

Занятие 8.

**Микробиологическая диагностика
туберкулеза, лепры и актиномикоза**

Обсуждаемые вопросы:

- 1. Общая характеристика, классификация бактерий рода *Mycobacterium* (multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (EDR), pandrug-resistant (PDR)).
 - Морфобиологические особенности возбудителей туберкулеза, внутривидовая дифференциация, факторы патогенности.
 - Источник инфекции, пути заражения, патогенез заболевания, клинические формы, роль социальных факторов в развитии туберкулеза.
 - Лабораторная диагностика туберкулеза (микроскопический, бактериологический, биологический, серологический, молекулярно-генетический методы и кожно-аллергические пробы). Применение автоматизированных систем культивирования в микробиологической диагностике туберкулеза. Принципы специфического лечения и профилактики заболевания (проблема лекарственной устойчивости возбудителей туберкулеза).
 - Морфобиологические особенности возбудителя лепры, отличительные признаки от других микобактерий, факторы патогенности, пути заражения, патогенез, клинические формы. Микробиологическая диагностика лепры (микроскопический, кожно-аллергический, молекулярно-генетический методы), принципы специфического лечения и профилактики
- 2. Морфобиологические особенности актиномицетов, патогенез и микробиологическая диагностика вызываемых ими заболеваний (микроскопический, бактериологический методы, кожно-аллергическая проба), принципы лечения
- 3. Нокардии, их роль в патологии человека.

Цель занятия:

- дать студентам информацию о морфобиологических особенностях бактерий из родов *Mycobacterium* (multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (EDR), pandrug-resistant (PDR)) и *Actinomyces*, факторах патогенности, патогенезе, клинических признаках, микробиологической диагностике, принципах специфического лечения и профилактики заболеваний, вызываемых этими бактериями.

Возбудители туберкулёза

```
graph TD; A[Возбудители туберкулёза] --> B["M.tuberculosis  
(человеческий вид - в 90% случаев)"]; A --> C["M.bovis  
(бычий вид - в 5% случаев)"]; A --> D["M.africanum  
(промежуточный вид - встречается примерно в 3% случаев)"];
```

M.tuberculosis

(человеческий вид - в 90% случаев)

M.bovis

(бычий вид - в 5% случаев)

M.africanum

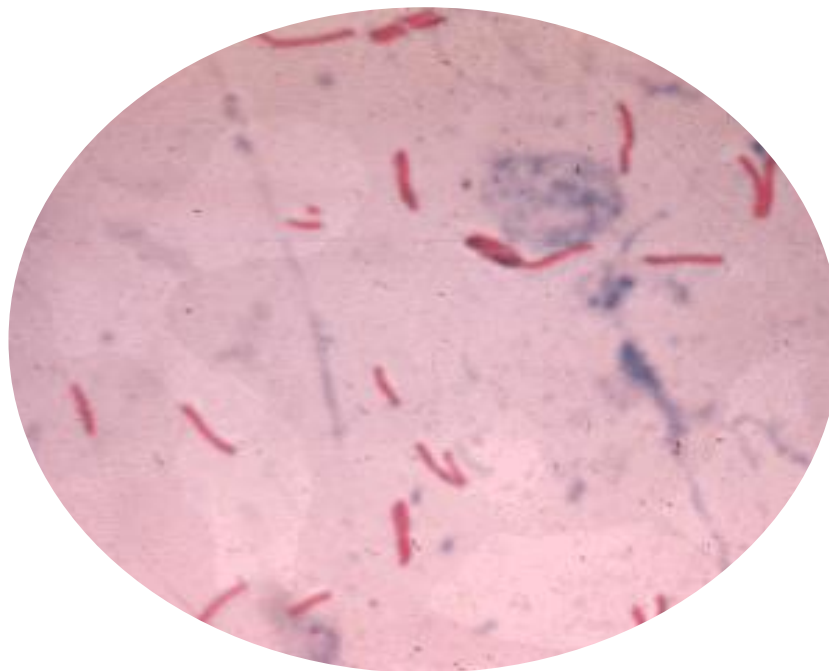
(промежуточный вид - встречается примерно в 3% случаев)

Морфо-биологические особенности *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis – палочковидная бактерия длиной 0.4-3 мкм.

Встречается в виде полиморфных палочек, а также кокковидных и нитевидных форм. В одной и той же культуре встречаются прямые, изогнутые, колбовидные, очень мелкие, фильтрующиеся через бактериальные фильтры, могут содержать кислотолабильные гранулы (зерна Муха) в цитоплазме. Неподвижны, спор и капсул не образуют, имеют микрокапсулу. Облигатные аэробы. *Отличительное культуральное свойство* – растут медленно и только на специальных питательных **средах**.

Метод Циля-Нильсена — в окрашенных препаратах микобактерии располагаются одиночно, либо в виде скоплений, напоминающих цифру V, красного цвета *кислотоустойчивые палочки* (за счёт высокого содержания в клеточной стенке липидов, состоящих из *миколовых кислот*.)



M.tuberculosis
(Метод Циля-Нильсена)

Mycobacterium tuberculosis

- Отличительным культурным свойством *M.tuberculosis*, по типу дыхания относящемуся к облигатным аэробам, является его потребность в питательных средах и постепенное развитие.
- Развитие и размножение происходит в основном делением или, что сложнее, почкованием.
- Причиной медленного роста в культуре является то, что *M.tuberculosis* очень поздно делится, примерно каждые 18-20 часов.

Культивация M.tuberculosis

- ***Полусинтетический питательный агар:***
Среды Миддлбрука 7H10 и 7H11
- ***Яичные питательные среды:***
Среды Левинштейна-Йенсена, Финна-2
- ***Жидкие среды:***
Среды Миддлбрука 7H9 и 7H12

Hazırda *M.tuberculosis*-in kultivasiyası üçün bir çox mühitlərdən istifadə edilir:

- Полусинтетические среды (например, среды *Middlebrook 7H10* и *7H11*) – содержат соли, кофакторы, витамины, альбумин, каталазу и глицерин. Среда *Middlebrook 7H11* также содержит гидролизат казеина. *M.tuberculosis* развивается в этой среде в течение нескольких недель. Эти среды в основном используются для изучения культуральных свойств, а также для тестов на чувствительность.
- Среда, содержащая желток (например, среда Левенштейна-Йенсена, Finna II) - среда Левенштейна-Йенсена содержит соли, глицерин и сложные органические ингредиенты (яичный желток, картофельная мука и т. д.). *M.tuberculosis* развивается на этой среде в течение 3-6 недель, так как для первоначального культивирования необходимо небольшое количество инокулята, эти среды используют при первоначальном культивировании микобактерий. Среда Левенштейна-Йенсена рекомендована ВОЗ в качестве стандартной среды для культивирования микобактерий.
- В отличие от среды Левенштейна-Йенсена, в среде Финна II аспарагин заменяется глутамином, и микобактерии растут в этой среде несколько быстрее.
- Жидкие среды (например, среды *Middlebrook 7H9* и *7H12*) позволяют получить первичную культуру микобактерий быстрее, чем комплексные среды, и с использованием меньшего количества инокулята.

Культуральные свойства:

M.tuberculosis —образуют через 15-20 дней в виде сухого налёта светло-кремовые колонии с неровными краями, напоминающие цветную капусту (вирулентные R-колонии)

- На жидких средах дают рост через 5-7 дней в виде сухого, плотного, морщинистого налёта кремового цвета. Под этим налётом питательная среда остаётся прозрачной.



