

**Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
“Уральский Государственный медицинский университет”
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Литусов Н.В.

МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Иллюстрированное учебное пособие

Екатеринбург, 2015

УДК 612

Рецензент: доктор медицинских наук профессор кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО УГМУ Борзунов В.М.

Литусов Н.В. Микобактерии туберкулеза. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМУ, 2015. - 52 с.

В иллюстрированном учебном пособии рассматриваются вопросы истории открытия и изучения возбудителей туберкулеза, морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства микобактерий туберкулеза, особенности развития заболевания, клинические симптомы туберкулеза, методы диагностики, профилактики и лечения заболевания. Учебное пособие включает вопросы для самоконтроля усвоения темы, тренировочные тесты, список учебной и методической литературы.

Учебное пособие предназначено для внеаудиторной подготовки и контроля усвоения материала студентами, обучающимися по специальностям 060101 (лечебное дело), 060103 (педиатрия), 060105 (медико-профилактическое дело), 060201 (стоматология) и 060301 (фармация) при освоении дисциплин Микробиология и Иммунология.

© Литусов Н.В.

© УГМУ, 2015

Содержание

Историческая справка	4
Систематика микобактерий.....	11
Морфологические и тинкториальные свойства	12
Культуральные свойства.....	15
Резистентность микобактерий	18
Эпидемиология	18
Факторы патогенности возбудителя туберкулеза.....	20
Патогенез туберкулеза	21
Клиника	27
Диагностика	29
Лечение туберкулеза	38
Профилактика туберкулеза	41
Вопросы для контроля усвоения материала	42
Тестовые задания.....	42
Приложения	47
Приложение 1.....	47
Приложение 2.....	47
Приложение 3.....	48
Приложение 4.....	49
Приложение 5.....	49
Список использованных источников	50

Историческая справка

Туберкулез – это первично хроническое инфекционное заболевание человека, сопровождающееся образованием в различных органах специфических гранул (лат. *granulum* – зернышко), представляющих собой воспалительную реакцию в виде узелков или бугорков (лат. *tuberculum* – бугорок) с последующим их творожистым распадом и обызвествлением. После инфицирования заболевание чаще всего протекает бессимптомно (тубинфицированность), но примерно каждый десятый случай переходит в активную форму заболевания, которая при отсутствии лечения в 50% заканчивается летально.

С глубокой древности это заболевание было известно под названиями чахотка (от слова чахнуть), бугорчатка (из-за характерных патологоанатомических изменений в легких). В XVIII-XIX веках легочная форма туберкулеза преимущественно была распространена среди беднейших слоев населения, проживающего в сырых подвальных помещениях (“пролетарская болезнь”), но встречалась также и среди благополучных слоев населения. Чахоткой болели Вольфганг Амадей Моцарт, Фредерик Франсуа Шопен, Николай Алексеевич Некрасов, Антон Павлович Чехов. “Чахоточный вид” в то время был в моде: дамы затягивались в корсеты, пили уксус “для томной бледности” и закапывали белладонну в глаза “для лихорадочного блеска”. Сохранилось предание, что флорентийка Симонетта Веспуччи, которая позировала Сандро Боттичелли при написании картины “Рождение Венеры”, умерла в возрасте 22 лет от туберкулеза. О наличии у натурщи туберкулезного поражения плечевого пояса свидетельствует опущенное левое плечо (рисунок 1).

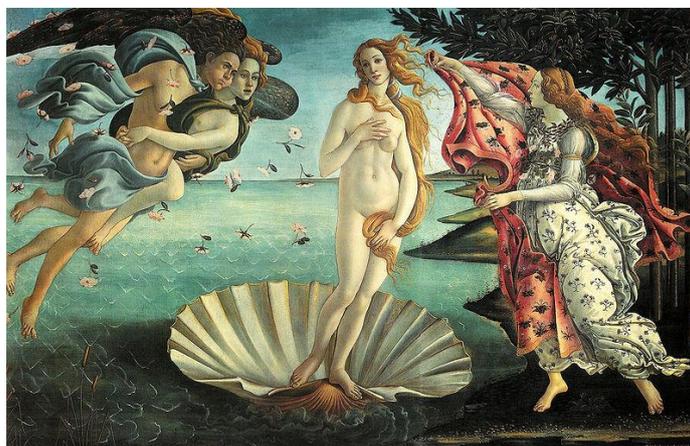


Рисунок 1 – Сандро Боттичелли “Рождение Венеры”.

Именно археологические находки костей человека с признаками туберкулезного поражения свидетельствуют о том, что это заболевание было распространено уже в третьем тысячелетии до нашей эры. В V веке до н. э. знаменитый древнегреческий врач Гиппократ (рисунок 2) описал туберкулез как самую распространенную болезнь. Древние греки называли эту болезнь “фтизис” – чахотка, истощение.

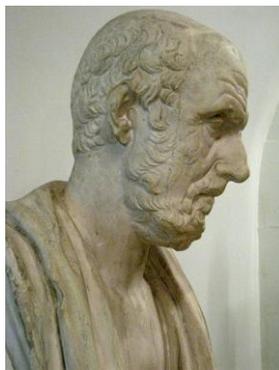


Рисунок 2 – Гиппократ (Hippocratis, около 460 г. до н. э.-между 377-356 гг. до н. э.).

В XVII веке голландский врач Ф. Сильвий (рисунок 3) впервые связал обнаруженные на вскрытии бугорки (гранулемы) в различных органах с туберкулезом.



Рисунок 3 – Франциск Сильвий (Franciscus Sylvius, 1614-1672 гг.).

Первое описание клинической и анатомической картины туберкулеза легких представил в 1819 г. французский врач Р. Лаэннек (рисунок 4), изобретатель стетоскопа. Он первым описал туберкулезный бугорок и казеозный некроз (морфологические проявления туберкулеза), а также ввел термин “туберкулез” или *tuberculosis* (лат. *tuberculum* – бугорок). Поэтому туберкулез часто называют бугорчаткой.



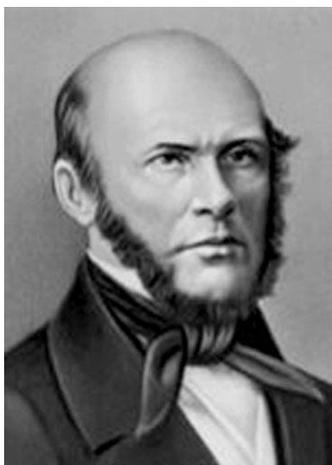
Рисунок 4 – Рене Лаэннек (Rene-Theophile-Hyacinthe Laennec, 1781-1826 гг.).

В 1865 г. французский врач Ж.А. Вильмен (рисунок 5) обнаружил, что морские свинки заражаются туберкулезом при пропитывании подстилки мокротой больных людей. Таким способом он экспериментально установил инфекционную природу этого заболевания и механизм заражения.

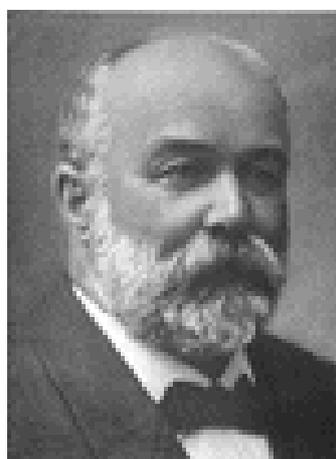


Рисунок 5 – Жан Антуан Вильмен (Jean Antoine Villemin, 1827-1892 гг.).

Российский ученый Н.И. Пирогов в 1852 г. описал присутствующие в туберкулезном очаге гигантские клетки. В 1868 г. швейцарский анатом и патолог Т. Лангханс также обнаружил в туберкулезном бугорке многоядерные клетки с периферическим расположением овальных ядер. В последующем эти клетки получили название клеток Пирогова-Лангханса (рисунок 6).



А



Б

Рисунок 6 – А - Николай Иванович Пирогов (1810-1881 гг.) и Б - Теодор Лангханс (Langhans Theodor, 1839-1915 гг.).

В 1882 г. немецкий бактериолог Р. Кох (рисунок 7) после 17 лет исследований впервые обнаружил возбудителя туберкулеза при микроскопическом исследовании мокроты больного человека. При этом Р. Кох применил окраску препарата везувином и метиленовым синим. Возбудителя назвали бациллой (палочкой) Коха. 24 марта 1882 г. Р. Кох сообщил о том, что ему удалось выделить бактерию, вызывающую туберкулез. В связи с этим ВОЗ объявила 24 марта

Всемирным днем борьбы с туберкулезом. Позднее Р. Кох получил чистую культуру возбудителя на сывороточной среде.

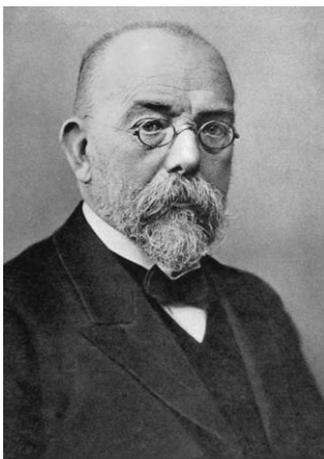


Рисунок 7 – Роберт Кох (Heinrich Hermann Robert Koch, 1843-1910 гг.).

В 1890 г. Р. Кох получил туберкулин – “водно-глицериновую вытяжку туберкулезных культур”. Он предполагал использовать туберкулин для диагностики, профилактики и даже лечения туберкулеза. Однако в дальнейшем была установлена высокая эффективность туберкулина только в диагностике заболевания. В 1905 г. Р. Кох за исследования возбудителя туберкулеза был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

В 1882-1884 гг. немецкие ученые Франц Циля (F. Ziehl, 1857-1926 гг.) и Ф. Нельсен (рисунок 8) предложили метод окраски кислотоустойчивых бактерий карболовым фуксином при нагревании в пламени горелки (метод термокислотного протравливания). Метод Циля-Нельсена до сих пор используется в диагностике туберкулеза.



Рисунок 8 – Фридрих Нельсен (Friedrich Karl Adolf Neelsen, 1854-1894 гг.).

Немецкий ученый Р. Вирхов (рисунок 9) подробно описал патологоанатомические изменения тканей при туберкулезе.



Рисунок 9 - Рудольф Вирхов (Rudolf Ludwig Karl Virchow, 1821-1902 гг.).

В 1904 г. российский патологоанатом А.И. Абрикосов (рисунок 10) описал очаговые изменения в легких на рентгенограмме при начальных проявлениях туберкулеза у взрослых (очаг Абрикосова).



Рисунок 10 – Алексей Иванович Абрикосов (1875-1955 гг.).

В 1907 г. австрийский педиатр К. Пирке (рисунок 11) предложил кожную пробу с туберкулином для выявления людей, инфицированных микобактериями туберкулеза.



Рисунок 11 – Клеменс фон Пирке (Clemens Peter Freiherr von Pirquet, 1874-1929 гг.).

В 1910 г. французский исследователь Шарль Манту (рисунок 12) и немецкий исследователь Феликс Мендель предложили внутрикожный метод введения туберкулина, который оказался чувствительнее кожного.



Рисунок 12 – Шарль Манту (Charles Mantoux, 1877-1947 гг.).

В 1912 г. австрийский ученый А. Гон (рисунок 13) описал специфическое туберкулезное поражение в легких – обызвествленный первичный очаг (очаг Гона).



Рисунок 13 – Антон Гон (Anton Ghon, 1866-1936 гг.).

В 1919 г. французские исследователи микробиолог А. Кальметт и ветеринарный врач К. Герен (рисунок 14) получили вакцинный штамм микобактерий туберкулеза (бациллы Кальметта-Герена, BCG – Bacilles Calmette-Guérin или БЦЖ). Этот штамм они селекционировали в результате 230 пересевов в течение 13 лет возбудителя туберкулеза бычьего типа на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи.

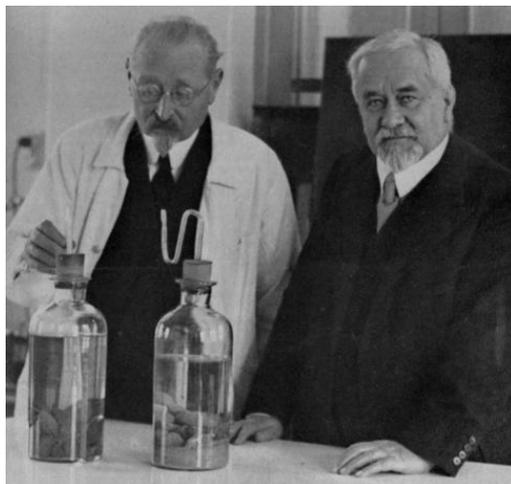


Рисунок 14 – Альберт Кальметт (Leon Charles Albert Calmette, 1863-1933 гг., справа) и Камиль Герен (Jean-Marie Camille Guerin, 1872-1961 гг., слева)

Во Франции 18 июня 1921 г. вакцина БЦЖ была впервые введена новорожденному ребенку. Этот день считается днем рождения БЦЖ. В 1925 г. А. Кальметт передал вакцинный штамм в СССР профессору Л.А. Тарасевичу. Через 3 года изучения было установлено, что вакцина безвредна, а смертность от туберкулеза среди вакцинированных была сравнительно меньше, чем среди невакцинированных. В 1928 г. вакцину БЦЖ стали вводить новорожденным в очагах туберкулезной инфекции. В середине 1950-х годов вакцинация новорожденных стала обязательной.

В 1943 г. американский микробиолог З.А. Ваксман (рисунок 15) получил стрептомицин – первый противотуберкулезный антибиотик.



Рисунок 15 – Зельман Абрахам Ваксман (Selman Abraham Waksman, 1888-1973 гг.).

