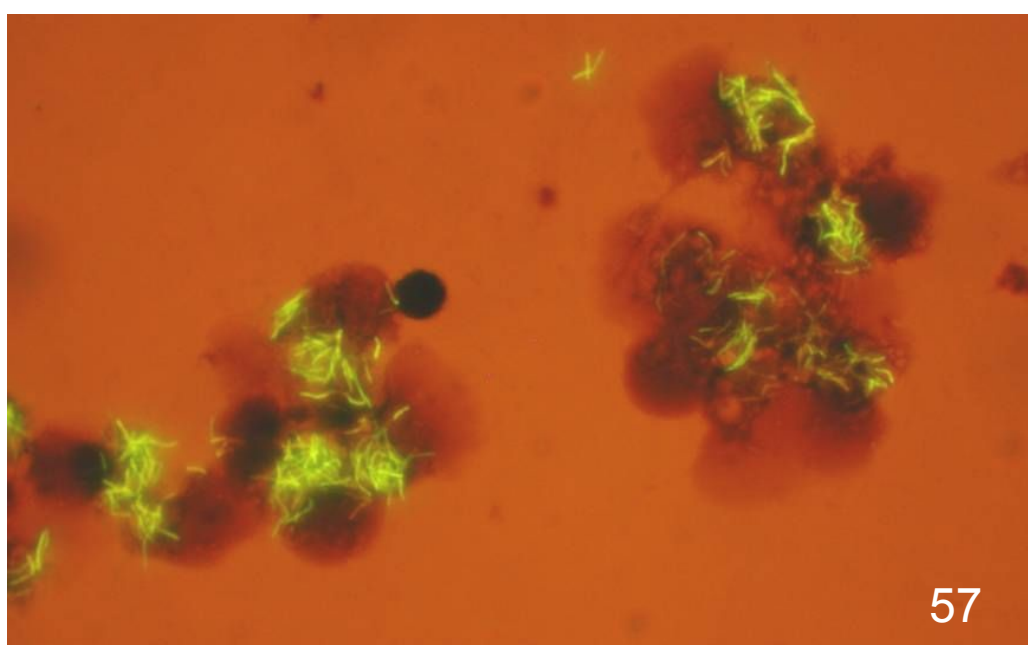
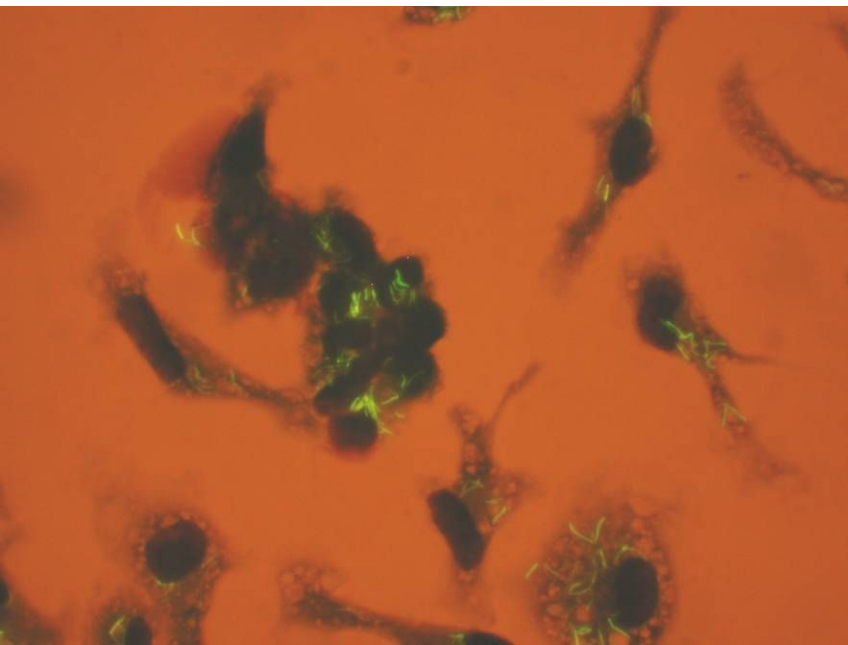