M.tuberculosis (среда Левенштейна-Йенсена)

Mycobacterium tuberculosis

(биохимические особенности)

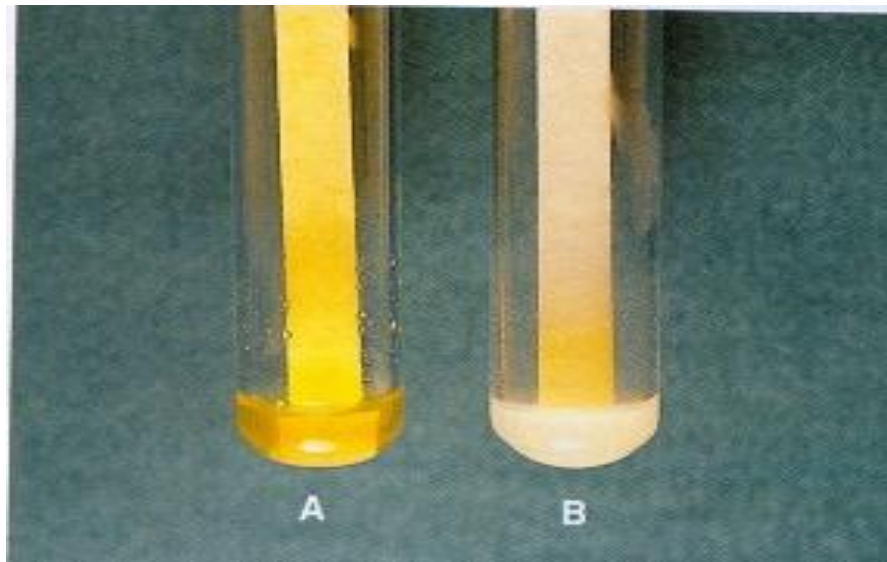
- *M.tuberculosis* обладает слабой биохимической активностью.
- **Ферменты:**
 - **Ферменты каталаза и пероксидаза** — чувствительные к изониазиду штаммы обладают высокой каталазной и пероксидазной активностью, а резистентные — низкой за счет мутации в гене Kat G
 - аминотрансфераза
 - эстераза
 - трегаллоза
 - амидаза
- Редуцирует нитраты в нитриты

Mycobacterium tuberculosis

- *M.tuberculosis* обладает слабой биохимической активностью. Имеет такие ферменты, как аминотрансфераза, эстераза, трегаллаза и амидаза. Особый интерес представляют ферменты каталаза и пероксидаза. Вирулентность *M.tuberculosis* и его устойчивость к препаратам из группы гидразидов изоникотиновой кислоты (изониазид) связаны с этими ферментами (активность гена KatG). Изониазидчувствительные штаммы возбудителей туберкулеза обладают высокой, а изониазидрезистентные - слабой каталазной и пероксидазной активностью.
- В отличие от *M.bovis* и условно-патогенных микобактерий *M.tuberculosis* продуцирует никотиновую кислоту (ниацин). Поскольку никотиновая кислота накапливается в больших количествах в жидкой питательной среде, ее можно обнаружить с помощью ниацинового теста в культуральной жидкости. Этот тест основан на образовании бледно-желтого комплексного соединения с никотиновой кислотой в растворе цианида калия и хлорамина Б.
- Резистентные к изониазиду штаммы не синтезируют ниацин.
- В отличие от *M.bovis*, *M.tuberculosis* восстанавливает нитраты до нитритов.

Mycobacterium tuberculosis ***(биохимические особенности)***

- **Ниациновый тест** - В отличие от *M.bovis* и условно-патогенных микобактерий, *M.tuberculosis* выделяет никотиновую кислоту (ниацин). Тест основан на образовании комплексного соединения цианида калия и раствора хлорамина Б с никотиновой кислотой который дает при этом ярко желтое окрашивание.



**Ниациновый тест: А-положительный;
В-отрицательный**

Mycobacterium tuberculosis

Факторы патогенности

- **Липиды:** составляют до 10-40% сухого остатка микробов и обеспечивают микобактериям кислотоустойчивость.
- **Белки:** до 60%, обуславливают антигенные свойства
- **Полисахариды:** 15%, участвуют в развитии гиперчувствительности замедленного типа и образовании антител

Mycobacterium tuberculosis

Факторы патогенности

- В связи с наличием соединения миколовой кислоты и углеводов (трегалоза - 6,6 -димиколат) - «*корд*» фактора, возбудители туберкулёза растут в виде жгутов или кос (англ., *cord* – верёвка, шнур) в микрокультуре, и под микроскопом видны в виде параллельных цепочек.

«Корд» фактор:

- Ослабляет миграцию лейкоцитов
- Участвует в развитии хронической гранулёмы
- Играет роль иммунологического адьюванта



«корд» фактор

Туберкулин

- «*Старый туберкулин Коха*» состоит из концентрата, полученного из фильтрата 6-ти недельной глицериновой бульонной культуры.
- «*Новый туберкулин*» - получен при химической очистке старого туберкулина Коха, называется РРД (англ., *purified protein derivate* — очищенный дериват белка). Его биологическая активность определяется в «туберкулиновых единицах» (ТЕ).

Mycobacterium tuberculosis

Устойчивость к внешним факторам окружающей среды

- Микобактерии являются наиболее устойчивыми к факторам внешней среды из неспорообразующих бактерий.
- *M.tuberculosis* при кипячении уничтожается за 5 мин. Высыхание мало влияет на их жизнеспособность в патологическом материале (мокрота и др.). Возбудители туберкулеза относительно чувствительны к воздействию солнечного света, культура при облучении солнечным светом разрушается в течение 1,5 часов, а под действием ультрафиолетовых лучей - через 2-3 минуты.
- Возбудители туберкулеза устойчивы к дезинфицирующим средствам. 5% раствор фенола уничтожает их всего за 1 сутки. Растворы хлорамина и хлорной извести убивают их быстрее - в течение 3-5 минут, поэтому для обеззараживания применяют хлорсодержащие дезинфицирующие средства.

Mycobacterium tuberculosis

- **Чувствительность животных.** В естественных условиях животные менее восприимчивы к *M.tuberculosis*.
- Среди подопытных животных более чувствительны к этой бактерии морские свинки, при подкожном заражении которых развивается инфекция, сопровождающаяся генерализацией и гибелью в течение 2-3 мес.