В 1952 г. З.А. Ваксман за открытие стрептомицина – первого противотуберкулезного антибиотика был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

Систематика микобактерий

Микобактерии относятся к домену *Bacteria*, отделу *Firmicutes*, типу *Actinobacteria*, классу *Actinobacteria*, порядку *Actinomycetales*, семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. Этот род объединяет более 120 видов, большинство из которых являются сапрофитными микроорганизмами, широко распространенными во внешней среде.

Все микобактерии **по патогенности** распределяются на 3 группы:

- патогенные микобактерии (возбудители туберкулеза и лепры);
- потенциально патогенные (атипичные) микобактерии (возбудители микобактериозов – патологических процессов, поражающих легкие, лимфатические узлы и кожу);
- сапрофитные микобактерии (непатогенные).

По скорости роста на питательных средах микобактерии подразделяются на 3 группы:

- быстрорастущие микобактерии, образующие колонии менее чем за 7 дней (возбудители микобактериозов, представители нормальной микрофлоры и сапрофитные микобактерии, например, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis* и др.);
- медленно растущие микобактерии, образующие видимые колонии через 7 дней и более (возбудители туберкулеза);
- микобактерии, не растущие на питательных средах (возбудитель лепры или проказы).

Непатогенные микобактерии по скорости роста и цвету колоний подразделяются на 4 группы:

- фотохромогенные микобактерии, образующие колонии ярко-желтой или желто-оранжевой окраски при выращивании только на свету;
- скотохромогенные микобактерии, образующие колонии ярко-оранжевой окраски при выращивании как на свету, так и в темноте;
- нефотохромогенные микобактерии, образующие неокрашенные или бледно-желтые колонии независимо от освещенности;
- быстрорастущие микобактерии, формирующие колонии в течение 7-10 дней.

Туберкулез у человека может быть вызван следующими видами микобактерий: *M. tuberculosis* (палочка Коха, человеческий вид - вызывает заболевание в 92% случаев), *M. bovis* (бычий вид - вызывает заболевание в 5% случаев), *M. africanum* (промежуточный вид - вызывает заболевание в 3% случаев, особенно в Южной Африке).

Микобактерии, патогенные для человека и животных и вызывающие у них туберкулез, являются микобактериями туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis complex* - МТВС). Этот комплекс включает следующие виды: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*. *M. microti* является вариантом *M. tuberculosis*, адаптированным к организму мышей, а *M. canetti* представляет собой вариант *M. tuberculosis*, образующий гладкие колонии. Микобактерии, патогенные для человека и животных и вызывающие у них диссеминированные процессы внелегочной локализации, являются микобактериями avium-комплекса (MAC). В состав этого комплекса

входят *M. avium*, *M. avium paratuberculosis*, *M. avium silvaticum*, *M. avium hominissuis*, *M. colombiense*.

Морфологические и тинкториальные свойства

Микобактерии туберкулеза имеют вид прямых или слегка изогнутых палочек длиной 1-10 мкм, диаметром 0,2-0,6 мкм (рисунок 16).

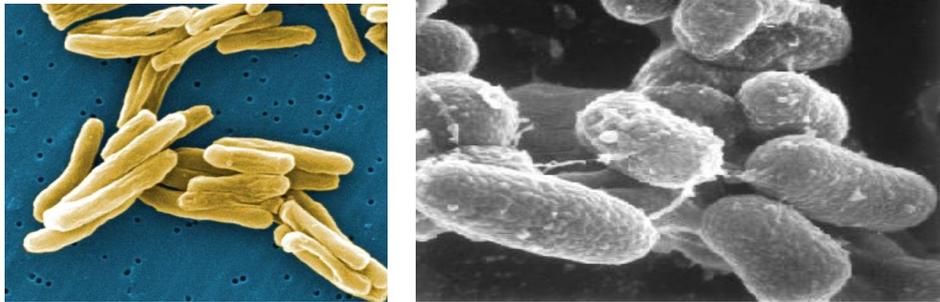


Рисунок 16 – Микобактерии туберкулеза: а – компьютерное изображение, б – снимок, сделанный с помощью сканирующего микроскопа.

Иногда они образуют нитевидные структуры, напоминающие мицелий грибов, что и послужило основанием для их названия: *mykes* - гриб и *bacterium* – бактерия (рисунок 17).

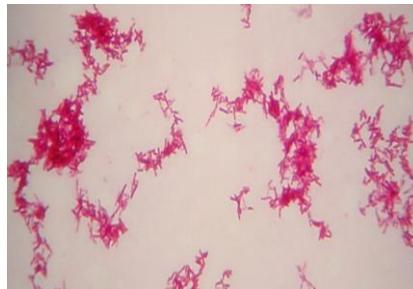


Рисунок 17 – Образование микобактериями нитевидных структур, напоминающих мицелий грибов.

Микобактерии неподвижны, спор не образуют, имеют микрокапсулу (рисунки 18 и 19).

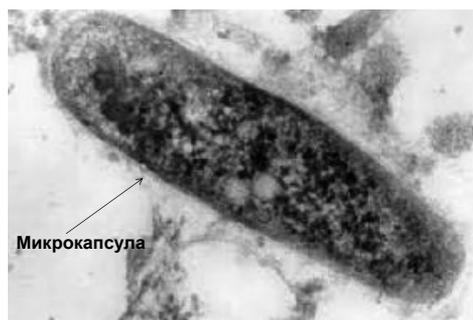


Рисунок 18 – Микрокапсула микобактерий.

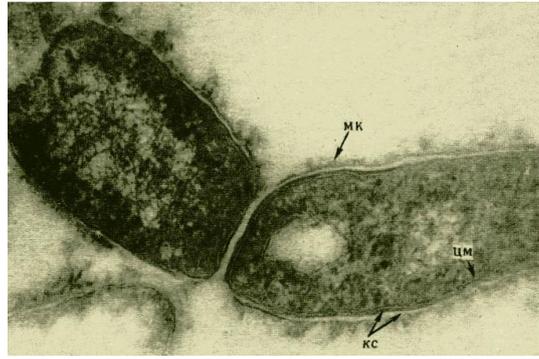


Рисунок 19 - Электронная микрофотография *M. tuberculosis*. МК – микрокапсула; КС - клеточная стенка; ЦМ - цитоплазматическая мембрана.

Микрокапсула микобактерий состоит из гликопептидов, то есть представляет собой сложный эфир трегаллозы и миколовой кислоты (рисунок 20).

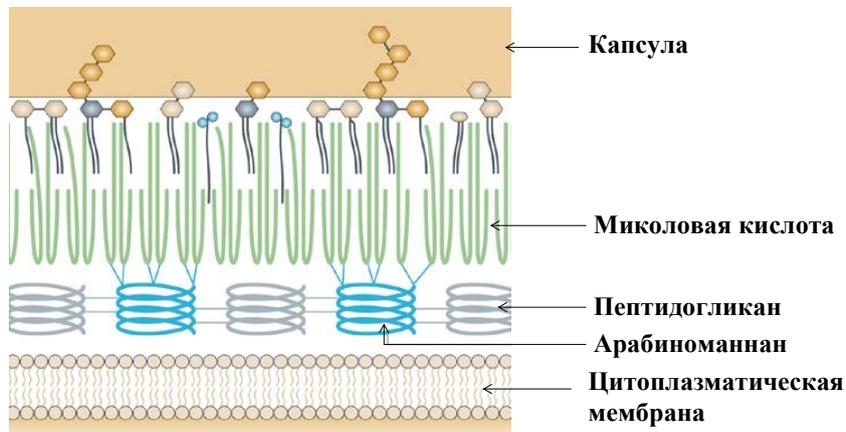


Рисунок 20 – Схематическое расположение капсулы и компонентов клеточной стенки микобактерий.

Микобактерии имеют особую клеточную стенку. В составе клеточной стенки микобактерий присутствуют специфические соединения: внешние липиды, миколовые кислоты, липоарабиноманнан, маннозиды, полисахариды и пептидогликан (рисунок 21).

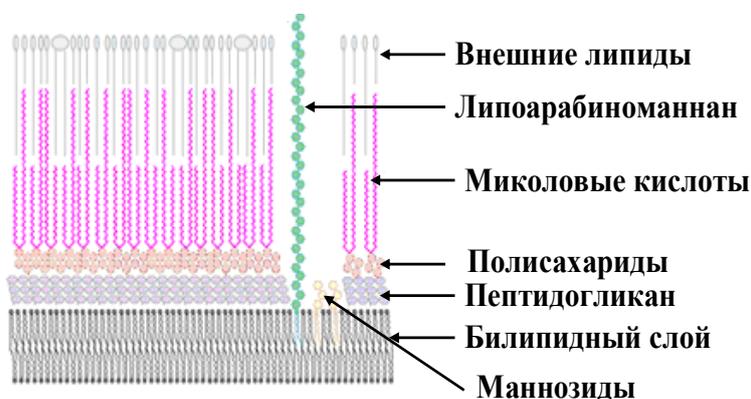


Рисунок 21 – Строение клеточной стенки микобактерий.

Пептидогликан представляет собой первичный каркас клеточной стенки. Снаружи от пептидогликана располагается слой полисахаридов, представленный арабиногалактанами. Полисахаридный слой изнутри связан с пептидогликаном, а снаружи – с миколовыми кислотами. Миколовые кислоты представлены свободными сульфолипидами и корд-фактором. Слой внешних липидов называют микозидами (специфическими восками), определяющими антигенные свойства микобактерий. Липоарабиноманнан закреплен на цитоплазматической мембране, пронизывает клеточную стенку и выходит на поверхность микробной клетки терминальными фрагментами (маннозными радикалами). Клеточная стенка пронизана порами, обеспечивающими транспорт веществ.

Высокое содержание липидов определяет **спиртоустойчивость, щелочеустойчивость и кислотоустойчивость** микобактерий, затрудняет окрашивание микобактерий обычными методами, обуславливает вирулентность и длительную сохраняемость микобактерий в окружающей среде. Кроме того, липиды экранируют бактериальную клетку, подавляют фагоцитоз, блокируют активность клеточных ферментов, а терминальные фрагменты липоарабиноманнана подавляют активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов.

Микобактерии являются грамположительными микроорганизмами, хотя при окраске по Граму они не прокрашиваются кристалливиолетом. К группе грамположительных бактерий они относятся в связи с отсутствием внешней клеточной мембраны.

Для выявления микобактерий применяют **метод окраски по Цилю-Нельсену** (термокислотное протравливание карболовым фуксином). При этом микобактерии окрашиваются в красный цвет и располагаются одиночно или скоплениями по 2-3 клетки, образуя римскую цифру V (рисунок 22).

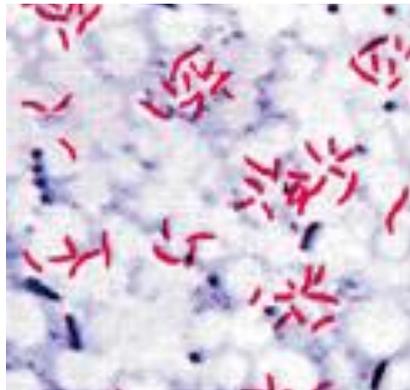


Рисунок 22 – Окраска микобактерий по Цилю-Нельсену.

В цитоплазме клеток могут обнаруживаться от 2 до 12 гранул, состоящих из липидов или метафосфатов (**зерна Муха**).

Для окраски туберкулезных бактерий при люминесцентной микроскопии используют аурамин или родамин. При этом микобактерии приобретают золотисто-оранжевое свечение (рисунок 23).

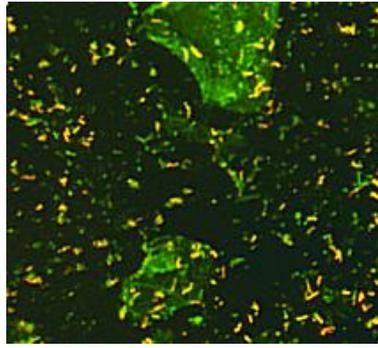


Рисунок 23 – Люминесцентная микроскопия микобактерий.

Микобактерии содержат белки (туберкулопротеины), полисахариды и липиды. **Туберкулопротеины** составляют до 56% сухой массы вещества микробной клетки. Они являются основными носителями антигенных свойств микобактерий, высокотоксичные. Вызывают формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). **Полисахариды** составляют до 15% сухой массы клетки. Являются гаптенами. **Липиды** составляют до 40% сухой массы клеток. Обнаружено три фракции липидов: **фосфатидная** (растворимая в эфире), **жировая** (растворимая в эфире и ацетоне), **восковая** (растворимая в эфире и хлороформе). Липиды представлены миколовой, фтионовой, масляной, пальмитиновой, туберкулостеариновой кислотами.

Культуральные свойства

Mycobacterium tuberculosis является облигатным аэробом, а *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium africanum* – аэрофилами. Оптимальная температура роста 37-38°C. Растут медленно из-за наличия в клеточной стенке липидов, замедляющих обмен веществ с окружающей средой.

Внутриклеточное дыхание микобактерий осуществляют оксидоредуктазы, из которых особый интерес представляют каталаза и пероксидаза, так как с ними связана вирулентность возбудителей. *M. tuberculosis* в большом количестве образует никотиновую кислоту (ниацин), которая накапливается в жидкой питательной среде и дает с раствором цианида калия и хлорамином Б ярко-желтое окрашивание - **ниациновая проба Конно** (рисунок 24).