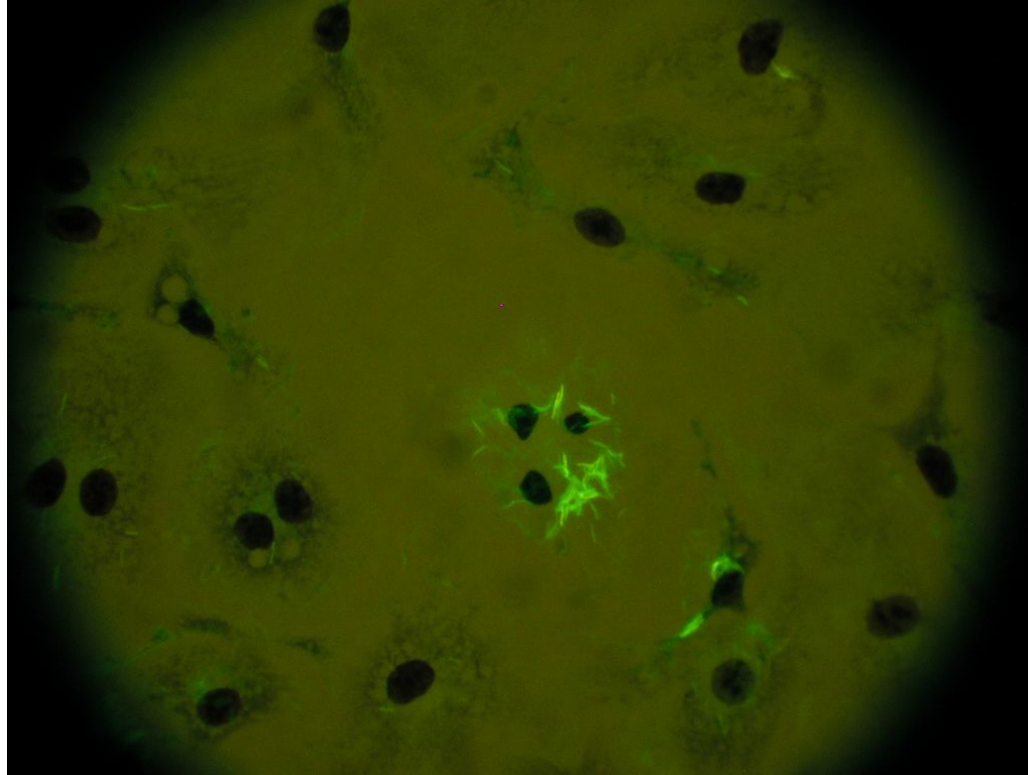