Источник инфекции и пути передачи:

- Источником инфекции являются больные туберкулёзом, выделяющие возбудителей с мокротой в окружающую среду.
- Заражение происходит воздушно-капельным и воздушно-пылевым путём.
- Возможно заражение плода трансплацентарным путём.
- В редких случаях заражение происходит пищевым путём при употреблении термически не обработанных мясо-молочных продуктов. Это характерно для туберкулёза, вызванного *M.bovis*

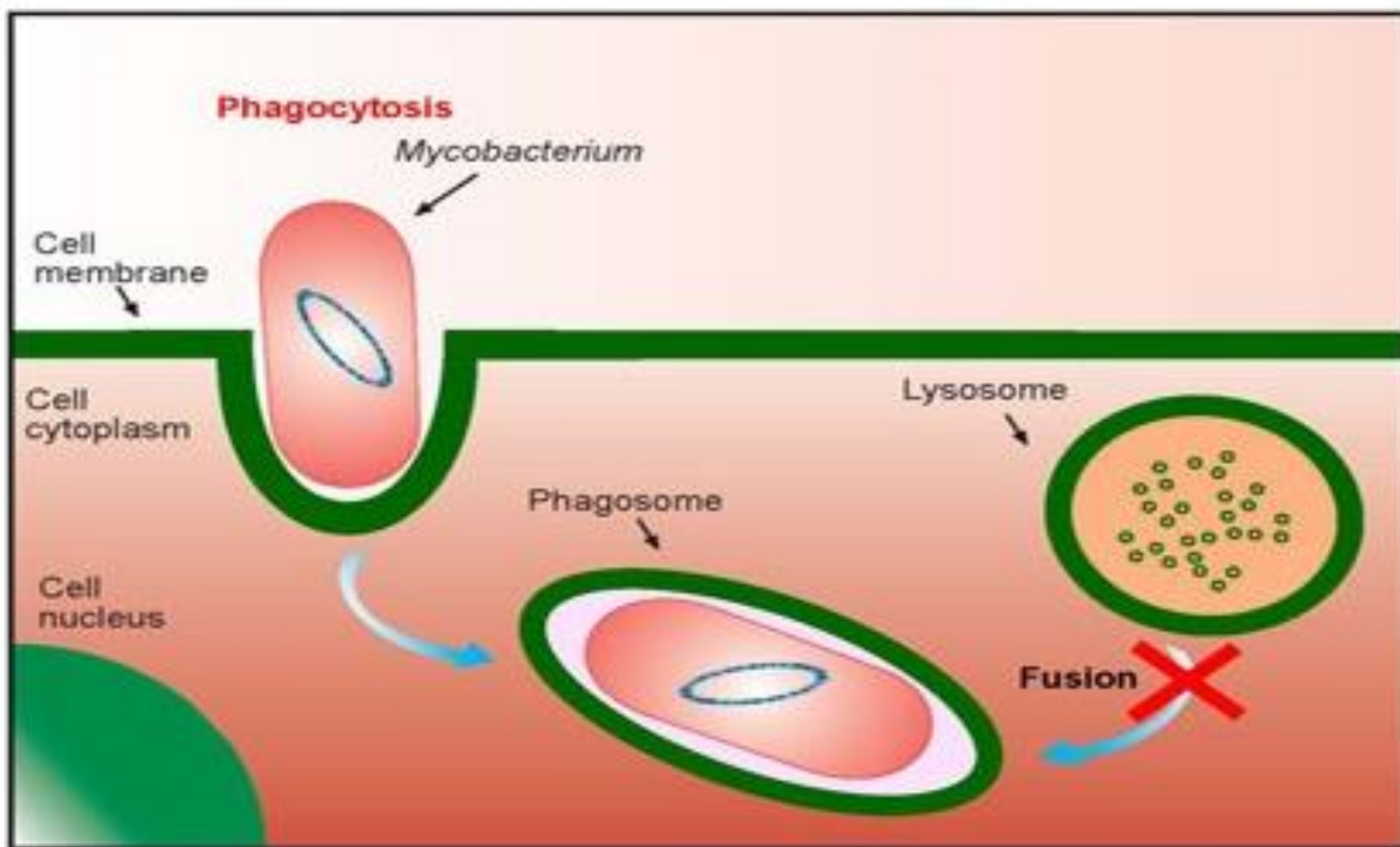
Патогенез туберкулёза:

- Туберкулёз это первичное хроническое заболевание, которое сопровождается поражением различных органов и систем.
- В основе патологического процесса лежит образование в тканях специфических гранулём. Инкубационный период длится от нескольких недель до нескольких лет, иногда более длительный период.

Патогенез туберкулёза:

- Первичный туберкулёз – попадание аэрогенным путём большой дозы высоковирулентного возбудителя туберкулёза, который сопровождается в легких формированием первичных очагов и образованием первичного туберкулёзного комплекса.
- Диссеминированный туберкулёз
- Вторичный туберкулёз – наблюдается у ранее зараженных людей при активации старого эндогенного очага.

Незавершенный фагоцитоз - в слизистых оболочках микобактерии, подвергнутые фагоцитозу макрофагами, переносятся в регионарные лимфатические узлы где они долго сохраняются в латентном состоянии.



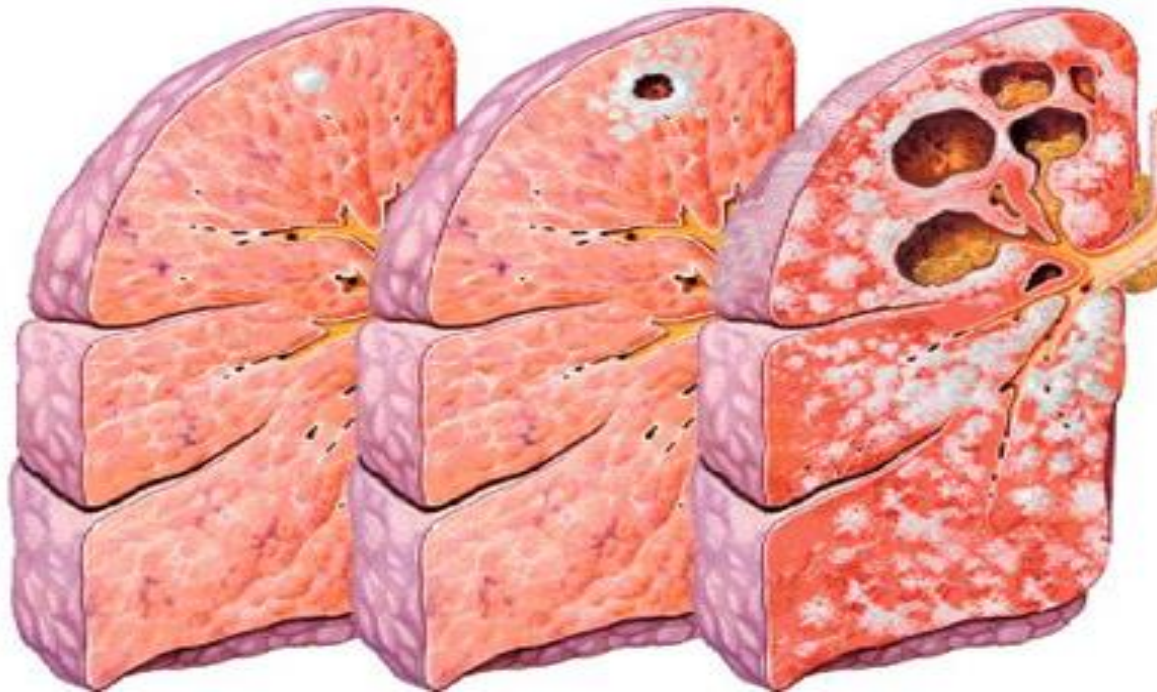
Патогенез туберкулёза

- Наиболее часто заражение происходит через дыхательные пути. Попавшие в организм микобактерии захватываются альвеолярными и легочными макрофагами. В месте попадания может развиваться первичный аффект. Далее возбудитель транспортируется в регионарные лимфоузлы, вызывая воспалительную реакцию - лимфангоит и лимфаденит. Первичный аффект, лимфангоит и лимфаденит - первичный комплекс (первичный очаг туберкулеза), характеризующийся образованием по ходу лимфатических путей и узлов гранулем в виде бугорков (бугорчатка или туберкулез).
- Образование гранулем представляет собой клеточную реакцию ГЗТ на ряд химических компонентов микобактерий. В центре гранулемы в очаге некроза (казеозного распада) находятся микобактерии. Очаг окружен гигантскими многоядерными клетками Пирогова - Лангханса, их окружают эпителиоидные клетки а по периферии - лимфоциты, плазматические и мононуклеарные клетки.