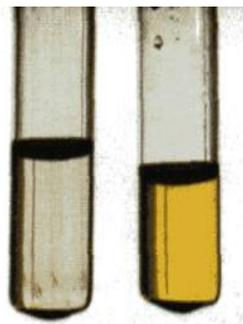


Рисунок 24 - Ниациновый тест на способность микобактерий туберкулеза синтезировать никотиновую кислоту (ниацин). Левая пробирка – контроль.

Микобактерии очень требовательны к питательным средам. Нуждаются в присутствии в средах глицерина (**глицеринзависимые бактерии**), яичного желтка, сыворотки крови, факторов роста (биотина, никотиновой кислоты), солей магния, калия, натрия, железа, активированного угля. Для подавления роста сопутствующих микроорганизмов в среды добавляют пенициллин или малахитовый зеленый. Микобактерии туберкулеза размножаются простым делением. Цикл деления составляет 14-18 часов.

Элективными питательными средами для микобактерий являются:

- яичные среды Левенштейна-Йенсена (рисунок 25), Финн-2;
- глицериновые агаровые среды Миддлбука;
- картофельные среды с желчью (среда Петраньяни);
- полусинтетическая среда Школьниковой;
- синтетические среды Сотона, Дюбо.



Рисунок 25 – Питательная среда Левенштейна-Йенсена.

Наиболее часто для выращивания микобактерий используют плотные яичные среды Левенштейна-Йенсена и Финна-2. Эти среды рекомендованы ВОЗ в качестве стандартных при диагностике туберкулеза. Они выпускаются в готовом виде в специальных пробирках с завинчивающимися пробками, предохраняющими среду от высыхания (рисунок 26).



Рисунок 26 - Коммерческая готовая среда Левенштейна-Йенсена.

На таких средах на 15-40 день культивирования микобактерии туберкулеза образуют неправильной формы шероховатые плотные крошковатые колонии кремового цвета (цвет “слоновой кости”) бородавчатого вида, напоминающие кочаны цветной капусты (рисунок 27).



Рисунок 27 – Характер роста микобактерий туберкулеза на среде Левенштейна-Йенсена.

На средах с желчью микобактерии образуют сероватый маслянистый налет.

В жидких питательных средах на 7-10 день после посева появляется пленка, которая постепенно утолщается, становится морщинистой, приобретает желтоватый (кремовый) цвет. При этом среда остается прозрачной (рисунок 28).



Рисунок 28 – Характер роста микобактерий туберкулеза в жидкой питательной среде.

При выращивании в жидкой питательной среде на стекле (**метод Прайса**) микобактерии туберкулеза образуют структуры, напоминающие жгуты, косы, веревки. Эти структуры называются корд-факторомом (рисунок 29).

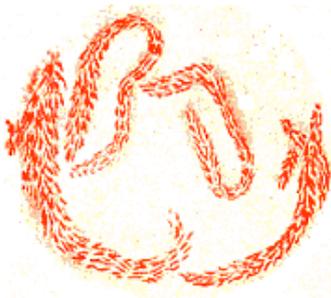


Рисунок 29 – Корд-фактор *M. tuberculosis* - палочки расположены в виде жгутов.

Резистентность микобактерий

Из всех не образующих спор бактерий микобактерии являются самыми устойчивыми к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. В высушенной мокроте микробные клетки сохраняют жизнеспособность и вирулентность в течение 5-6 месяцев. При кипячении погибают через 5-7 минут. Сухой жар выдерживают до 60 минут. На предметах больного сохраняются более 3 месяцев. В почве сохраняются до 6 месяцев, в воде – до 15 месяцев, в навозе – 2 года. В уличной пыли микобактерии туберкулеза сохраняются в течение 10 дней, на страницах книг – до 3 месяцев. В сливочном масле микобактерии могут сохраняться до 240 дней, в сыре - до 200 дней. Солнечный свет вызывает гибель микобактерий через 1,5 часа, УФЛ – через 2-3 минуты. При пастеризации микобактерии погибают через 30 минут.

Весьма устойчивы микобактерии к действию низких температур. Они относительно устойчивы к действию обычных дезинфицирующих веществ: 5%-ный раствор фенола вызывает гибель туберкулезных палочек лишь через 6 часов. Соединения, выделяющие свободный активный хлор (3-5% растворы хлорамина, 10-20% растворы хлорной извести), вызывают гибель возбудителя туберкулеза в течение 3-5 часов.

Эпидемиология

Резервуаром и источником туберкулезной инфекции являются больные люди, животные и птицы. Основным источником инфекции является больной человек, распространяющий микобактерии (бацилловыделитель). Заболевание туберкулезом легких у человека в 50% случаев сопровождается бактериовыделением. Именно этот контингент больных является основным источником инфицирования. Особое значение имеет прямой, длительный и тесный контакт здорового человека с бацилловыделителем.

В патогенезе первичного туберкулеза у детей наиболее значимыми являются пути первичного экзогенного инфицирования. При этом наиболее частым механизмом заражения является аэрогенный, а входными воротами – слизистая оболочка полости рта, миндалина, бронхи и легкие. При аэрогенном механизме заражения происходит как воздушно-капельным, так и воздушно-пылевым путем. В среднем частицы мокроты рассеиваются на расстоянии 1 м прямо перед больным.

Реже заболевание возникает при реализации алиментарного (через пищеварительный канал), контактного и внутриутробного (трансплацентарного) пути передачи возбудителя, когда входными воротами служит слизистая оболочка кишечника или другие органы. Причем при алиментарном заражении для развития заболевания требуется значительно большее количество возбудителя, чем при аэрогенном инфицировании.

Туберкулез распространен повсеместно. В соответствии с данными ВОЗ, около 2 млрд. людей инфицировано возбудителем туберкулеза. В настоящее время ежегодно заболевает примерно 9 млн. человек во всем мире, из них 3 млн. человек умирает. Росту заболеваемости туберкулезом способствуют неблагоприятные

социально-экономические факторы и широкое распространение штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам.

Основной источник инфекции – человек, больной туберкулезом органов дыхания и выделяющий возбудителя в окружающую среду с мокротой. Второстепенную роль играют больные сельскохозяйственные животные (крупный рогатый скот, свиньи, овцы) и люди, больные внелёгочными формами туберкулеза. В 90-95% случаев отмечается **аэрогенный механизм** заражения. Пути заражения - **воздушно-капельный и воздушно-пылевой** (рисунок 30).

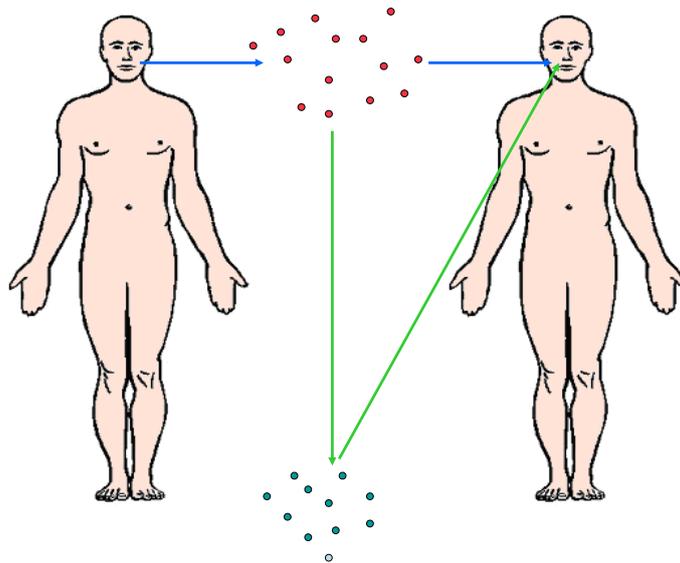


Рисунок 30 – Аэрогенный механизм заражения туберкулезом.

При кашле, чихании, разговоре в выдыхаемом воздухе больного туберкулезом содержатся частицы диаметром около 10 мкм (капельные ядрышки). Жидкое содержимое таких частиц в атмосферном воздухе испаряется, поэтому подобные частицы длительное время остаются во взвешенном состоянии. Каждая частица может содержать от 3 до 10 клеток *M. tuberculosis*. Пылевые частицы меньше капельных ядрышек, способны повторно подниматься в воздух, находиться длительное время в дисперсном состоянии и обуславливать воздушно-пылевой путь инфицирования. При аэрогенном заражении частицы размером более 5 мкм задерживаются в полости носа, а мелкие частицы (около 1 мкм) могут достигать альвеол.

Реже заражение человека происходит **алиментарным путем** - при употреблении молока и мяса от больных животных без предварительной термической обработки. Кислотоустойчивость микобактерий при этом способствует преодолению кислого содержимого желудка.

Иногда наблюдается заражение **контактно-бытовым путем** через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки при использовании предметов больного человека (одежды, посуды, книг и др.) или при уходе за больными животными. Контактное заражение возможно от больного туберкулезом, при использовании инфицированной одежды, игрушек, книг, посуды и других предметов. Описаны случаи заражения у хирургов, патологоанатомов, мясников. Редко возможно инфицирование через конъюнктиву глаз и плаценту.

Рост заболеваемости наблюдается при снижении уровня жизни населения, в лагерях беженцев, следственных изоляторах, тюрьмах. Однако в настоящее время нельзя четко установить зависимость заболеваемости туберкулезом от условий жизни людей.

Факторы патогенности возбудителя туберкулеза

Факторами патогенности микобактерий являются:

- **корд-фактор** – гликолипид клеточной стенки (эфир трегаллозы и миколовой кислоты), вызывающий повреждение клеточных мембран;
- **липиды**, содержащие миколовую, фтионовую, масляную, пальмитиновую, туберкулостеариновую кислоты, вызывающие появление многочисленных гигантских клеток;
- **сульфатиды** - серосодержащие поверхностные гликолипиды, усиливающие токсическое и антифагоцитарное действие корд-фактора, препятствующие слиянию фагосомы с лизосомой;
- **липоарабиноманнан (LAM)** – гетерополисахарид, подавляющий активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов, вызывающий секрецию макрофагами ФНО (под действием ФНО развивается лихорадка, отмечается снижение веса) и ИЛ-10 (тормозит пролиферацию Т-клеток);
- **микозиды** – специфические воска, образующие защитный экран на поверхности клетки.

Возбудители туберкулеза не образуют экзотоксинов. Высокотоксичными являются продукты распада бактериальных клеток.

Главным фактором патогенности микобактерий является **корд-фактор** (англ. *cord* - жгут, веревка) - гликолипид, располагающийся в клеточной стенке и способствующий образованию жгутов, кос (рисунок 31).

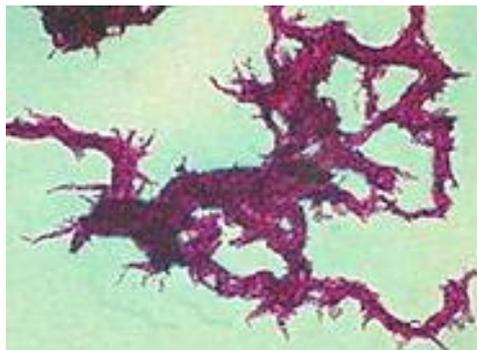


Рисунок 31 – Корд-фактор микобактерий туберкулеза.

Корд-фактор обуславливает “скупенный рост” бактерий в жидких средах в виде извилистых тяжей (или кос), в которых клетки микобактерий располагаются параллельными цепочками. Авирулентные и условно-патогенные микобактерии корд-фактора не образуют и растут беспорядочно. Особенно хорошо выявляется корд-фактор при микрокультивировании бактерий на стекле в жидкой среде, то есть при использовании **метода микрокультур Прайса** (рисунок 32).

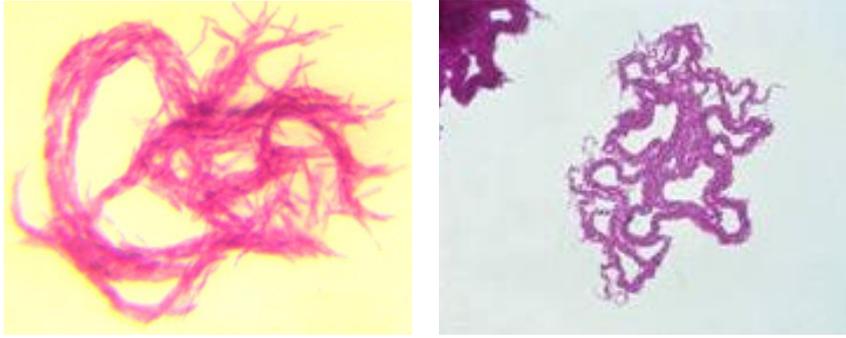


Рисунок 32 – Рост микобактерий туберкулеза при выращивании методом микрокультивирования по Прайсу.

При люминесцентной микроскопии корд-фактор проявляется в виде мицелия грибов (рисунок 33).

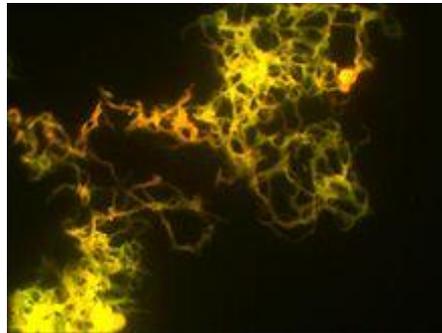


Рисунок 33 – Проявление корд-фактора при люминесцентной микроскопии.

Корд-фактор представляет собой сложный эфир трегаллозы и двух остатков миколовой кислоты. Корд-фактор подавляет миграцию лейкоцитов, повреждает мембраны митохондрий, ингибирует образование фаголизосомы, способствует адгезии микробной клетки. Наличие корд-фактора приводит к тому, что фагоцитоз при туберкулезе носит незавершенный характер.