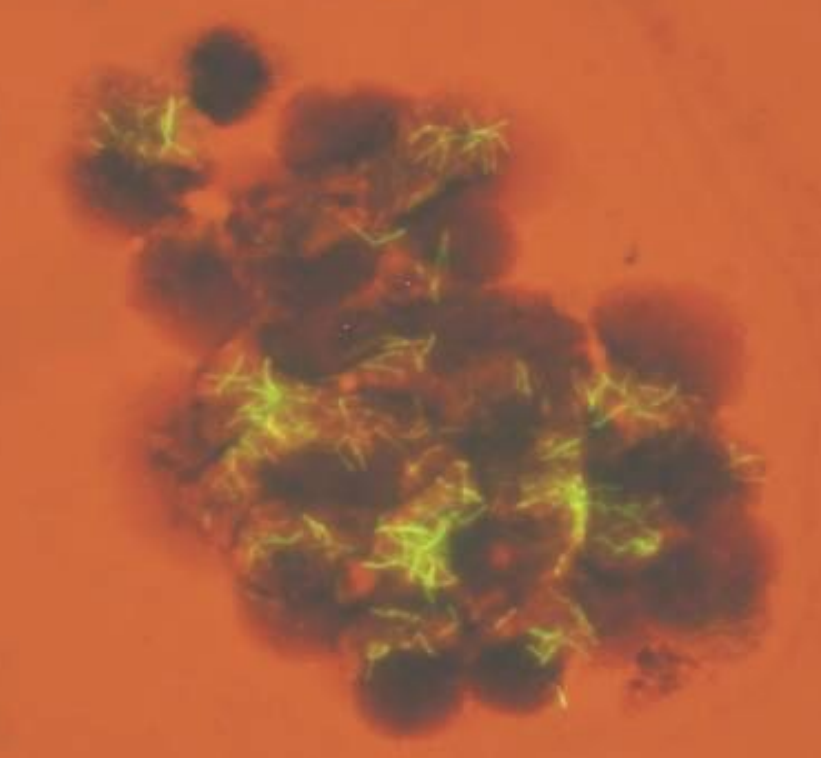
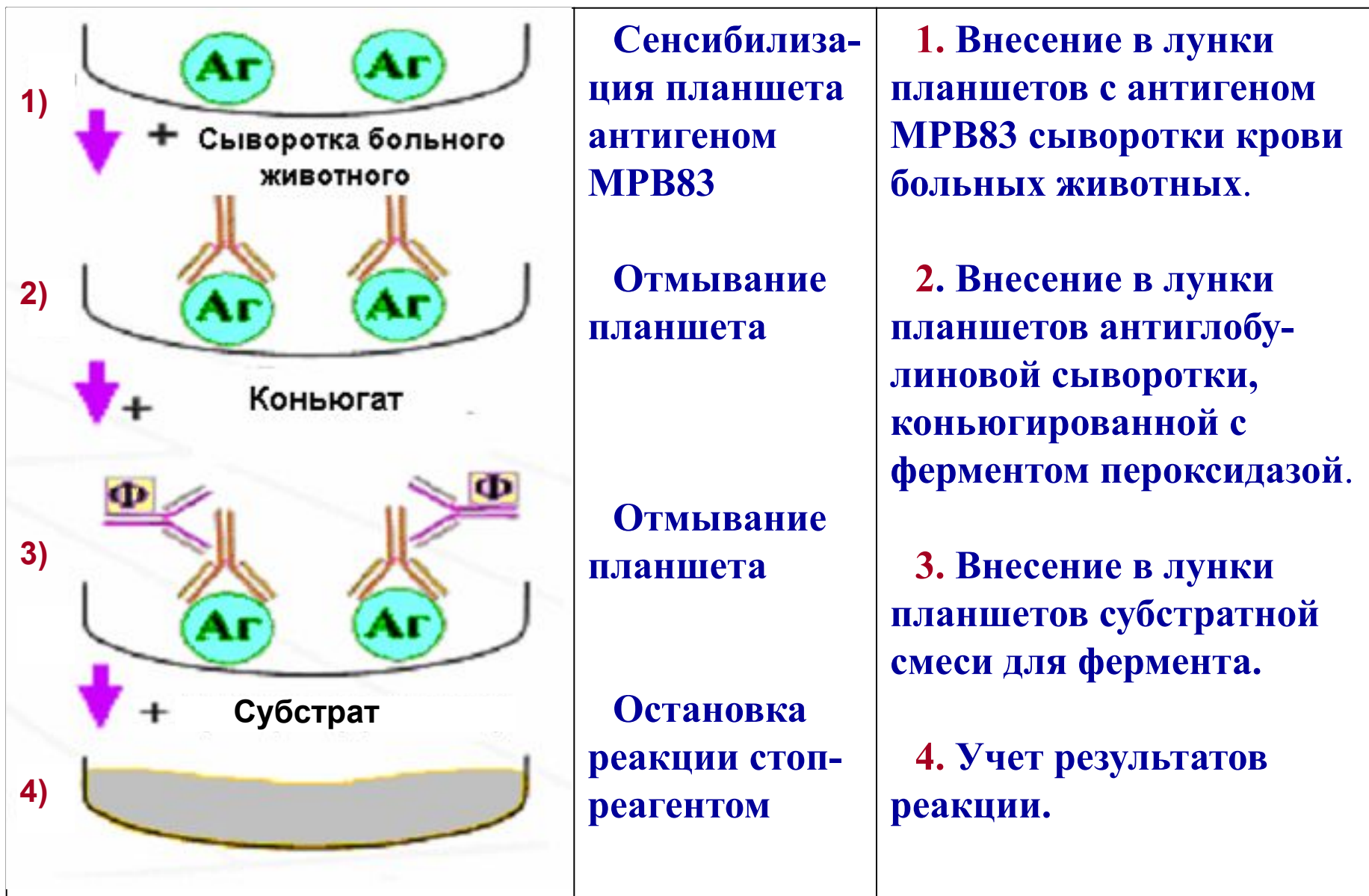