Патогенез туберкулёза

- В гранулемах обычно замедляется или прекращается размножение возбудителя. Вокруг гранулёмы образуется соединительнотканная капсула, происходит заживление очага, воспаление рассасывается, некротические массы уплотняются и в результате скопления солей кальция очаг обызвествляется, таким образом образуется **очаг Гона**. В результате микобактерии переходят в L-формы и длительно сохраняются в организме.

Каверна — при снижении резистентности гранулёмы подвергаются некрозу и L-формы бактерий переходят в вирулентную форму. В результате этого процесс активизируется, возбудители проникают в окружающие ткани, иногда в ткани лёгких образуя полости — *каверны*.



Полости в ткани лёгких - каверны

Клинические формы туберкулёза:

В зависимости от локализации различают 3 клинические формы:

- *Первичная туберкулёзная интоксикация у детей и подростков ;*
- *Туберкулёз органов дыхания (лёгких и внутренних лимфатических узлов грудной полости) ;*
- *Туберкулёз других органов и систем (туберкулёз желудка и кишечника, туберкулёз почек, туберкулёзный менингит, туберкулёз костей, туберкулёз кожи и др.)*

***Клинические
формы
туберкулёза***

```
graph TD; A[Клинические формы туберкулёза] --> B[Первичная туберкулёзная интоксикация ;]; A --> C[Туберкулёз органов дыхания]; A --> D[Туберкулёз других органов и систем];
```

***Первичная
туберкулёзная
интоксикация ;***

***Туберкулёз
органов
дыхания***

***Туберкулёз
других органов
и систем***

Иммунитет:

- Нестерильный, инфекционный
- Антитела не обладают протективной активностью
- Факторы клеточного иммунитета играют решающую роль
 - Фагоцитоз носит незавершенный характер
- Развивается гиперчувствительность замедленного типа.

Микробиологическая диагностика:

- *Материал для исследования при лёгочной форме:*
 - мокрота
 - бронхиальный смыв
 - плевральная жидкость
- *Материал для исследования при других формах заболевания:*
 - цереброспинальная жидкость
 - моча
 - асцитическая жидкость
 - биоптаты из соответствующих органов

В микробиологической диагностике туберкулёза могут быть применены все микробиологические методы!

Микробиологическая диагностика :

- *Метод микроскопии* — прямая микроскопия мазка приготовленного из патологического материала и окрашенного по Цилю-Нильсену.
- *Люминесцентная микроскопия* — основана на способности липидов микобактерий окрашиваться люминесцентными красителями и люминесцировать (светиться) под влиянием ультрафиолетовых лучей.

Микробиологическая диагностика :

- *Бактериологический метод - «золотой стандарт»*, получение культуры возбудителя, его идентификация и изучение чувствительности к химиотерапевтическим препаратам.
- *Метод микрокультуры Прайса* –применяется для ускоренной диагностики (1-2 недели) .
- *Метод автоматизированной культивации* – используется система *BACTEC MGIT*. Внутри системы культивации *BACTEC* в пробирках *MGIT* (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) имеется модифицированный питательный бульон *Middlebrook 7H9*.

Система культивирования *БАСТЕС MGIT*



Пробирки *MGIT* (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*)



Микробиологическая диагностика :

- *Молекулярно-генетический метод (ПЦР)* – позволяет сократить время исследования до двух дней, чувствительность 55-90%, специфичность около 100%.
- *Серологический метод* - ИФА, служит для обнаружения в сыворотке крови специфических антител к возбудителю туберкулёза. С помощью ИФА определяют не заболевание, а инфицирование.
- *Биологический метод* – обнаружение возбудителей туберкулёза в патологическом материале основано на заражении лабораторных животных.

Микробиологическая диагностика

- **Кожно-аллергическая проба** основана на реакции ГЗТ (латентная туберкулёзная инфекция) к туберкулину. Для этого определённая доза туберкулина (PPD) вводится в виде внутрикожной инъекции на передней поверхности предплечья (*проба Манту*). Эта проба широко используется для массового обследования населения, и своевременного выявления первичного заражения (виража) детей и подростков.
- Положительная туберкулиновая проба показывает не заболевание, а инфицирование.

Проба Манту (положительный результат)



Определение чувствительности возбудителя туберкулёза к химическим терапевтическим препаратам:

- *Метод точной концентрации* - основан на культивации *M.tuberculosis* на питательных средах с добавлением противотуберкулёзных препаратов в определённой концентрации.
- *Резазуриновый тест*—основан на редукции резазурина и изменения цвета среды, позволяет более быстро оценивать рост микобактерий.

Определение чувствительности возбудителя туберкулёза к химическим терапевтическим препаратам:

- *Определение генов резистентности с помощью ПЦР*
 - Мутация в гене *InhA*, кодирующем ферменты миколовой кислоты – чувствительность к изониазиду
 - Мутация в гене *rpsL*, кодирующем рибосомальный протеин – чувствительность к стрептомицину
 - Чувствительность к рифампицину, возможно, связана с изменениями субкомпонента β в РНК-полимеразе (мутация в гене *rpoB*)

Лечение туберкулёза:

- *Препараты первого ряда:* изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол и стрептомицин
- *Препараты второго ряда :* канамицин, этионамид, циклосерин, хинолоны, (офлоксацин, цiproфлоксацин) более токсичные и мало эффективные
- *Современный стандарт химиотерапии туберкулёза* – лечение проводится четырьмя препаратами первого ряда – комбинацией изониазида, рифампицина, пиразинамида, этамбутола непрерывно в течение 6-9 месяцев.

Профилактика туберкулёза:

- *Специфическая профилактика* – проводят с помощью вакцины BCG (*bacillus Calmette-Guerin*)
- *Вакцина BCG* вводится новорожденным на первой неделе жизни в виде внутрикожной инъекции.
- Ревакцинация в 7 и 12 лет, затем до 30 лет через каждые 5-6 лет.
- Недоношенных детей иммунизируют слабо реактогенной вакциной BCG-M , в которой количество бактерий в 2 раза меньше.

Mycobacterium bovis

- Возбудителем около 5% случаев является микобактерия бычьего типа - *Mycobacterium bovis* .
- *M.bovis* отличается от *M.tuberculosis* по морфобиологическим показателям .
- Для дифференциации *M.bovis* и *M.tuberculosis* применяют ниациновый тест и биопробы на кроликах. *M.bovis* не образует никотиновую кислоту (ниацин) и непатогенна для кроликов.

Mycobacterium africanum

- *Mycobacterium africanum* по морфобиологическим показателям часто идентифицируется как *M.bovis* .
- *M.africanum* встречается, в основном, в Африке и только в 5% случаев является возбудителем туберкулёза в других странах.
- Является патогеной для морских свинок, мышей и, в меньшей степени, кроликов.