Липиды препятствуют слиянию фагосом и лизосом, подавляют активность лизосомальных ферментов, вызывают появление гигантских клеток.

Патогенез туберкулеза

Основное значение для развития туберкулеза имеют доза поступившего в организм возбудителя, длительность поступления возбудителя, состояние неспецифических и специфических факторов защиты организма. Неповрежденная слизистая оболочка полости рта, носоглотки и верхних дыхательных путей являются непроницаемыми для микобактерий туберкулеза. Этому способствуют такие неспецифические защитные факторы как лизоцим слюны и секреторный иммуноглобулин А. Кроме того в нормальных условиях органы дыхания защищены от проникновения микобактерий мукоцилиарным аппаратом. Мерцательный эпителий и слизь, образуемая бокаловидными клетками, выводят попавшие микобактерии из дыхательной системы (рисунок 34).

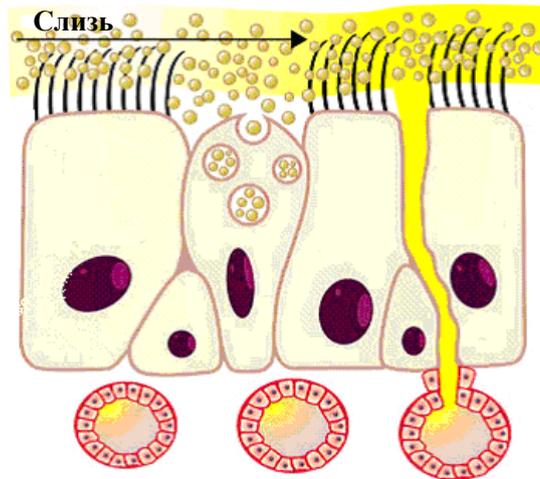


Рисунок 34 – Строение слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

При воспалении дыхательных путей, под воздействием токсических факторов вероятность проникновения микобактерий в бронхиолы и альвеолы увеличивается. Попавшие в глубокие отделы легких микобактерии с помощью корд-фактора при участии маннозного рецептора и рецепторов системы комплемента связываются и захватываются альвеолярными макрофагами. Внутри альвеолярных макрофагов микобактерии либо размножаются, либо не размножаются в зависимости от бактерицидной активности макрофагов и вирулентности микобактерий. В случае разрушения альвеолярных макрофагов при размножении микобактерий освобождающиеся микробные клетки захватываются моноцитами, выходящими из кровотока под влиянием хемотаксиса.

В макрофагах микобактерии находятся в микобактериальных фагосомах и нарушают процесс слияния фагосома с лизосомой. В результате этого фаголизосома не образуется, поэтому лизосомальные ферменты макрофагов не могут воздействовать на поглощенные микобактерии. Таким образом, фагоцитоз при инфицировании возбудителем туберкулеза является незавершенным (рисунок 35).

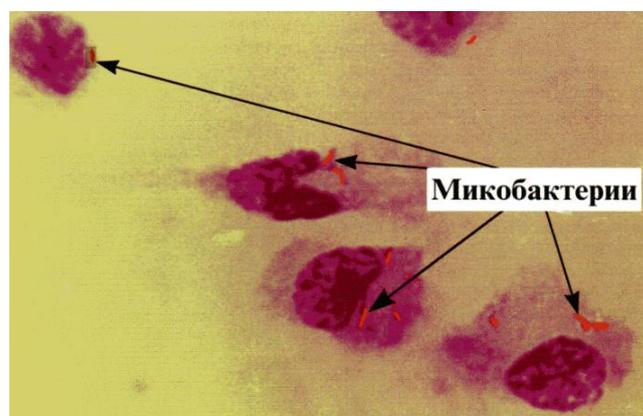


Рисунок 35 – Незавершенный фагоцитоз микобактерий.

В макрофагах микобактерии транспортируются в регионарные лимфатические узлы, длительное время сохраняясь в “дремлющем” состоянии. При

этом происходит воспаление лимфатических путей (**лимфангоит**) и лимфатических узлов (**лимфаденит**).

В случае размножения микобактерий внутри макрофагов клетка-хозяин погибает, а микобактерии высвобождаются и поглощаются другими макрофагами. В месте нахождения фагоцитированного возбудителя образуется гранулема или формируется специфическое первичное поражение (рисунок 36).

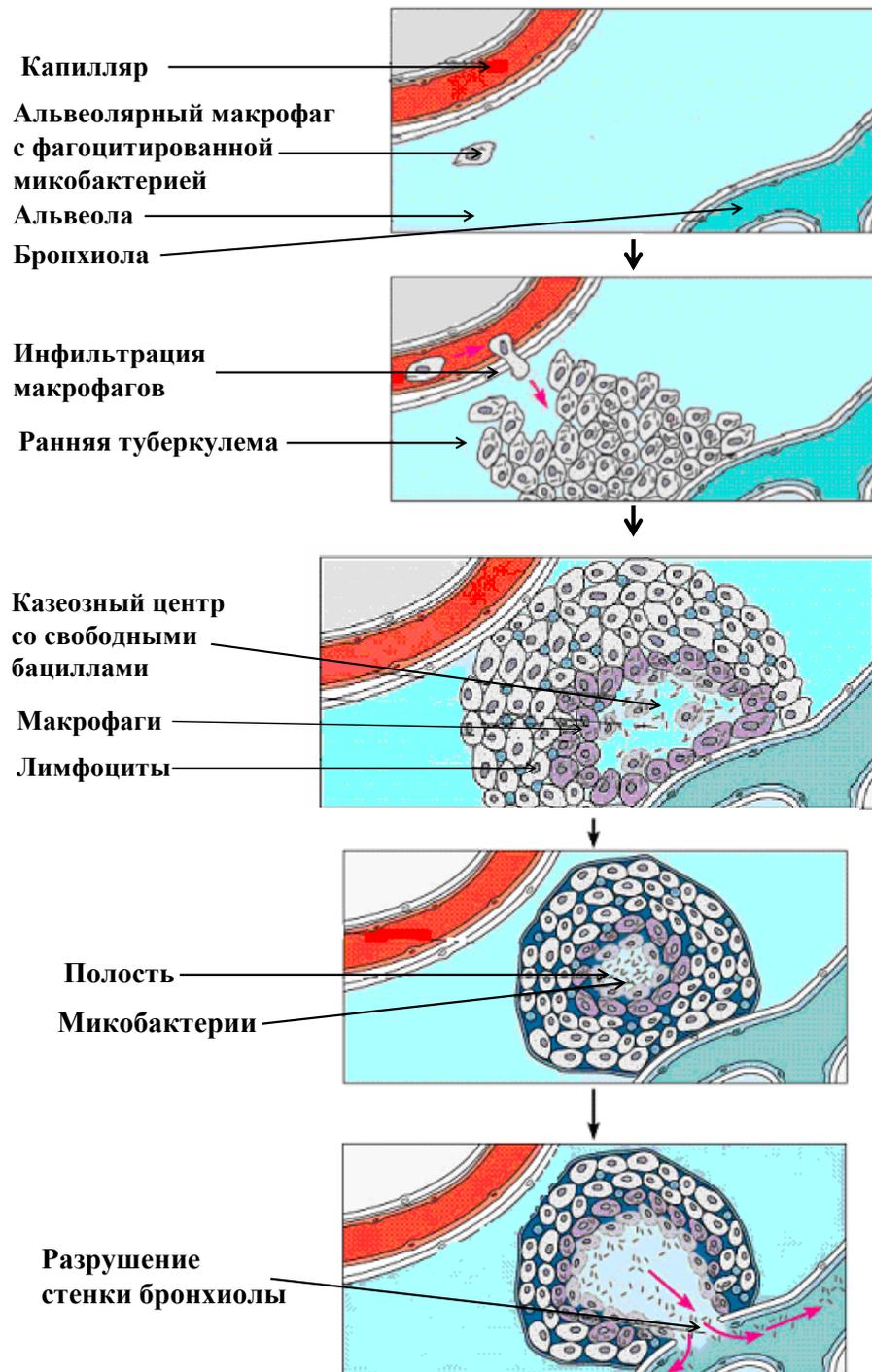


Рисунок 36 – Схема размножения микобактерий в легких.

В последующем возможна транспортировка микобактерий в другие участки легкого, лимфатические узлы и различные органы (рисунок 37).

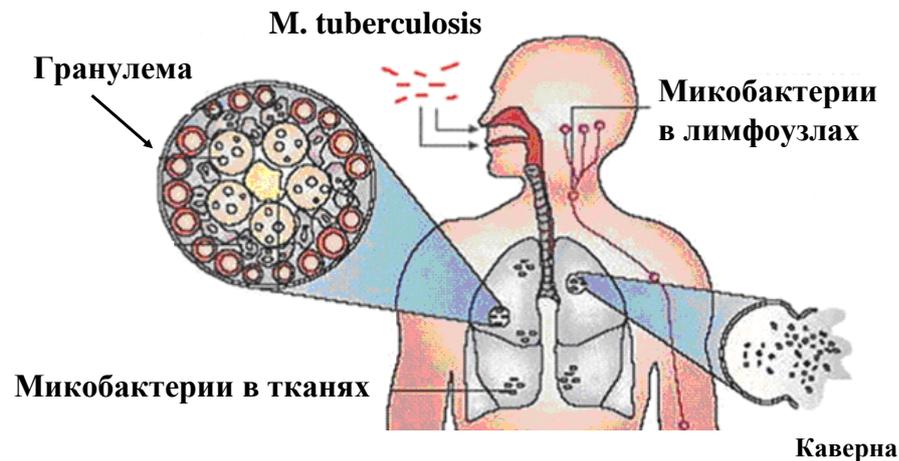


Рисунок 37 – Патогенез туберкулеза.

Формирование гранулемы происходит следующим образом.

1. Попадание микобактерий в организм аэрогенным путем.
2. Поглощение бактерий макрофагами.
3. Формирование в макрофагах фагосом, внутри которых происходит размножение возбудителя.
4. Трансформация активированных макрофагов, внутри которых находятся живые микобактерии, в эпителиоидные клетки. Гибель части макрофагов с образованием казеозных некротических масс.
5. Слияние эпителиоидных клеток друг с другом и образование гигантских клеток Пирогова-Лангханса.
6. Окружение очага снаружи лимфоидными клетками, в том числе Т-лимфоцитами.
7. Отграничение гранулемы от здоровых тканей пролиферирующими фибробластами.

В гигантских многоядерных клетках Пирогова-Лангханса обнаруживается большое количество микобактерий (рисунок 38).

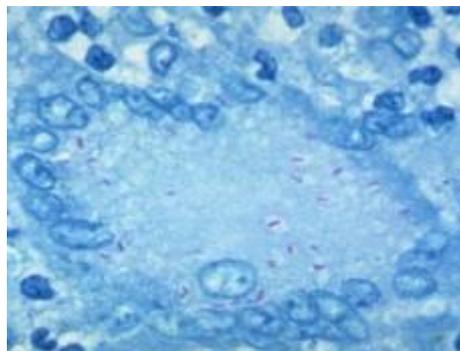


Рисунок 38 – Многочисленные микобактерии в гигантских клетках Пирогова-Лангханса.

Таким образом, формирование гранулемы представляет собой реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). ГЗТ возникает через 2-3 недели после инфицирования. Строение гранулемы представлено на рисунке 39.

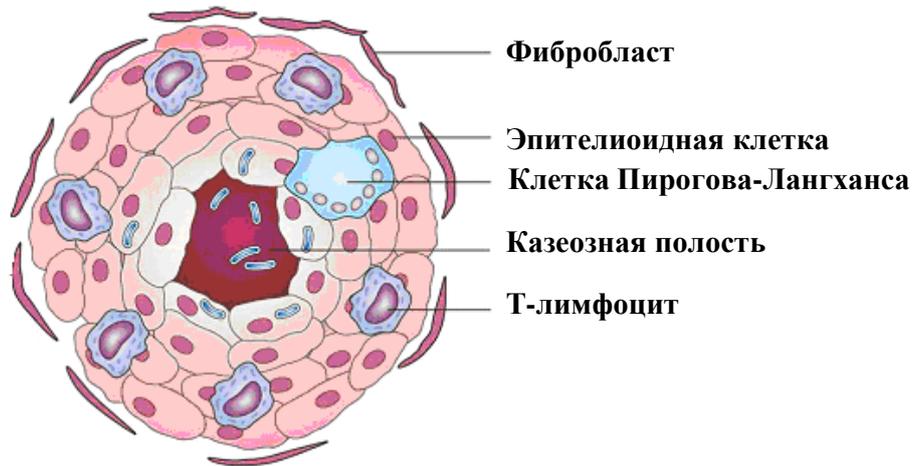


Рисунок 39 – Структура туберкулезной гранулемы.

Гистологически гранулема выглядит в виде очага, содержащего внутри некротизированные казеозные массы. В последующем гранулема уплотняется, и ее соединительнотканная оболочка обызвествляется. В результате этого формируется первичный туберкулезный очаг - очаг Гоно (рисунок 40).

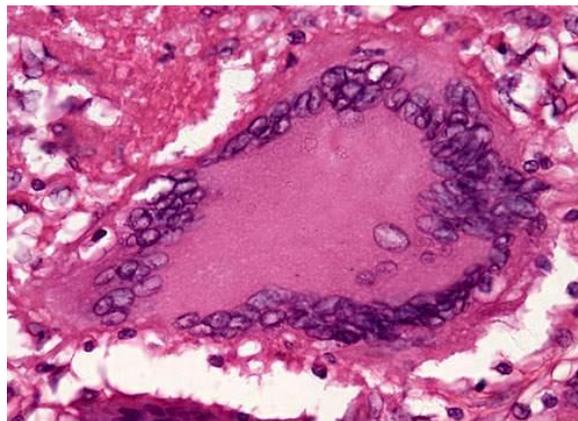


Рисунок 40 – Гистологический препарат гранулемы.