Схема постановки ИФА





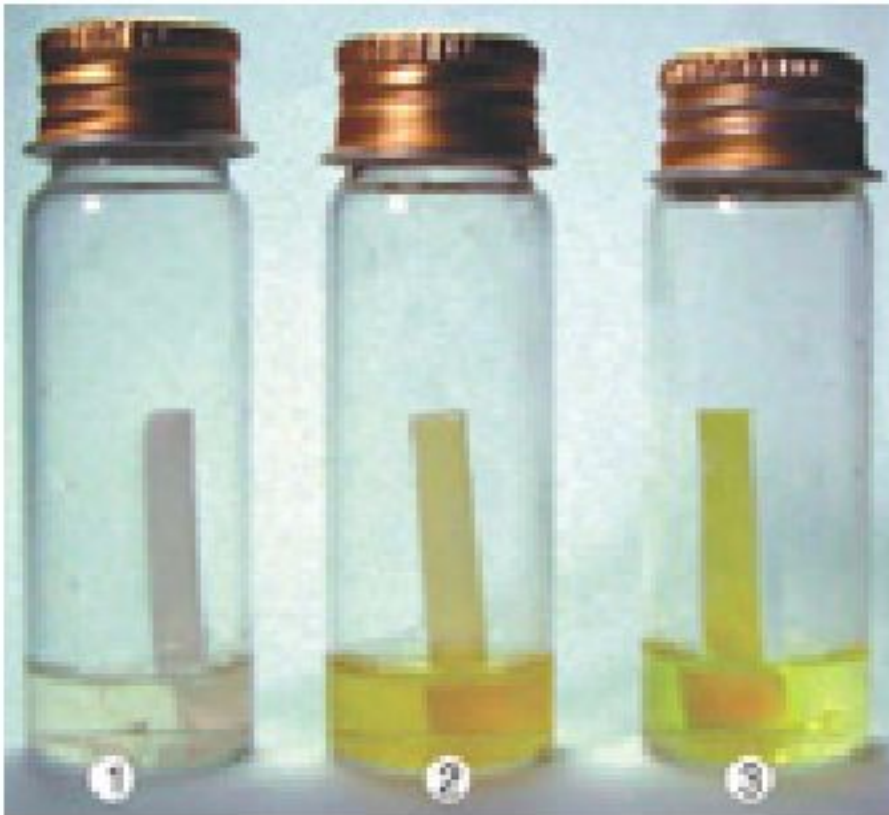
ТЕСТ-СИСТЕМА

ДЛЯ ИНДИКАЦИИ
И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ
M. bovis и *M. tuberculosis*
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ
ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)

СЕРТИФИКАЦИЯ

Дифференциация возбудителей туберкулеза

1. Ниациновый тест (синтез никотиновой кислоты)



Niacin Detection Test Kit
(набор для ниацинового теста):

- 1 - отрицательный контроль;
- 2 - тестируемая культура;
- 3 - положительный контроль

Дифференциация возбудителей туберкулеза

2. Редукция нитратов



Nitrate Reduction Test Kit
(набор для нитратредуктазного теста):
слева - положительная реакция,
справа - отрицательная