Атипичные микобактерии

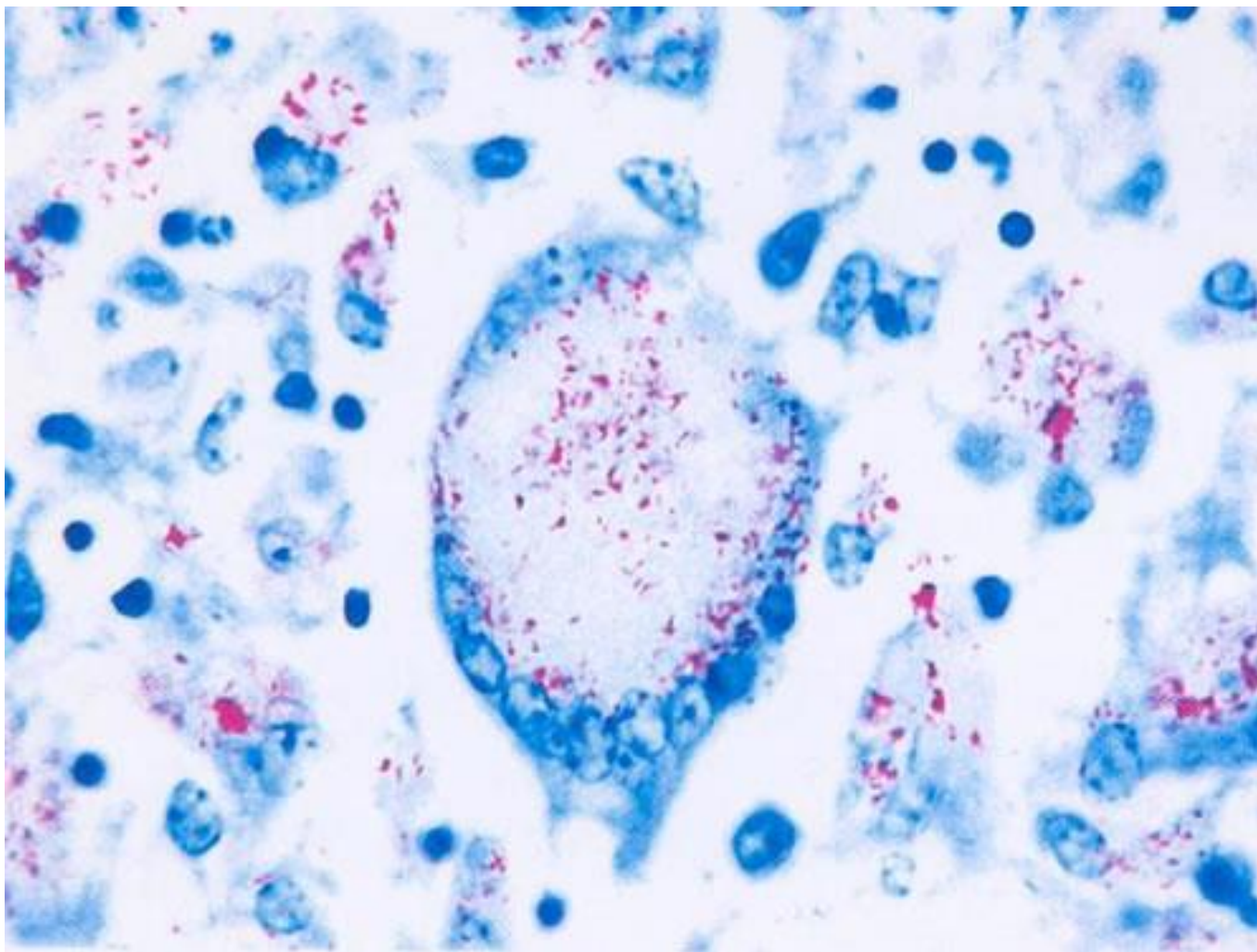
- В основном, *атипичные микобактерии* широко распространены в окружающей среде и являются условно-патогенными. Вызывают у человека заболевания, называемые *микобактериозы*.
- Атипичные бактерии по биологическим свойствам похожи на возбудителей туберкулёза, но они обладают резистентностью ко многим противотуберкулёзным препаратам.

Атипичные бактерии

классификация Раньона

I группа	Медленно развивающиеся фотохромогенные микобактерии.	<i>M.kansasii</i> <i>M.marinum</i> , <i>M.simiae</i> и др.
II группа	Медленно развивающиеся скотохромогенные микобактерии.	<i>M.scrofulaceum</i> , <i>M.szulgai</i> , <i>M.flavescens</i> , <i>M.gordonae</i> и др. .
III группа	Медленно развивающиеся нехромогенные микобактерии.	(<i>M.avium</i> complex, <i>M.xenopi</i> , <i>M.ulserans</i> , <i>M.gastri</i> , <i>M.celatum</i> и др. .
IV группа	Быстро развивающиеся микобактерии.	<i>M.chelonei</i> qrupu, <i>M.fortuitum</i> qrupu, <i>M.smegmatis</i> , <i>M.phlei</i> и др. .

Комплекс М.авіум

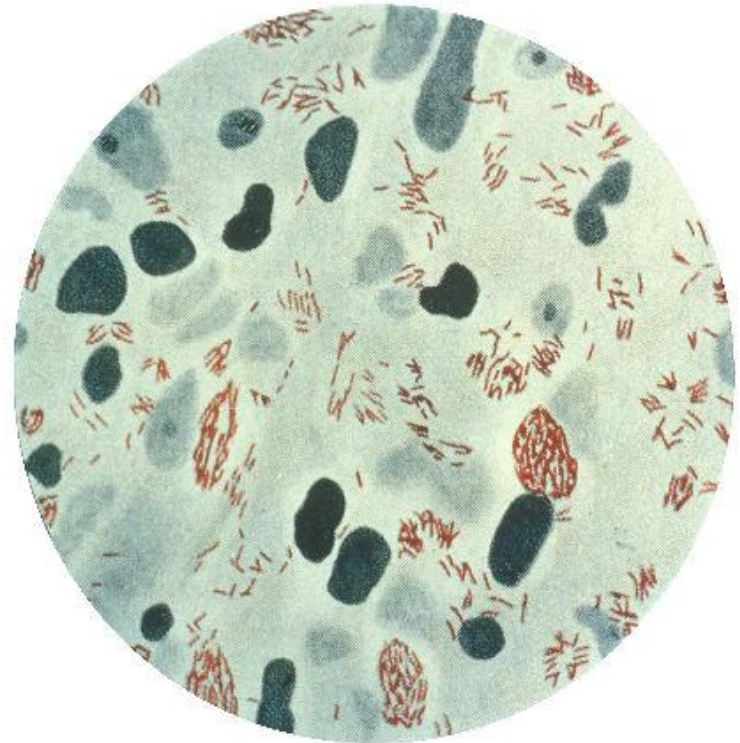


Возбудитель лепры (*Mycobacterium leprae*)

M. leprae – прямые либо слегка изогнутые палочки длиной 4-5 мкм.

По морфо-биологическим показателям напоминает возбудитель туберкулёза. Грамположительные неподвижные палочки, спор и капсул не образуют, имеется микрокапсула.