При прогрессировании заболевания казеозные массы под действием протеолитических ферментов подвергаются разжижению, в результате чего в легких образуются полости – каверны, а на слизистых оболочках и коже – язвы. При высокой резистентности организма гранулема замещается соединительной тканью и кальцифицируется.

В случае недостаточной активации макрофагов размножение микобактерий происходит в геометрической прогрессии. Фагоцитирующие клетки не справляются с большим количеством бактерий и погибают. При этом в межклеточное пространство поступают медиаторы воспаления и протеолитические ферменты, которые повреждают прилегающие ткани. В этом случае первичное инфицирование переходит в клинически выраженное заболевание.

Следовательно, течение процесса при туберкулезе можно представить в виде следующих фаз:

- инфильтративная фаза (возникновение первичного очага – инфильтрата);
- распад очага;
- обсеменение микобактериями близлежащих органов;
- рассасывание очага инфильтрата;
- уплотнение;
- рубцевание;
- обызвествление инфильтрата.

Специфическое туберкулезное воспаление складывается из явлений альтерации, экссудации и пролиферации.

Альтерация - это повреждение ткани вплоть до некроза.

Экссудация - это появление в зоне воспаления серозного пропитывания, выпадения фибрина, клеточных скоплений с преобладанием мононуклеарных клеток.

Пролиферация (продуктивное воспаление) - это усиленное размножение в очаге воспаления клеточных элементов, их трансформация и образование гранул (бугорков).

В развитии туберкулеза выделяют два периода. **Первый период** возникает в ответ на **первичное экзогенное заражение** ранее неинфицированных людей. Этот период может завершиться развитием **первичного туберкулеза** и **спонтанным излечиванием**. При первичном туберкулезе в зоне внедрения возбудитель захватывается макрофагами, в результате чего развивается гранулематозная реакция. Затем микобактерии преодолевают этот барьер, проникают в регионарные лимфатические узлы, кровь и различные органы. Первичный туберкулез в результате экзогенного заражения развивается у 7-10% инфицированных лиц, остальные переносят первичную туберкулезную инфекцию без клинических проявления и спонтанно излечиваются. При спонтанном излечивании формируется обызвествленный первичный туберкулезный комплекс (“окаменевший” очаг воспаления, в котором длительное время сохраняется возбудитель в дремлющем состоянии). У таких людей формируется приобретенный иммунитет. Сохранение возбудителя в очагах персистенции не только поддерживает иммунитет, но одновременно создает риск эндогенного инфицирования.

Второй период связан с **вторичным экзогенным** или **эндогенным инфицированием** микобактериями, сохранившимися в первичном очаге. То есть вторичный туберкулез возникает в иммунном организме у ранее инфицированных людей. При этом развиваются разнообразные **вторичные формы туберкулеза**. Эндогенная реактивация микобактерий может наступить в течение любого срока после первичного туберкулеза (от нескольких недель до многих лет и десятков лет) в результате неблагоприятных социально-экономических условий, недостаточности питания, приема иммунодепрессантов, сопутствующих заболеваний (в частности, диабета). Вторичный туберкулез почти всегда начинается в верхушках легких. Вторичный туберкулез протекает хронически. Развитию вторичного туберкулеза способствуют неблагоприятные условия жизни, хронические заболевания и другие причины.

Клиника

Инкубационный период при туберкулезе длится от 3-8 недель до 1 года и более (описан инкубационный период длительностью 40 лет). Клинические проявления туберкулеза многообразны, поскольку микобактерии могут поражать любые органы (органы дыхания, кишечник, мочеполовые органы, кожу, суставы).

Чаще всего поражаются органы дыхания, но возможно поражение и других органов. Поэтому различают туберкулез легких и внелёгочный туберкулез. По степени распространенности выделяют такие формы туберкулеза легких как милиарный туберкулез, очаговый (ограниченный) туберкулез, инфильтративный туберкулез, казеозная пневмония, кавернозный туберкулез, фиброзно-кавернозный туберкулез и др. (рисунок 41).

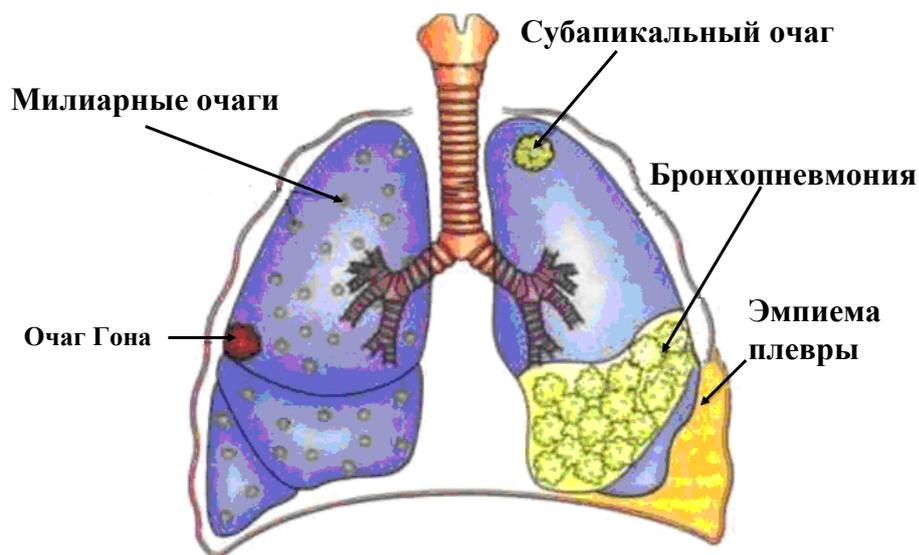


Рисунок 41 – Легочные проявления туберкулеза.

Очаг Гона - это первичное поражение легких при туберкулезе. Обычно очаг Гона проходит, не вызывая заболевания, но у некоторых людей из очага Гона возбудитель распространяется по лимфатическим сосудам, дыхательным путям и кровотоку по всему организму.

Милиарный (лат. *miliium* – просо) туберкулез – это небольшой очаг творожистого некроза, представляющий группу некротизированных туберкулезных гранулем.

Эмпиема плевры – это воспаление плевральных листков с образованием гноя между ними.

Внелёгочный туберкулез встречается в любом органе. Различают следующие формы внелёгочного туберкулеза:

- туберкулез органов пищеварения (чаще поражаются дистальный отдел тонкого кишечника и слепая кишка);
- туберкулез мочеполовой системы (почек, мочевыводящих путей, половых органов);
- туберкулез центральной нервной системы и мозговых оболочек (туберкулезный менингит);

- туберкулез костей и суставов;
- туберкулез кожи;
- туберкулез глаз.

Туберкулез может быть **открытым** (больной выделяет возбудителя во внешнюю среду) и **закрытым** (больной не выделяет возбудителя в окружающую среду и не является заразным).

Признаками туберкулеза являются быстрая утомляемость, слабость, потеря массы тела, длительная субфебрильная температура, обильное ночное потоотделение, кашель с мокротой с кровью, одышка (рисунок 42).



Рисунок 42 – Внешний вид больного туберкулезом.

Туберкулез кожи проявляется следующими формами (рисунок 43):

- **люпоидный туберкулез кожи** (туберкулезная или обыкновенная волчанка) проявляется образованием на коже бугорка - люпомы, на месте которой после распада формируется язва и белый рубец;
- **скрофулодерма** – формирование в подкожной клетчатке узлов с их последующим размягчением, образованием свищей и грубых бахромчатых рубцов;
- **индуративный туберкулез кожи** – образование плотных узлов в подкожной клетчатке, которые затем вскрываются, оставляя втянутые рубцы;
- **папулонекротический туберкулез кожи** – образование плотных папул синюшного цвета в толще кожи с последующим некрозом;
- **лихеноидный туберкулез кожи** (лишай золотушных) – формирование на коже туловища мелких сгруппированных бугорков, покрытых легко снимаемыми корочками серого цвета.



Рисунок 43 – Поражения при туберкулезе кожи.

При **туберкулезе костей и суставов** возникают поражения, характерные для артритов любой этиологии: истончение хрящей, возникновение шипов, сужение полостей суставов (рисунок 44).

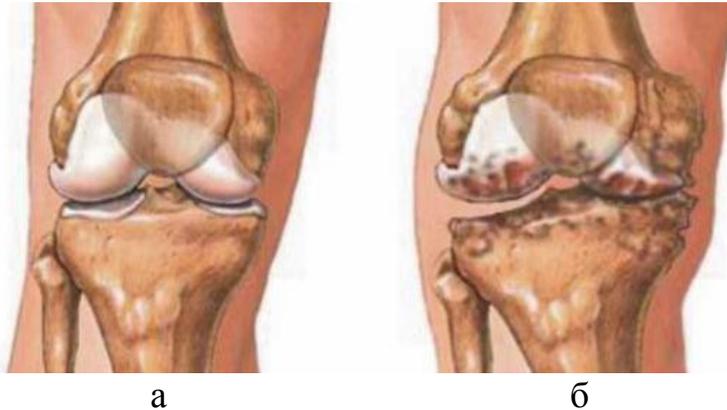


Рисунок 44 – Поражения при туберкулезе костей и суставов: а – здоровый коленный сустав, б – поражение хряща и костей при туберкулезе..

Иммунитет

Иммунитет при туберкулезе имеет ряд особенностей. Он начинает формироваться через 4-8 недель после первичного инфицирования. Формируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет.

Приобретенный клеточный иммунитет проявляется тем, что после первой встречи с возбудителем в организме формируется состояние повышенной чувствительности (сенсбилизация). Макрофаги, поглотившие микобактерии туберкулеза, экспрессируют на своей поверхности антигены микобактерий в виде пептидов и выделяют в межклеточное пространство интерлейкин-1, который активирует Т-лимфоциты (CD4+). Благодаря этому организм приобретает способность быстро связывать новую дозу возбудителя и удалять ее из организма: Т-лимфоциты распознают клетки, инфицированные микобактериями, атакуют их и разрушают. Кроме того Т-лимфоциты выделяют гамма-интерферон и интерлейкин-2, которые обуславливают миграцию макрофагов к месту локализации возбудителя. С помощью лизосомальных ферментов микобактерии разрушаются. Выделяемые макрофагами медиаторы активируют также В-лимфоциты, которые синтезируют опсонизирующие антитела, способствующие склеиванию и фагоцитированию бактерий.

Гуморальный иммунитет проявляется синтезом антител к антигенам микобактерий. Образуются циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), с помощью которых антигены элиминируются из организма.

Иммунитет при туберкулезе сохраняется до тех пор, пока в организме есть возбудитель. Такой **иммунитет называют нестерильным** или инфекционным. После освобождения организма от микобактерий иммунитет быстро исчезает.

Диагностика

Схема диагностики туберкулеза представлена на рисунке 45.

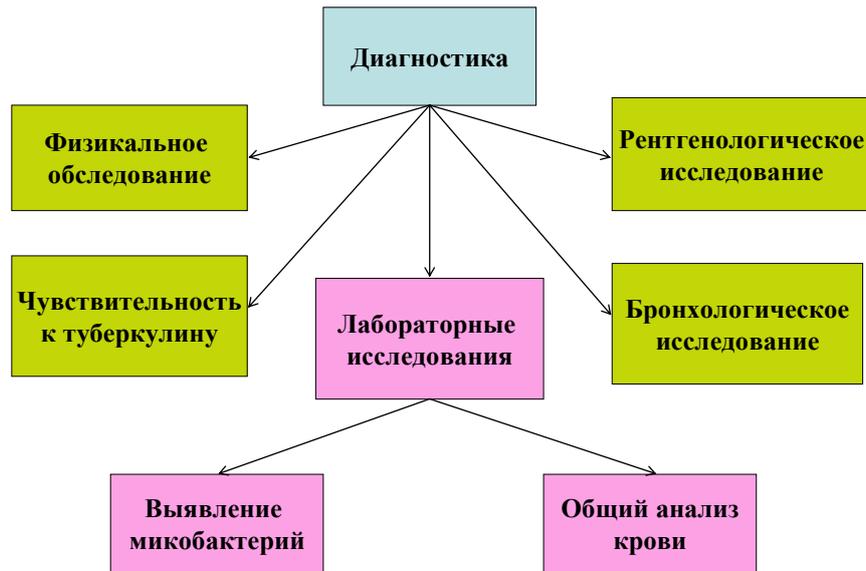


Рисунок 45 – Схема диагностики туберкулеза.

Для лабораторной диагностики туберкулеза применяют основные и дополнительные методы исследования.

Основными методами являются:

- бактериоскопический метод (световая и люминесцентная микроскопия);
- бактериологический метод.

Дополнительными методами являются:

- биологический метод;
- серологический метод;
- кожные аллергические пробы;
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Исследуемым материалом в зависимости от локализации патологического процесса служат мокрота, аспират бронхов, отделяемое свищей, СМЖ, моча, испражнения.

Для **бактериоскопического исследования** готовят мазки, которые окрашивают по Цилю-Нильсену или флюорохромом. В препаратах можно обнаружить единичные микобактерии, если в 1 мл мокроты содержится не менее 10^5 - 10^6 бактериальных клеток. Эти методы просты и экономичны. Они применяются при обследовании следующих пациентов:

- лиц, имеющих симптомы туберкулеза (кашель с мокротой более 3 недель, боли в грудной клетке, кровохарканье, потеря массы тела);
- лиц, контактировавших с бациллярными больными туберкулезом (выделяющими возбудителя во внешнюю среду);
- лиц, имеющих рентгенологические изменения в легких, подозрительные на туберкулез.