Дифференциация возбудителей туберкулеза

3. Наличие пиразинамидазы

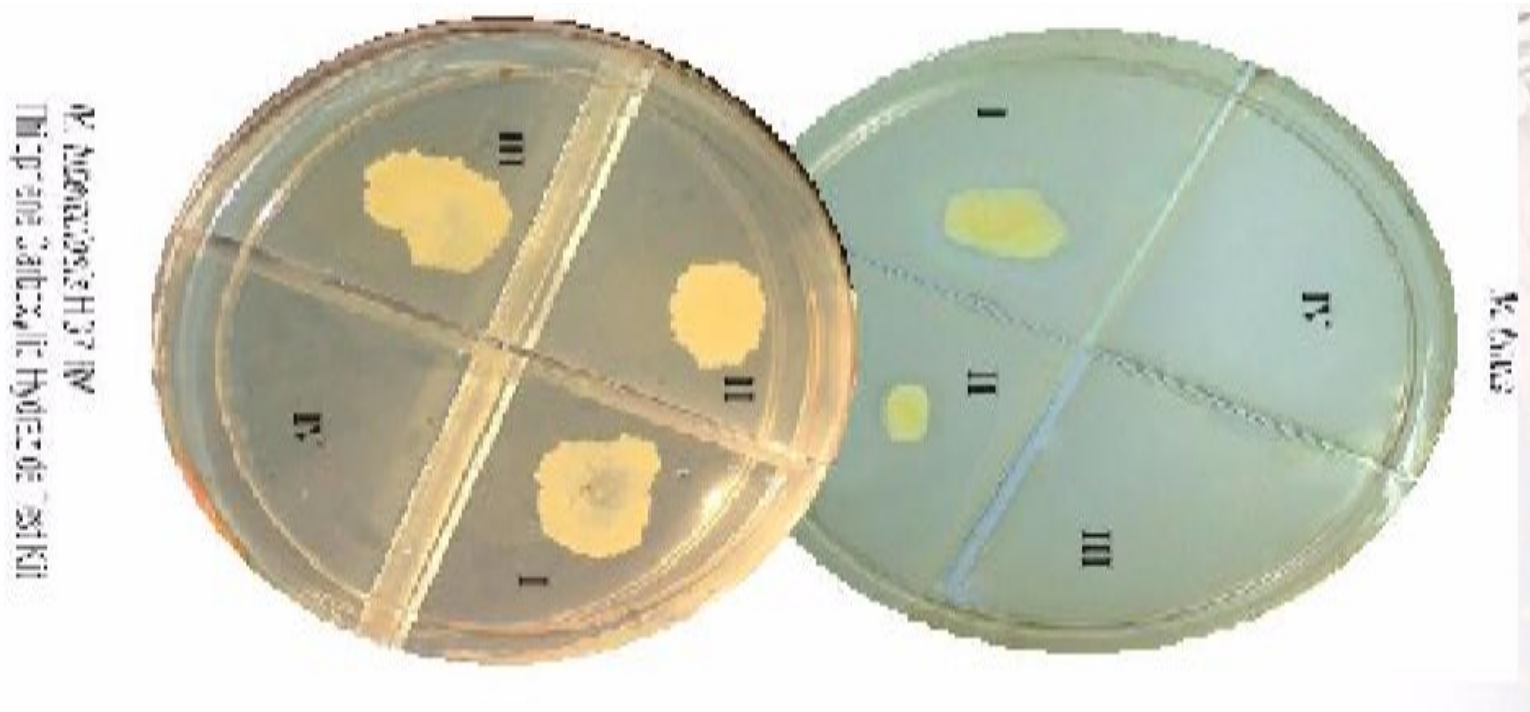


Pyrazinamidase Test Kit
(набор для пиразинамидазного теста):

- 1 - исходный цвет;
- 2 - отрицательный контроль;
- 3 - положительный контроль

Дифференциация возбудителей туберкулеза

4. Способность к росту на среде с гидразин-тиофен-2 карбоксилевой кислотой (ТСН)



Thiophene Carboxylase Test Kit
(набор для
тиофенкарбоксилазного теста).

Дифференциация возбудителей туберкулеза

5. Тест на каталазу



Catalase Test Kit
(набор для каталазного теста):
видна пена из образовавшихся
пузырьков кислорода
при положительной реакции