В связи с устойчивостью к кислоте и спирту, окрашиваются по **Цилю-Нильсену** в **красный цвет**.



Mycobacterium leprae

- У большинства броненосцев через 15 месяцев после заражения большими дозами *M.leprae* развивается специфический генерализованный процесс.
- У этих животных развиваются такие же клинические симптомы, как у людей при лепроматозной форме лепры. Но, в отличие от людей, у броненосцев повреждение тканей лёгких происходит быстрее и интенсивнее.
- В поражённых тканях броненосцев концентрация возбудителя в сотни раз больше, чем в эквивалентных тканях у заболевших людей.



Броненосец армадил

Источник инфекции и пути передачи:

- Источником инфекции является больной человек.
- Заболевание передаётся при непосредственном контакте либо воздушно-капельным путём.
- Больные лепрой, в слизи носа у которых находится большое количество *M.leprae*, являются более опасными.
- Доказано внутриутробное заражение, но после рождения большинство детей, отдалённых от родителей, не заболевают лепрой.
- *Слабо контагиозное.*

Патогенез лепры:

- *Туберкулоидная форма* – доброкачественная. Эта форма характеризуется формированием эпителиоидных и гигантоклеточных гранулём в коже и слизистых оболочках.
- *Лепроматозная форма* – Эта форма характеризуется формированием на коже и слизистых оболочках гранулём, состоящих из «лепрозных клеток» (клеток Вирхова), плазмоцитов, лимфоцитов и фибробластов, а также повреждением периферических нервов.
- *Недифференцированные формы* - промежуточная форма

Клинические симптомы лепры:

- Лепра — первичное генерализованное хроническое заболевание, которое сопровождается гранулематозным повреждением кожи и верхних дыхательных путей, а также периферической нервной системы и внутренних органов.
- Инкубационный период в среднем составляет 2-10 лет, иногда длиться до 20 лет. Только у 5-10% заражённых развиваются манифестные формы.

Клинические симптомы лепры:

- **Туберкулоидная форма** – проявляется образованием узелков, состоящих из грануляционной ткани, на коже и слизистых оболочках (название болезни «лепроз» в переводе с греческого означает «бугристый»). Одной из важнейших особенностей этих узлов является их анестезия, т.е. потеря чувствительности.
- **Недифференцированная форма** – проявляется образованием кожных высыпаний и поражением периферических нервов, может трансформироваться в туберкулоидную или лепраматозную форму. Кожные высыпания представляют собой резко ограниченные пятна (леприды) различной величины и цвета, сначала гиперестетические, а затем анестезирующие.
- При **лепроматозной форме** узелки выглядят как красно-коричневые инфильтраты преимущественно на лице и дистальных отделах конечностей. Нередко у больных выпадают брови и ресницы, а узелки и инфильтраты придают лицу «львиное лицо». Лимфатические узлы, особенно паховые и локтевые, увеличиваются и богаты микобактериями. Обезболивания гранулем не наблюдается, они сохраняются много лет, претерпевают рубцовые изменения или рассасываются.

Клинические проявления лепры:



Микробиологическая диагностика:

- **Материал для исследования**

- соскоб со слизистой оболочки перегородки носа
- скарификация повреждённых тканей
- тканевая жидкость, полученная при пункции увеличенных лимфатических узлов.

- *Метод микроскопии* – обнаружение кислотоустойчивых бактерий в мазках, окрашенных по Цилю-Нельсену.

- *бактериологический метод* – инокуляция материала на питательных средах

- *биологический метод*- не патогенны для морских свинок и кроликов в отличие от возбудителя туберкулеза

Микробиологическая диагностика:

- *Тест на лепромин* – не имеет диагностического значения, поскольку даёт отрицательный результат при лепроматозной форме и положительный результат при туберкулоидной форме у многих здоровых людей.
- В результате внутрикожной инъекции лепромина через 48 часов развивается первичная *реакция Фернандеса*, а через 3-4 недели поздняя *реакция Мицуды*.
- *Серологический метод* – с помощью ИФА обнаруживаются антитела к гликолипидам *M.leprae*.

Профилактика:

- Для специфической профилактики лепры не разработаны препараты. В эндемичных зонах используется вакцина БЦЖ, составной частью которой является лепромин А.
- Для изоляции больных лепрой размещают в специальные учреждения *лепрозории*.

Лечение лепры:

- К противолепрозным препаратам относятся препараты сульфонового ряда, в основном, *дапсон*. Дапсон считается основным препаратом для лечения всех форм лепры.
- Кроме, этого назначается рифампицин и клофазимин.
- К другим препаратам, эффективным в отношении *M.leprae* относятся **миноциклин, кларитромицин** и некоторые фторхинолоны.

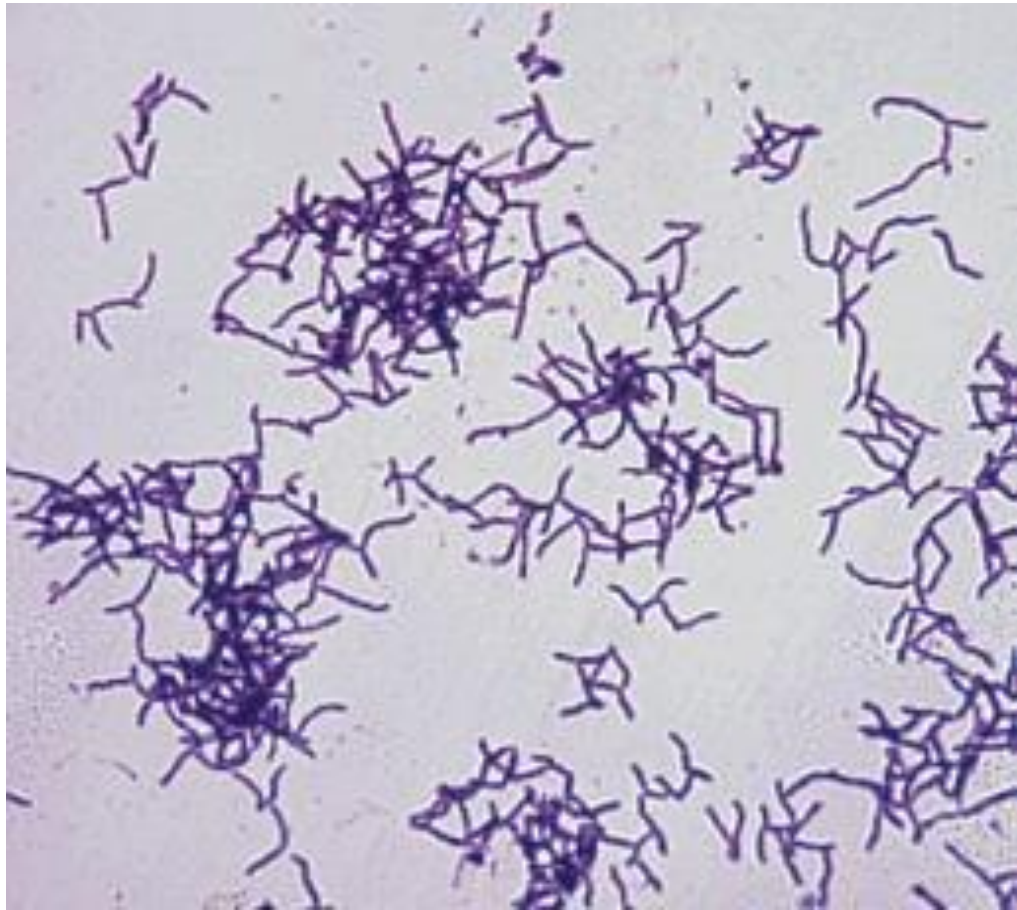
Актиномицеты (классификация)

- Промежуточные между бактериями и грибами микроорганизмы актиномицеты объединены в порядке *Actinomycetales*.
- В этом порядке находятся также патогенные для человека семейства *Actinomycetaceae*, *Nocardiaceae* и *Streptomycetaceae*, к которым, соответственно, относятся роды *Actinomyces*, *Nocardia* и *Streptomyces*.
- Для патологии человека наиболее важными являются виды *A.israelii* и *A.naeslundii* . *A.viscosus*, *A.odontolyticus* и *A.bovis* очень редко вызывают заболевания.