Нередко концентрация микобактерий в исследуемом материале невелика, поэтому для повышения вероятности их обнаружения используют **методы обогащения**: центрифугирование и флотацию.

Метод центрифугирования предусматривает обработку исследуемого материала щелочью с последующим центрифугированием. Препарат для микроскопирования готовят из осадка.

Метод флотации включает в себя обработку исследуемого материала смесью щелочи и ксилола или бензола. Пробу энергично встряхивают. Образующаяся пена выносит микобактерии на поверхность. Препарат для микроскопирования готовят из образующейся пены.

Количество кислотоустойчивых микобактерий (**КУМ**), которое выявляется при бактериоскопическом исследовании материала, характеризует степень эпидемической опасности больного и тяжесть заболевания. Поэтому при микроскопии обязательно проводят количественный учет результатов (таблица 1).

Таблица 1 – Градация результатов микроскопического исследования материала от больных туберкулезом

Результат исследования	Минимальное число полей зрения, обязательных для просмотра	Интерпретация результатов исследования
КУМ не обнаружены в 300 полях зрения	300	Отрицательный
1-2 КУМ в 300 полях зрения	300	Результат не оценивается
1-9 КУМ в 100 полях зрения	100	Положительный
10-99 КУМ в 100 полях зрения	100	Положительный
1-10 КУМ в 1 поле зрения	50	Положительный
Более 10 КУМ в 1 поле зрения	20	Положительный

Количественные результаты микроскопического исследования отражаются в лабораторном журнале и на бланках лечебного учреждения, направившего материал на исследование.

В последние годы широкое применение получил метод люминесцентной микроскопии, при котором окраску препаратов производят с помощью люминесцентных красителей (аурамина, родамина). При люминесцентной микроскопии таких препаратов клетки возбудителя туберкулеза светятся оранжевым или ярко-красным светом на черном или темно-зеленом фоне.

Бактериологический метод позволяет получить чистую культуру для определения ее вирулентности и чувствительности к лекарственным препаратам. Этот метод широко применяется и для контроля эффективности проводимой терапии. Материал обрабатывают 6-12% раствором соляной или серной кислоты, отмывают физиологическим раствором, высевают на плотные питательные среды и выращивают в течение 2-12 недель. Вирулентность выделенной культуры определяют по наличию корд-фактора. Основным недостатком бактериологического метода - длительность получения результата.

В связи с этим применяют ускоренный метод выращивания (**по Прайсу**). Для этого материал помещают на предметное стекло, обрабатывают серной кислотой и отмывают физиологическим раствором. Стекло помещают в питательную среду с кровью. Выращивание продолжается в течение 3-4 дней при 37°C. Затем препарат окрашивают по Цилю-Нильсену и микроскопируют. При этом обнаруживаются красные жгутики, состоящие из отдельных клеток.

Биологический метод является наиболее чувствительным, так как он позволяет выявить от 1 до 5 микробных клеток в исследуемом материале. Для этого морским свинкам подкожно или внутрибрюшинно вводят исследуемый материал (1 мл). Через 1-2 месяца у животных развивается генерализованный туберкулез с летальным исходом.

Существуют специальные системы лабораторной диагностики туберкулеза:

- полуавтоматическая система ВАСТЕС 460 позволяет регистрировать уровень углекислого газа, меченого радиоактивным углеродом (срок исследования составляет 14 дней);
- автоматизированный комплекс ВАСТЕС MGIT 960 учитывает рост микобактерий в бульоне Миддлбрука по растворенному кислороду;
- автоматизированная система МВ/ВасТ основана на колориметрическом детектировании углекислого газа.

Кожные аллергические пробы применяются для определения повышенной чувствительности организма к туберкулину в результате заражения возбудителями туберкулеза или специфической вакцинации. Кожные аллергические пробы проводят с помощью туберкулина – препарата, приготовленного из микобактерий.

Старый туберкулин Коха (АТК – Alt Tuberculin Koch). Он был впервые получен в 1880 г. Р. Кохом. Представляет собой фильтрат автоклавированной 5-6-недельной культуры микобактерий туберкулеза человеческого и бычьего типов, выращенной в мясо-пептонном бульоне с добавлением глицерина и сгущенной выпариванием при 70°C до 1/10 первоначального объема. Этот препарат содержит белки, полисахариды, липиды и нуклеиновые кислоты микобактерий, а также балластные вещества – компоненты питательной среды. АТК содержит в 1 мл около 100000 ТЕ (туберкулиновых единиц) или TU (tuberculin units). За международную туберкулиновую единицу принято такое количество туберкулина, которое у 80-90% спонтанно инфицированных лиц вызывает положительную реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Сухой очищенный туберкулин – PPD (Purified Protein Derivative, очищенный белковый дериват, PPD-S получен в 1934 г. F. Seibert и S. Glenn из культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*) и очищенный туберкулин М.А. Линниковой (PPD-L, ППД-Л получен в 1939 г. из культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*). В 1952 г. ВОЗ утвердила PPD-S в качестве международного стандарта сухого очищенного туберкулина. PPD-S используется в большинстве европейских стран. PPD-L выпускают в двух формах: стандартный раствор и сухое вещество для разведения. Стандартный раствор, содержащий в 0,1 мл 2 ТЕ, применяют для массовой туберкулинодиагностики, а стандартные растворы, содержащие 5 ТЕ и 10 ТЕ в 0,1 мл, а также сухой препарат используют только в противотуберкулезных учреждениях. Преимуществом PPD перед АТК является более высокая специфичность и стерильность.

С иммунологической точки зрения туберкулин - это гаптен, не обладающий иммуногенностью, то есть при введении в организм он вызывает специфическую ответную реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

В настоящее время в нашей стране выпускаются следующие формы ППД-Л.

1. Аллерген туберкулиновый очищенный жидкий в стандартном разведении (очищенный туберкулин в стандартном разведении). Является готовым к употреблению препаратом. Выпускается в ампулах по 3 мл. Содержит в 0,1 мл 2 ТЕ. Представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, содержит твин-80 в качестве стабилизатора и фенол в качестве консерванта. Используется для проведения массовой и индивидуальной туберкулинодиагностики.

2. Аллерген туберкулезный очищенный сухой для накожного, подкожного и внутрикожного применения (сухой очищенный туберкулин). Выпускается в ампулах по 50000 ТЕ. Представляет собой порошок сероватого или кремового цвета, хорошо растворимый в прилагаемом растворителе – 0,25% изотоническом растворе хлорида натрия. Препарат используется для проведения индивидуальной туберкулинодиагностики.

Препараты туберкулина ППД-Л вводят в организм человека накожно, внутрикожно и подкожно в зависимости от вида туберкулиновой пробы.

При постановке **накожной пробы Пирке** на внутреннюю поверхность предплечья наносят каплю АТК (10000 ТЕ в 1 мл), через которую скарифицируют кожу. Через 48-72 часа проводят оценку местной реакции по величине инфильтрата (рисунок 46).



а

б

в

Рисунок 46 - Скарификационная накожная проба Пирке: а – отрицательная реакция, б – умеренно выраженная реакция, в – резко выраженная реакция.

В педиатрической практике используют **градуированную пробу Пирке** (кожную пробу **Гринчара и Карпиловского** - ГКП). При постановке этой пробы на кожу внутренней поверхности предплечья или передней поверхности бедра наносят по одной капле растворов туберкулина разной концентрации (100%, 25%, 5% и 1%). В качестве контроля используют каплю 0,25% раствора карболовой кислоты в 0,95% растворе хлорида натрия. Скарификацию кожи проводят через нанесенные капли, начиная с контрольного раствора и заканчивая 100% туберкулином. Учет реакции осуществляют через 48-72 часа (рисунок 47).

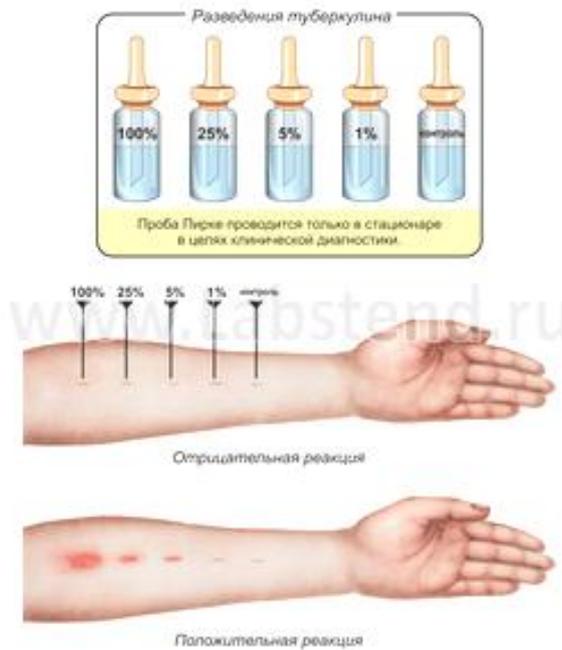


Рисунок 47 – Градуированная проба Пирке.

Различают следующие реакции пробы ГКП:

- анергическая реакция – отсутствие ответа на все растворы туберкулина;
- неспецифическая реакция – небольшая гиперемия на месте аппликации 100% туберкулина;
- нормергическая реакция – умеренная чувствительность на большие концентрации туберкулина и отсутствие реакции на 1% и 5% туберкулин;
- гиперергическая реакция – на все концентрации туберкулина отмечается ответная реакция в виде инфильтратов, причем их размеры увеличиваются по мере увеличения концентрации туберкулина;
- уравнительная реакция – инфильтраты отмечаются на все концентрации туберкулина, но размеры инфильтратов во всех случаях примерно одинаковые;
- парадоксальная реакция – на большие концентрации отмечается меньшая интенсивность ответной реакции, чем на малые концентрации туберкулина.

В настоящее время в качестве диагностического метода используется внутрикожная **проба Манту**. При постановке пробы Манту туберкулин вводят строго внутрикожно на внутреннюю поверхность средней трети предплечья до образования “пуговки”. Суть реакции Манту состоит в том, что вводимые фрагменты микобактерий как бы притягивают к себе из кровеносных сосудов лимфоциты, уже знакомые с туберкулезными бактериями. Чем больше в организме таких лимфоцитов, тем интенсивнее будет воспаление (положительная реакция). Результаты пробы учитывают через 48-72 часа по наличию **индурации** – очерченного или расплывчатого уплотнения тканей или образования папулы (рисунки 48 и 49).



Рисунок 48 – Постановка внутрикожной пробы Манту и учет результатов.



Рисунок 49 – Оценка пробы Манту.

Проба Манту оценивается следующим образом:

- **отрицательная** - наличие реакции от укола до 2 мм в диаметре.
- **сомнительная** - папула диаметром 2-4 мм или гиперемия.
- **положительная** - папула диаметром 5-17 мм у детей и подростков и 5-21 мм у взрослых.
- **гиперергическая** - папула диаметром более 17 мм у детей и подростков и более 21 мм у взрослых.

Туберкулиновая реакция становится положительной через 4-6 недель после инфицирования или вакцинации. После вакцинации положительные реакции на туберкулин сохраняются в течение 3-7 лет. Положительный результат нельзя рассматривать как признак активного процесса. Положительная проба Манту указывает, что человек ранее был инфицирован микобактериями. Люди с положительными туберкулиновыми пробами подвержены риску заболевания в результате активации первичного очага. При отрицательной реакции такой риск отсутствует, но существует опасность первичного инфицирования.

Для постановки внутрикожной пробы туберкулин выпускается непосредственно в шприцах (рисунок 50).



Рисунок 50 – Готовый для использования туберкулин.

Проведение туберкулинодиагностики различается у вакцинированных и невакцинированных детей. Так, вакцинированным против туберкулеза детям туберкулинодиагностику проводят с 12-месячного возраста и до 18 лет внутривенно 1 раз в год (проба Манту) независимо от результата предыдущих проб. Невакцинированным по медицинским показаниям против туберкулеза детям пробу Манту ставят с 6-месячного возраста 2 раза в год до получения ребенком вакцины БЦЖ-М. Ревакцинация детей против туберкулеза проводится только детям с отрицательной пробой Манту в 7 и 14 лет.

Туберкулинодиагностика применяется при массовых обследованиях населения на туберкулез (**массовая туберкулинодиагностика**) и для диагностики туберкулеза (**индивидуальная туберкулинодиагностика**) в клинической практике.

Цели массовой туберкулинодиагностики:

- выявление групп повышенного риска заболевания туберкулезом, к которым относятся дети и подростки (первично инфицированные микобактериями туберкулеза; инфицированные микобактериями туберкулеза более 1 года с гиперергическими реакциями; инфицированные микобактериями туберкулеза более 1 года с увеличением инфильтрата на 6 мм и более, без гиперэргии; инфицированные микобактериями туберкулеза с неустановленным сроком инфицирования);

- отбор контингентов, подлежащих ревакцинации против туберкулеза;
- определение инфицированности и риска заражения населения с целью анализа эпидемиологической ситуации по туберкулезу.

При массовой туберкулинодиагностике применяют только пробу Манту с 2 туберкулиновыми единицами (ТЕ) очищенного туберкулина в стандартном разведении (готовая форма препарата).

У детей раннего возраста положительная реакция имеет большое диагностическое значение. Благодаря ежегодному наблюдению за туберкулиновыми пробами у детей старшего возраста и подростков удается установить время появившейся у них впервые положительной туберкулиновой реакции.