Будьте Уверены®



**экспресс
ТЕСТ**
для диагностики

Туберкулеза

1 Тест

Прогрессивные
Био-Медицинские ТЕХНОЛОГИИ Москва, Россия

Экспресс-тест по форме высыхания слюны

ИММУНИТЕТ

КЛЕТОЧНЫЙ

ИММУННЫЙ ФАГОЦИТОЗ

ГЗТ

ГУМОРАЛЬНЫЙ -

ИНДИКАТОРНЫЕ At

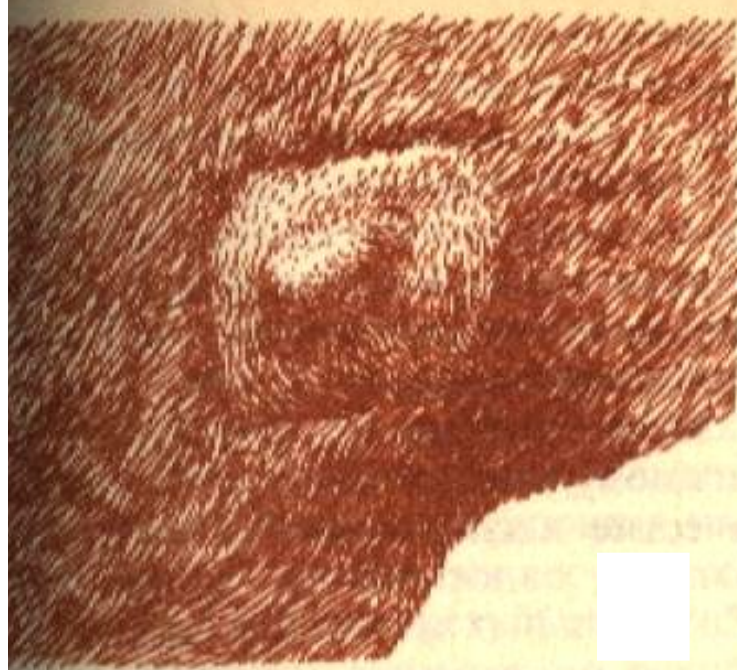
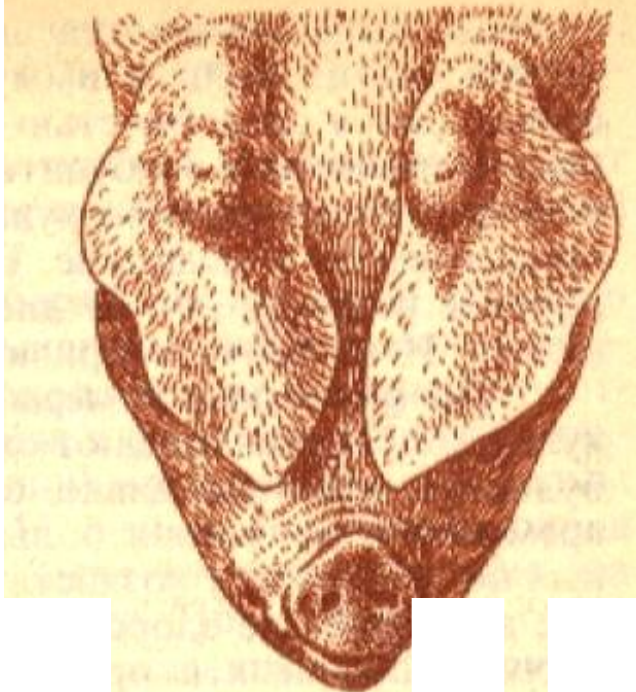
НЕСТЕРИЛЬНЫЙ

ВАКЦИНА

ШТ . ВСГ (ВЦЖ)

Аллергическая диагностика туберкулеза





**Положительная
туберкулиновая
проба**



Аллергическая диагностика туберкулеза (реакция Манту)

Реакция организма на введение туберкулина. В месте введения препарата в кожу возникает специфическое воспаление, вызванное инфильтрацией Т-лимфоцитов.



1– микробактерии туберкулеза под микроскопом (окраска по Цилю-Нельсену);
2– рост микобактерий туберкулеза вида *Mycobacterium* на среде Петраньяни;
3– положительная внутрикожная реакция на туберкулин у коровы; 4– положительная внутрикожная реакция на туберкулин у курицы; 5– положительная внутрикожная реакция на туберкулин у свиньи; 6– лобулярный казеоз в легких с обызвествлением и осумкованием;
7– жемчужница; 8– первичный аффект в легком и лучистый казеоз бронхиальных лимфатических узлов.



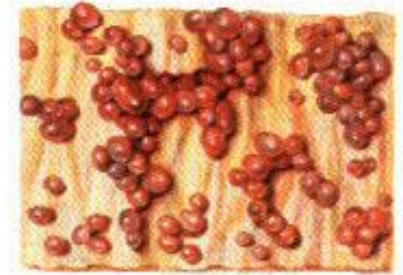
1



2



6



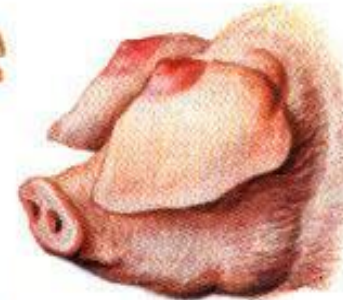
7



3



4



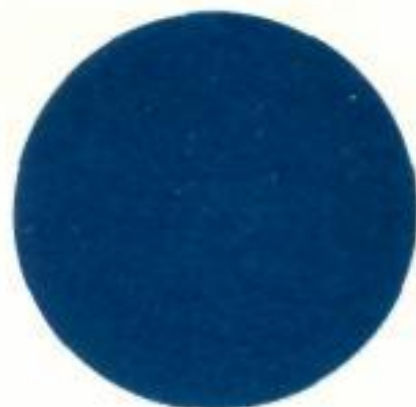
5



8



ПРЕДПРИЯТИЕ ПО ПРОИЗВОДСТВУ
БАКПРЕПАРАТОВ НИИЭМ
ИМЕНИ ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕН
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
123098, РОССИЯ, МОСКВА, УЛ. ГАМАЛЕН, 18
ТЕЛ. 193-30-50, 190-44-59