Морфо-биологические особенности:

- *Rod Actinomyces* – грамположительные, тонкие, прямые или слегка изогнутые палочки размером 1-3 мкм. В процессе развития образуют мицелиеподобные филаменты, длинные цепочки, иногда разветвления длиной 10-50 мкм.
- Слабо окрашиваются по Граму, как правило, грамположительные, некоторые виды кислотоустойчивые.

Actinomyces bovis – типичные представители вида



A.bovis (в мазке из чистой культуры)

Actinomyces bovis

культуральные особенности:

- Факультативные анаэробы , капнофилы
- Растут на питательных средах в течение 1-2 недель, а на обогащённых средах, таких как кровяной агар с сердечно-мозговым экстрактом через 24-48 часов образуют субстратный мицелий , состоящий из *«паутинных микроколоний»*
- Через неделю микроколонии превращаются в колонии с неровной поверхностью, напоминающей «коренные зубы».

Actinomyces bovis



Колонии на кровяном агаре (напоминают *«коренные зубы»*)

Основные дифференциальные отличия бактерий рода *Actinomyces* :

Показатели	<i>Виды</i>				
	<i>A.israelii</i>	<i>A.naeslundii</i>	<i>A.viscosus</i>	<i>A.odontolyticus</i>	<i>A.bovis</i>
Рост в аэробных условиях	-	+	+	+	+
Каталаза	-	-	+	-	-
Уреаза	-	+	+	-	-
Крахмал	-	-	-	-	+
Арабиноза	±	-	-	-	?
Инозит	+	+	+	-	?
Ксилоза	+	-	-	-	±
Маннит	+	-	-	-	-
Манноза	+	±	+	-	?

Экология

- Бактерии *Actinomyces* широко распространены в окружающей среде.
- Находятся в воде, воздухе, различных предметах, телах растений, животных и человека. Основная среда обитания – почва.
- Являются представителями нормальной микрофлоры полости рта и желудочно-кишечного тракта человека и млекопитающих.

Источник инфекции и пути передачи:

- Различают эндогенную и экзогенную инфекцию.
- *Эндогенная инфекция* часто развивается в результате проникновения актиномицетов ротовой полости и пищеварительного тракта в окружающие ткани при травмах и хирургических вмешательствах.
- Источником *экзогенной инфекции* является почва. Возбудители обычно проникают в организм при травмах через раневую поверхность.

Патогенез и клиника:

- Возбудители оппортунистической инфекции.
- Чувствительность к актиномицетам у людей с нормальным иммунным статусом низкая, а у людей с иммунодефицитом высокая.
- Одним из основных факторов патогенеза является ослабление иммунитета, в особенности, защитных свойств слизистых оболочек.

Патогенез и клиника:

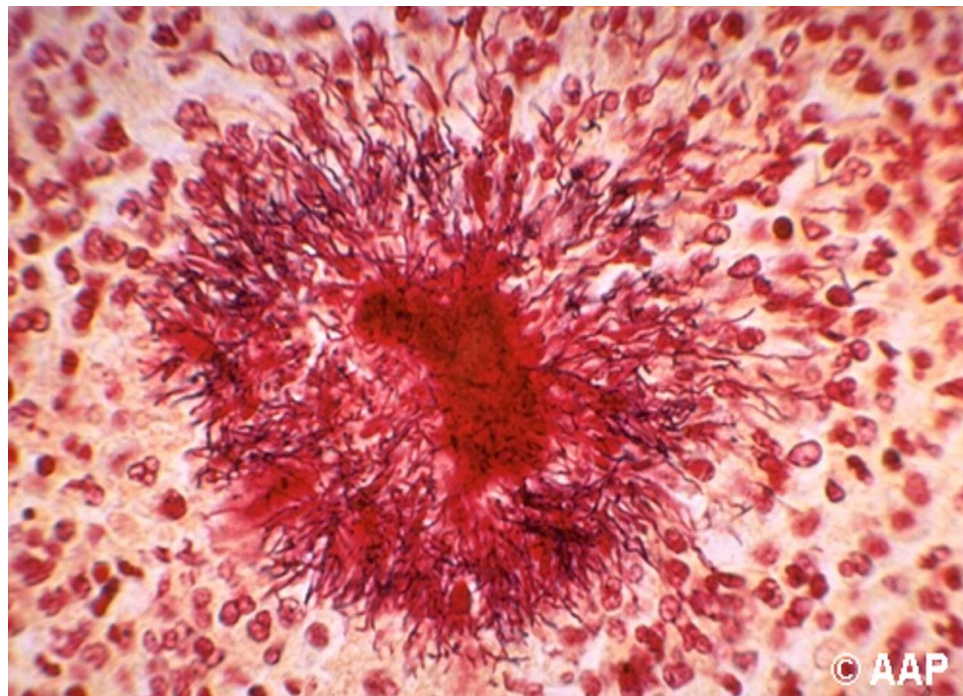
- Актиномикоз это хроническая гнойно-гранулематозная инфекция. Вокруг актиномицетов, проникающих со слизистой оболочки и повреждённой кожи формируется специфическая гранулёма (*актиномикома*), внутри которой при взаимодействии актиномицетов с элементами тканей образуются друзы («серные гранулы»).
- В зависимости от локализации различаются три основные формы заболевания — шейно-лицевая, торакальная и абдоминальная.

АКТИНОМИКОЗ



Друзы

Друзы- желтоватые, округлые образования диаметром 1 мм часто состоят из макрофагов, других тканевых клеток и актиномицетов. С периферической части друз выступают дубинкообразные расширенные эозинофильные клетки актиномицетов.



Друз («серные гранулы», или зёрна Боллингера)

Микробиологическая диагностика:

- *Материал для исследования:*
 - мокрота
 - ликвор
 - гной
 - биоптат из грануляции тканей
- *Микроскопический метод:*
 - Обнаружение друз в нативном материале
 - Окраска по Граму: споры окрашиваются в тёмно-фиолетовый, мицелии в фиолетовый, а друзы в розовый цвет.
 - Окраска по Цилю-Нильсену: мицелий окрашивается в синий, а споры в красный цвет.