Цели индивидуальной туберкулинодиагностики:

- дифференциальная диагностика поствакцинальной и инфекционной аллергии к туберкулину;

- диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза и других заболеваний;

- определение “порога” индивидуальной чувствительности к туберкулину;
- определение активности туберкулезного процесса;
- оценка эффективности противотуберкулезного лечения.

При индивидуальной туберкулинодиагностике применяют пробу Манту с 2 ТЕ очищенного туберкулина в стандартном разведении, пробу Манту с различными дозами туберкулина, накожную градуированную пробу Пирке, пробу Коха и другие пробы.

У новорожденных туберкулиновая проба отрицательная. Туберкулиновая реакция становится положительной через 4-6 недель после инфицирования или вакцинации БЦЖ. После вакцинации положительные реакции на туберкулин сохраняются в течение 3-7 лет. Следовательно, положительный результат нельзя рассматривать только как признак активного процесса. Положительная проба Манту указывает, что человек ранее имел контакт с возбудителем туберкулеза в результате инфицирования или вакцинации. Однако это не означает, что данный пациент болен туберкулезом. Люди с положительными туберкулиновыми пробами подвержены риску заболевания в результате активации первичного очага. При отрицательной реакции такой риск отсутствует, но существует опасность первичного инфицирования.

Впервые зарегистрированная у ребёнка положительная проба Манту (“**вираж туберкулиновой пробы**”), особенно в сочетании с признаками туберкулезной интоксикации, свидетельствует о первичном инфицировании микобактериями туберкулеза. Такие дети должны подвергаться клиническому обследованию.

В последние годы в Первом Московском государственном университете им. И.М. Сеченова разработан новый способ диагностики туберкулеза, состоящий из тубинфицированности и исключения ложно положительных результатов пробы Манту - **Диаскинтест**. В основе этого способа лежит использование для внутрикожного введения синтетических белков, характерных исключительно для возбудителя туберкулеза. Положительная проба Манту означает, что человек либо контактировал с возбудителем туберкулеза, либо недавно получил прививку БЦЖ, либо его организм инфицирован непатогенными микобактериями. Диаскинтест дает положительный результат только в том случае, когда человек заражен возбудителем туберкулеза или уже болеет туберкулезом.

Биологический метод диагностики туберкулеза является наиболее чувствительным, так как он позволяет выявить от 1 до 5 микробных клеток в исследуемом материале. Для этого морским свинкам подкожно или внутрибрюшинно вводят исследуемый материал (1-2 мл), обработанный серной кислотой. Быстрое падение массы животного и увеличение паховых лимфоузлов свидетельствует о развитии туберкулеза. В пунктате из лимфоузлов обнаруживаются микобактерии. Через 1-2 месяца после заражения у животных развивается генерализованный туберкулез с летальным исходом.

Серологические исследования включают:

- выявление антигенов микобактерий и антител к ним с помощью РСК, РА, РПГА;
- выявление антител с помощью РНГА – диагностические титры 1:8 и выше указывают на заболевание;

- ИФА;
- РИФ с моноклональными антителами.

Иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет выявлять антитела к микобактериям туберкулеза, то есть данный метод свидетельствует не о заболевании, а об инфицировании. Чувствительность метода колеблется от 68 до 90%.

Серологические методы не являются ведущими при диагностике туберкулеза.

В настоящее время разработан новый способ анализа крови, получивший название **ELISpot-Plus**. В сочетании с пробой Манту этот тест позволяет диагностировать туберкулез за 48 часов с точностью до 99%. Этот метод позволяет обнаруживать интерферон- γ . Этот белок вырабатывается Т-клетками в том случае, когда они сталкиваются с антигенами *Mycobacterium tuberculosis*, но не с антигенами вакцинных микобактерий. Единственный недостаток этого метода состоит в том, что он не позволяет определять активную и скрытую форму заболевания.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) обладает высокой чувствительностью (1-10 микобактерий) и высокой специфичностью. Преимуществами этого метода является возможность работы с небольшим количеством материала и получение результатов анализа в течение одного рабочего дня. ПЦР применяется при внелегочных формах туберкулеза. Однако результаты ПЦР должны быть подтверждены либо одной из официальных методик, либо клинически.

Диагностика туберкулеза обязательно использует такие методы как флюорография, рентгенография грудной клетки, анализы крови.

Лечение туберкулеза

Для лечения туберкулеза применяют антибиотики и химиотерапевтические препараты, распределенные на 3 группы:

- **группа А** - наиболее эффективные препараты: изониазид (антиметаболит, аналог изоникотиновой кислоты, ингибирует синтез ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот, которые входят в состав клеточной стенки микобактерий), рифампицин;

- **группа В** - препараты средней эффективности: этамбутол (синтетический препарат, ингибирует ферменты, участвующие в синтезе клеточной стенки микобактерий, активен только в отношении размножающихся бактерий), канамицин, стрептомицин, циклосерин;

- **группа С** - малые противотуберкулезные препараты (ПАСК и тибон).

Международный противотуберкулезный Союз классифицирует противотуберкулезные препараты следующим образом:

1. Наиболее эффективные препараты:

- синтетический препарат изониазид (ГИНК);
- антибиотик рифампицин.

2. Препараты умеренной эффективности:

- антибиотики: стрептомицин, канамицин, флоримицин (виомицин), циклосерин;

- синтетические препараты: этамбутол, этионамид, протионамид, пиразинамид (тизамид).

3. Менее эффективные препараты:

- синтетические препараты: ПАСК, тибон (тиоацетазон).

В некоторых странах выделяют следующие группы противотуберкулезных препаратов:

1. Препараты первой линии (препараты первого ряда), проявляющие максимальный эффект при минимальной токсичности – изониазид, рифампицин, стрептомицин, пиразинамид, этамбутол.

2. Препараты второй линии (препараты второго ряда), используемые при устойчивости возбудителя к препаратам первого ряда – этионамид, циклосерин, капреомицин, канамицин, офлоксацин, ципрофлоксацин, амикацин, протионамид.

3. Альтернативные препараты (резервные препараты) – рифабутин, клофазимид, кларитромицин, амоксициллин, фтивазид, флуренизид, тиацитазон.

4. Комбинированные препараты – изониазид с рифампицином; изониазид с этамбутолом; изониазид с пиразинамидом и рифампицином; изониазид с пиразинамидом, рифампицином и этамбутолом.

В настоящее время классификация противотуберкулезных препаратов основана на учете лекарственной резистентности *M. tuberculosis*. Эта классификация (классификация ВОЗ, 1998 г.) распределяет противотуберкулезные препараты на 2 группы:

1 группа – основные препараты (препараты первого ряда): изониазид, рифампицин, пиразинамид, стрептомицин и этамбутол. Эти препараты используются для лечения больных с впервые выявленным туберкулезом легких, выделяющих лекарственно-чувствительные клетки возбудителя.

2 группа – резервные препараты или препараты второго ряда: протионамид, этионамид, рифабутин, канамицин, капреомицин, циклосерин, фторхинолоны (офлоксацин, ломефлоксацин), ПАСК. Эти препараты применяют для лечения больных с лекарственно-устойчивым туберкулезом легких, выделяющим возбудителя, резистентного к препаратам первого ряда.

Противотуберкулезные препараты действуют на разные компоненты клеточной стенки, на синтез АТФ и белка в клетке (рисунок 51).

Во время лечения очень быстро появляются штаммы микобактерий, резистентные к противотуберкулезным препаратам. Поэтому используют комбинации препаратов с разным механизмом действия, а также производят частую замену препаратов. Это замедляет появление лекарственноустойчивых форм микобактерий. В современных схемах лечения применяют поликомпонентную противотуберкулезную химиотерапию (одновременное использование 3-5 препаратов, то есть трех-пятикомпонентные схемы лечения).

Классической схемой лечения туберкулеза является **трехкомпонентная схема** (стрептомицин, изониазид, пара-аминосалициловая кислота). На сегодняшний день эта схема практически не используется.

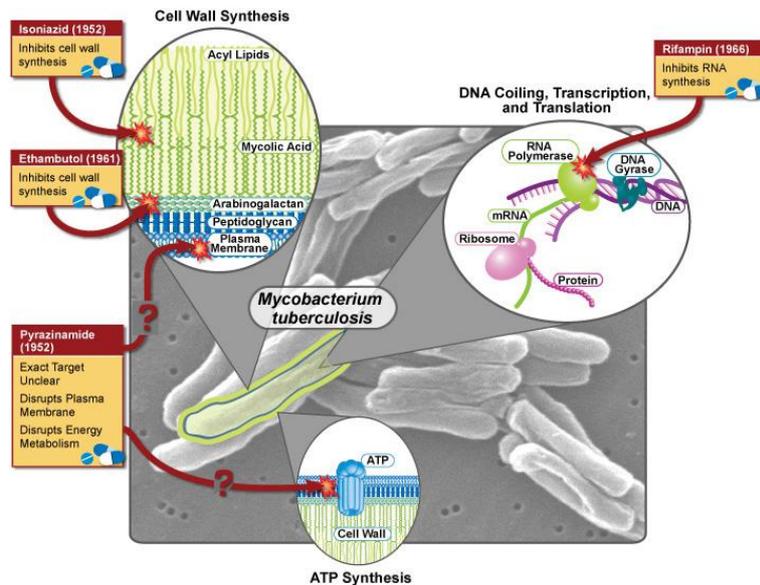


Рисунок 51 – Мишени действия противотуберкулезных препаратов.

Четырехкомпонентная схема химиотерапии (рифабутин или рифампицин, стрептомицин или канамицин, изониазид или фтивазид, пиразинамид или этионамид) разработана в связи с повышением устойчивости микобактерий к противотуберкулезным препаратам. Эта схема является общепринятой во многих странах мира.

Во многих специализированных центрах лечения туберкулеза применяют более мощную **пятикомпонентную схему**. Эта схема предусматривает наряду с препаратами, указанными в четырехкомпонентной схеме, использовать фторхинолоновые производные.

Кроме противотуберкулезных препаратов больным туберкулезом назначают витамины, иммуностимуляторы, детоксикационную терапию, используют методы улучшения оксигенации легких, качественное и разнообразное питание, в некоторых случаях - хирургические методы лечения.

В связи с широким использованием антибактериальных препаратов у микобактерий туберкулеза развивается лекарственная устойчивость. Различают первичную и приобретенную лекарственную устойчивость микобактерий. К микобактериям с **первичной устойчивостью** относятся штаммы, выделенные от пациентов, не получавших специфического лечения или получавших препараты в течение месяца или менее. Если устойчивый штамм выделяется у пациента на фоне противотуберкулезной терапии, проводимой в течение месяца и более, устойчивость расценивают как приобретенную. **Приобретенная лекарственная устойчивость** среди впервые выявленных больных является результатом неудачного лечения.

У возбудителя туберкулеза различают следующие **виды лекарственной устойчивости**:

- **монорезистентность** – устойчивость к одному из противотуберкулезных препаратов;
- **полирезистентность** – устойчивость к двум и более препаратам;

- **множественная лекарственная устойчивость (МЛУ)** – устойчивость к изониазиду и рифампицину одновременно, независимо от наличия устойчивости к другим препаратам;

- **суперустойчивость (XDR)** – множественная лекарственная устойчивость в сочетании с устойчивостью к фторхинолонам и одному из инъекционных препаратов (канамицин, амикацин, капреомицин);

- **перекрестная устойчивость** – возникновение устойчивости к одному препарату влечет за собой устойчивость к другим препаратам внутри одной группы.

Основным механизмом формирования лекарственной резистентности у возбудителя туберкулеза является **селекция мутантов** и их адаптация. Лекарственная резистентность *M. tuberculosis* может носить как хромосомный, так и плазмидный характер. Устойчивость к лекарственным препаратам у микобактерий также определяется IS-последовательностями.

Общемировой тенденцией является снижение эффективности антибактериальных препаратов.

В 1993 г. ВОЗ рекомендовала использовать для борьбы с туберкулезом стратегию **DOTS** (Directly Observed Treatment, Short-course) – контролируемое лечение короткими курсами. Основными принципами DOTS являются:

- бактериоскопическая диагностика заболевания;
- надежная поставка лекарств;
- контроль за лечением;
- регулярная оценка результатов.

Профилактика туберкулеза

Профилактика туберкулеза включает соблюдение правил гигиены, диспансеризацию с постановкой кожных проб и специфическую профилактику.

Для специфической профилактики применяют живую вакцину БЦЖ. Штамм BCG был селекционирован в 1919 г. французским бактериологом А. Кальметтом и французским ветеринарным врачом К. Гереном путем длительного пассирования *M. bovis* на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи. Ими было проведено 230 пассажей в течение 13 лет, в результате чего получен штамм с пониженной вирулентностью: “бациллы Кальметта-Герена” (BCG – *Bacilles Calmette - Guerin*). 18 июля 1921 года во Франции А. Кальметт и К. Герен сделали первую прививку новорождённому ребенку против туберкулеза. Этот день считается днем рождения БЦЖ.

В 1925 г. А. Кальметт передал штамм вакцины БЦЖ в СССР профессору Л.А. Тарасевичу. Через три года экспериментального и клинического изучения было установлено, что вакцина относительно безвредна. Поэтому с 1928 г. было рекомендовано вакцинировать БЦЖ новорождённых (рисунки 52).



Рисунок 52 – Вакцина туберкулезная БЦЖ.

Вакцина вводится новорожденным на 2-5 день жизни внутрикожно. На месте введения вакцины формируется инфильтрат с небольшим узелком в центре. Обратное развитие инфильтрата происходит в течение 3-5 месяцев. Ревакцинация – в 7 и 14 лет лицам с отрицательной реакцией Манту. Для ослабленных детей применяют вакцину БЦЖ-М.