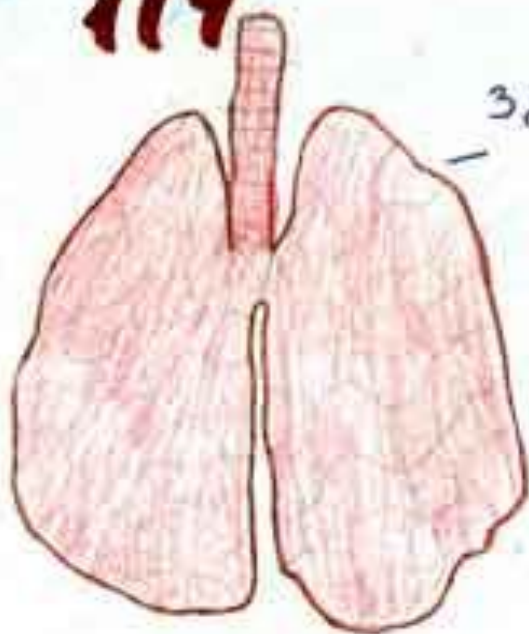
ВАКЦИНА
ТУБЕРКУЛЕЗНАЯ (БЦЖ) СУХАЯ
VACCINUM TUBERCULOSICUM (BCG) CRIODESICCATUM

ВНУТРИКОЖНО

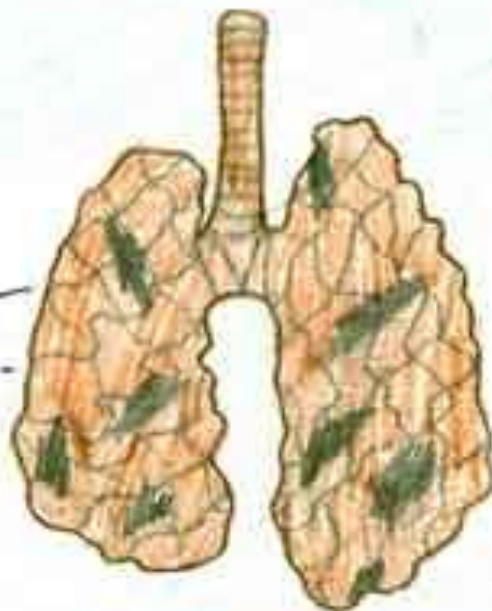
Эффективность вакцины БЦЖ доказана в борьбе с туберкулезом сельскохозяйственных животных. С успехом использовали БЦЖ для иммунизации свиней. Внутривенное введение пушным зверям (норкам) БЦЖ в дозе 0,02 мг вызывает образование иммунитета длительностью 10-12 мес.



114



ЗДОРОВЫЕ
ЛЁГКИЕ



ЛЁГКИЕ
ПОРАЖЁННЫЕ
ТУБЕРКУЛЕ-
ЗОМ.



ТУБЕРКУЛЕЗ

— ПЕРЕДАЁТСЯ ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬ-НЫМ ПУТЕМ.

ШКОЛА №280. ШАУМАРОВОЙ ФИРУЗМ. 8 В

Заключение

Несмотря на многолетний опыт борьбы с туберкулезом, Россия является одной из самых неблагополучных стран мира по туберкулезу человека и животных. Это связано с низким уровнем жизни населения, плохим питанием людей и плохим содержанием и кормлением животных, недостаточным производством качественных диагностикумов, дороговизной диагностики, неблагоприятным климатом, огромным количеством мест заключения осужденных, где туберкулез процветает, т.к. заключенных не лечат, а помещения не дезинфицируют.

Разработано много методов диагностики туберкулеза. В этой области мы впереди планеты всей. Но если жизнь людей и животных в России не улучшится, особенно в зонах с холодным, сырым климатом, все методы диагностики туберкулеза – это бессмысленный и неблагодарный труд микробиологов.