Actinomyces israelii



A.israelii (в мазке, приготовленном из гноя)

Микробиологическая диагностика:

- *Бактериологический метод* — производят посев патологического материала на питательные среды (кровяной агар с сердечно-мозговым экстрактом), культивируют в капнофильных либо анаэробных условиях. Полученную культуру идентифицируют по морфобиологическим особенностям.
- В некоторых случаях ставится *аллергическая реакция* с актинолизатом. Положительные и резко положительные результаты имеют диагностическое значение.
 - При висцеральном актиномикозе аллергическая реакция часто даёт отрицательный результат.

Лечение:

- Чувствительны к пенициллину, тетрациклину, эритромицину и клиндамицину.
- Резистентны к антифунгальным препаратам.
- В связи с тем, что антибиотики плохо проникают в полость абсцессов и гранулём, иногда требуется *хирургическое вмешательство*.

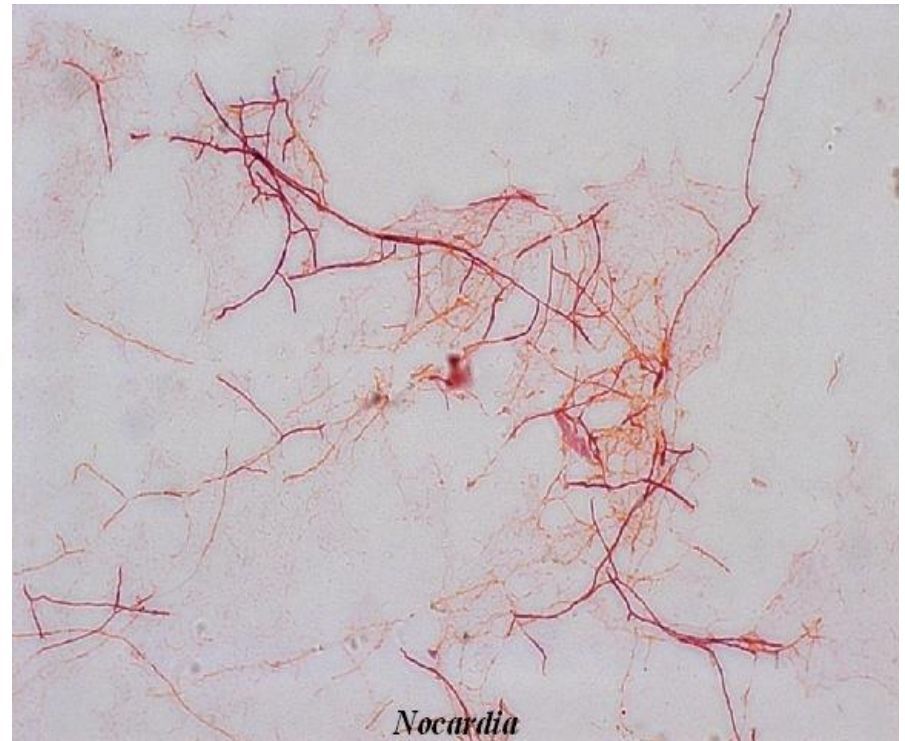
Нокардии

- Бактерии рода *Nocardia* вызывают у людей заболевания нокардиозы.
- Нокардиозы часто вызываются комплексом *Nocardia asteroides* (*Nocardia farcinica*, *Nocardia nova*, *Nocardia abscessus* и др. видами), в редких случаях видами *Nocardia brasiliensis* и *Nocardia otitidiscaviarum* и в очень редких случаях другими видами.

Nocardia asteroides

Морфо-биологические свойства:

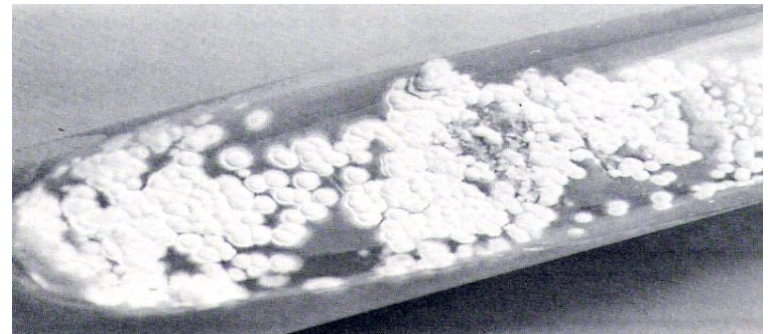
Нокардии — это палочковидные бактерии, обладающие сильно разветвлённым воздушным и субстратным мицелием. В первые часы мицелий делится на сегменты и состоит из одной клетки. Постепенно, мицелии, образуя перегородки (септы) делятся на палочковидные и кокковидные элементы. Они грамположительные и частично кислотоустойчивые.



Нокардии

Nocardia asteroides

Развивается на обычных питательных средах при температуре 28-37°C в аэробных условиях. На питательных средах через несколько дней, или неделю, образуют клубочковые восковидные колонии. Синтезирует и выделяет в питательную среду пигмент от белого до розового, даже красного цвета.



Восковидные колонии

Нокардии

- **Источник инфекции и возбудитель:**
 - Источник инфекции почва.
 - *N.asteroides*, в основном, попадает в организм воздушно-пылевым (аэрогенным) путём и вызывает хроническую инфекцию лёгких.
 - *N.brasiliensis* - заражение происходит при попадании почвы через поврежденную кожу при травмах, в результате образуются подкожные поражения.

Нокардиозы

- Лечение кортикостероидами, трансплантация органов, СПИД, туберкулёз могут способствовать развитию нокардиозов.
- К основным формам относятся нокардиозы кожи и лёгких.
 - Наиболее распространёнными являются нокардиоз лёгких, вызванный *Nocardia asteroides*
 - нокардиоз кожи, вызванный *Nocardia brasiliensis* и приводящий к подкожным образованиям

Нокардиозы

Инфекция *Nocardia brasiliensis*



Микробиологическая диагностика :

- **Материал для исследования:**
 - мокрота
 - гной
 - ликвор
 - биоптаты тканей
- *Микроскопический метод* — обнаруживаются грам-положительные коккобациллы, а также разветвлённые филаменты.
- *Бактериологический метод* - получение культуры возбудителя

Лечение:

- Препарат выбора **сульфаметоксазол-триметоприм (бисептол)**
- Если лечение бисептолом малоэффективно, применяют антибиотики **амикацин, имипинем, цефотаксим** и другие антибиотики.
- Поскольку некоторые антибиотики не проникают внутрь полостей абсцесса и гранулём, в некоторых случаях требуется хирургическое вмешательство.

Возбудители актиномицетомы:

- Актиномицетома является одним из видов мицетом и образуется при заражении, в основном, актиномицетами *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Streptomyces somaliensis* и *Actinomadura madurae* .
- Возбудители актиномицетомы обитают в почве и на поверхности растений.

Актиномицетома

Возбудитель проникает в организм через повреждённую кожу. Постепенно образуются папула, глубокие узлы и абсцессы.

Деструктивный процесс распространяется на фасции, мышцы и кости. Развивается фибринозная ткань. Стопа опухает и процесс, проникая в кости, приводит к деформации стопы. Из фистул, открывающихся на поверхность кожи, выделяется гной.



Актиномицетома

Микробиологическая диагностика и лечение:

- *Микроскопический метод* — основан на обнаружении друз и разветвлённых актиномицетов в гное и биоптатах..
- **Лечение:**
 - стрептомицин,
 - комбинация сульфаметоксазол-триметоприма и дапсона
 - хирургическое вмешательство (ампутация поражённой конечности)