Вакцина БЦЖ содержит высушенные живые бактерии вакцинного штамма. Вакцина БЦЖ-М содержит высушенные живые бактерии с уменьшенным в 2 раза содержанием антигена. Показанием для ревакцинации БЦЖ является отрицательная проба Манту.

Вакцинация против туберкулеза приводит к тому, что среди привитых заболеваемость туберкулезом в 4 раза ниже.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите об истории изучения возбудителей туберкулеза.
2. Расскажите о таксономическом положении возбудителей туберкулеза.
3. Опишите морфологические и тинкториальные свойства микобактерий туберкулеза.
4. Расскажите о культуральных свойствах микобактерий туберкулеза.
5. Опишите резистентность микобактерий туберкулеза?
6. Охарактеризуйте факторы патогенности микобактерий туберкулеза.
7. Каким образом происходит заражение человека туберкулезом?
8. Расскажите о патогенезе туберкулеза.
9. Каковы клинические симптомы туберкулеза?
10. Как осуществляется лабораторная диагностика туберкулеза?
11. Как проводится туберкулинодиагностика?
12. Расскажите о принципах лечения туберкулеза.
13. Как проводится специфическая профилактика туберкулеза?

Тестовые задания

1. *M. tuberculosis* открыт:
- Л. Пастером

- А. Кальметом
- + Р. Кохом
- К. Пирке
- И.И. Мечниковым

2. Возбудители туберкулеза относятся к домену:

- + бактерии
- грибы
- растения
- животные
- археи

3. Основным возбудителем туберкулеза человека является:

- *M. avium*
- + *M. tuberculosis*
- *M. bovis*
- *M. africanum*
- *M. microti*

4. Отличительной особенностью микобактерий является:

- наличие оформленного ядра
- проникновение через неповрежденную кожу
- + высокое содержание в клеточной стенке липидов
- образование экзотоксина
- синтез ферментов патогенности

5. Особенности микобактерий являются:

- + высокая кислотоустойчивость
- способность к спорообразованию
- способность к синтезу эндотоксинов
- + внутриклеточное выживание
- способность синтезировать токсин

6. Особенности микобактерий являются:

- подвижность
- + устойчивость во внешней среде
- + требовательность к питательным средам
- + щелочеустойчивость
- проникновение в организм половым путем

7. Для окраски микобактерий используют метод:

- Бурри-Гинса
- Романовского-Гимзы
- Нейссера
- + Циля-Нильсена
- Леффлера

8. Для культивирования микобактерий применяют среды:

- МПА
- МПБ
- Плоскирева
- Эндо
- + Левенштейна-Йенсена

9. На среде Левенштейна-Йенсена микобактерии туберкулеза образуют колонии в виде:

- битого стекла
- кружевных платочков
- + цветной капусты
- маргариток
- ромашек

10. Факторами патогенности микобактерий являются:

- эндотоксин
- экзотоксин
- + липиды
- ЛПС
- плазмокоагулаза

11. Источником инфекции при туберкулезе являются:

- бактерионосители
- + больной человек – бактериовыделитель
- + больное животное
- предметы обихода
- вода

12. Пути передачи туберкулеза:

- + контактный
- + воздушно-капельный
- трансмиссивный
- + алиментарный
- половой

13. У человека туберкулезом поражается чаще всего:

- желудочно-кишечный тракт
- мочеполовая система
- + органы дыхания
- органы кроветворения
- опорно-двигательный аппарат

14. Особенность иммунитета при туберкулезе:

- врожденный
- трансплацентарный

- + нестерильный
- антитоксический
- стерильный

15. Самым чувствительным методом обнаружения микобактерий туберкулеза в мокроте является:

- бактериоскопия с окраской по Цилю-Нильсену
- люминесцентная микроскопия
- электронная микроскопия
- + посев на среду Левенштейна-Йенсена
- серологический метод

16. Минимальное количество микобактерий туберкулеза в 1 мл мокроты, выявляемое прямой микроскопией:

- не менее 10^6
- + не менее 10^5
- 5000-10000
- 20-100
- 1-10

17. Минимальное количество микобактерий туберкулеза в 1 мл обогащенной мокроты, выявляемое при микроскопии:

- не менее 10^6
- не менее 10^5
- + 5000-10000
- 20-100
- 1-10

18. Минимальное количество микобактерий туберкулеза в 1 мл обогащенной мокроты, выявляемое при бактериологическом исследовании:

- не менее 10^6
- не менее 10^5
- 5000-10000
- + 20-100
- 1-10

19. Результаты бактериологического исследования при диагностике туберкулеза получают:

- на 4 день
- на 7 день
- через 2 недели
- через месяц
- через 3-4 месяца

20. Методы специфической профилактики туберкулеза:

- экстренная профилактика антибиотиками

- + вакцинация
- введение сыворотки
- использование иммуноглобулина
- флюорография

21. Для профилактики туберкулеза используют вакцину:

- ТАВТе
- СТИ
- Гайского
- + БЦЖ
- ВА№19

22. Вакцина БЦЖ получена:

- Пирке
- + Кальметтом и Гереном
- Манту
- Пастером
- Кохом

23. Вакцина БЦЖ представляет собой:

- инактивированную вакцину
- синтетическую вакцину
- генно-инженерную вакцину
- + живую аттенуированную вакцину
- химическую вакцину

24. Вакцина БЦЖ включает:

- инактивированные клетки
- + живые клетки микобактерий бычьего типа
- живые клетки микобактерий человеческого типа
- продукты жизнедеятельности микобактерий
- живые микобактерии птичьего типа

25. Проба Манту используется для:

- определения эффективности терапии
- + определения необходимости ревакцинации
- определения чувствительности к антибиотикам
- идентификации микобактерий
- определения титра специфических антител

26. PPD содержит:

- убитые микобактерии бычьего типа
- живые микобактерии бычьего типа
- + смесь фильтратов убитых нагреванием культур микобактерий человеческого и бычьего типов
- лиофилизированные микобактерии человеческого типа

- убитые микобактерии человеческого типа

27. Терапия туберкулеза предусматривает:

- проведение кратковременных курсов монотерапии
- длительное применение одного препарата
- + одновременное применение нескольких препаратов
- + длительное применение нескольких препаратов
- + периодическое определение чувствительности выделяемых культур к антибиотикам.

Примечание: знаком + отмечены правильные ответы.

Приложения

Приложение 1

Метод окраски по Цилю-Нельсену

Для исследования мокроты отбирают гнойные комочки.

1. На фиксированный мазок кладут кусочек фильтровальной бумаги (величиной не больше предметного стекла) и наливают карболовый фуксин Циля (или накладывают заранее заготовленную пропитанную фуксином и высушенную бумажку, предварительно нанеся на мазок 2-3 капли воды).

2. Мазок с краской 2-3 раза подогревают, держа высоко над пламенем горелки до появления паров и каждый раз отставляя препарат в сторону до охлаждения (наблюдать за появлением паров, глядя на мазок сбоку, а не сверху).

3. Дают препарату остыть, снимают бумажку, сливают краску, промывают препарат водой.

4. Обесцвечивают препарат 5% серной кислотой (погружают в стаканчик с кислотой 2-3 раза, не задерживая в кислоте) или 3% солянокислым спиртом.

5. Препарат тщательно промывают водой.

6. Докрашивают препарат метиленовой синькой 3-5 минут.

Кислотоустойчивые микобактерии - рубиново-красные, остальные составные части мокроты, а также некислотоустойчивые бактерии - синие.

Приложение 2

Препараты туберкулина

В России выпускается 2 вида очищенного туберкулина ППД-Л:

1. В форме готовых к употреблению растворов – **аллергена туберкулезного, очищенного, жидкого в стандартном разведении** для внутрикожного применения (очищенного туберкулина в стандартном разведении).

2. Аллергена туберкулезного, очищенного сухого (сухой очищенный туберкулин).

Туберкулин – жидкий аллерген, представляет собой раствор туберкулина в 0,85% растворе натрия хлорида, с фосфатным буфером, с твином-80 в качестве стабилизатора и фенолом в качестве консерванта. Препарат выпускается в ампулах в виде раствора, содержащего 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл, имеет вид бесцветной прозрачной жидкости. Возможен выпуск 5 ТЕ, 10 ТЕ в 0,1 мл и других дозировок препарата. Срок годности 1 год.

Очищенный туберкулин в стандартном разведении предназначен для постановки единой внутрикожной туберкулиновой пробы Манту. Производственный выпуск готовых растворов ППД-Л позволяет использовать для массовой туберкулинодиагностики стандартный по активности препарат и избежать ошибок при разведении туберкулина в момент его применения.

Специфическая активность туберкулиновых препаратов устанавливается и контролируется относительно национальных стандартов соответствующих видов туберкулинов.

ВОЗ и Международный противотуберкулезный союз и болезней легких рекомендуют использовать PPD-RT23 – очищенный туберкулин.

Приложение 3

Тест Манту

Тест Манту производится следующим образом: предварительно на внутренней поверхности средней трети предплечья участок кожи обрабатывается 70% этиловым спиртом и просушивается стерильной ватой.

Тонкая игла срезом вверх вводится в верхние слои кожи параллельно ее поверхности – внутрикожно. При введении отверстия иглы в кожу тотчас из шприца вводят строго по делению шкалы 0,1 мл раствора туберкулина, то есть одну дозу, содержащую 2 ТЕ ППД-Л.

При правильной технике в коже образуется папула в виде лимонной корочки размером 7-8 мм в диаметре беловатого цвета.

Пробу Манту ставит по назначению врача специально обученная медицинская сестра, имеющая документ – допуск к производству туберкулиновых проб.

Результаты туберкулиновой пробы могут быть оценены врачом или специально обученной медсестрой.

Оценка результатов пробы Манту проводится через 72 часа и начинается с внешнего осмотра места введения туберкулина на предплечье. При этом можно установить отсутствие реакции, наличие гиперемии или инфильтрата. Необходимо отличать инфильтрат от гиперемии. Для этого вначале пальпаторно определяют толщину складки кожи предплечья над здоровым участком, затем – на месте введения туберкулина. При инфильтрате кожная складка над ним утолщена по сравнению со здоровым участком, при гиперемии – одинаковая. После внешней оценки проводится измерение реакции прозрачной линейкой (в мм).

Вакцинация против туберкулеза

Вакцина БЦЖ представляет собой живые клетки *M. bovis BCG*, лиофильно высушенные в ампулах в 1,5% растворе глутамината натрия. Вакцина имеет вид белой порошкообразной массы. 1 ампула содержит 20 доз, одна доза составляет 0,05 мг препарата. Вакцину хранят в холодильнике при температуре не выше 8°C.

Вакцинацию новорожденных проводят на 4-7 день жизни без предварительной постановки туберкулиновой пробы Манту. При наличии медицинских противопоказаний используют вакцину БЦЖ-М с уменьшенной вдвое концентрацией антигена. У вакцинированных при рождении детей иммунитет сохраняется в течение 5-7 лет, после чего необходимо провести ревакцинацию. Ревакцинацию проводят при наличии отрицательной реакции на туберкулин (отрицательной пробы Манту). Первую ревакцинацию проводят в возрасте 7 лет, вторую – в возрасте 14 лет.

Перед применением вакцину разводят 2 мл стерильного 0,9% раствора хлорида натрия. Вакцину вводят строго внутривенно в объеме 0,1 мл в наружную поверхность на границе верхней и средней трети левого плеча. Введение большего количества вакцины не допускается. При правильном введении на месте инъекции образуется папула беловатого цвета диаметром 5-6 мм, которая исчезает через 15-20 минут.

Для каждого прививаемого используется индивидуальный шприц и игла. Введение вакцины подкожно недопустимо, так как при этом может развиваться холодный абсцесс.

На месте внутривенного введения вакцины развивается специфическая реакция в виде инфильтрата диаметром 5-10 мм или пустулы. Прививочная реакция проявляется через 4-6 недель и подвергается обратному развитию в течение 2-4 месяцев. После обратного развития у большинства вакцинированных образуется поверхностный рубец диаметром 2-10 мм.

У повторно привитых реакция на введение вакцины проявляется практически через 1 день в виде инфильтрата диаметром 5-10 мм. Обратное развитие воспалительных изменений происходит в течение 2-4 недель.

Приложение 5

Питательные среды для культивирования микобактерий

Среда Петраньяни. В стерильную колбу со стеклянными шариками вносят 250 мл свежего цельного молока, 6 г картофельной муки, 1 г пептона, одну мелко нарезанную картофелину размером с куриное яйцо. Помешивая, выдерживают колбу с содержимым в кипящей водяной бане 10 минут, охлаждают до 60°C и вносят один желток и содержимое 4 свежих куриных яиц, 12 мл стерильного глицерина, 6 мл 2%-ного (на дистиллированной воде) раствора малахитового зеленого. Компоненты перемешивают, фильтруют через двойной слой марли,

разливают по стерильным пробиркам и свертывают в наклонном положении при 85°C в течение 30 минут. В последующие двое суток прогревают при 75°C по 15 минут. Готовая среда светло-зеленого цвета. Хранят на холоде.

Среда Левенштейна-Йенсена. Готовят солевой раствор следующего состава. В 600 мл дистиллированной воды растворяют первоначально 2,4 г одноосновного фосфата калия, далее последовательно 0,24 г сульфата магнезии, 0,6 г цитрата магнезии, 3,6 г L-аспарагина, 12 г химически чистого глицерина. Раствор стерилизуют текучим паром 120 минут, добавляют 30 г картофельного крахмала, разливают в колбы по 150 мл и нагревают в кипящей водяной бане до загустения смеси.

Затем готовят яичную массу. В литровую стерильную колбу с бусами асептично вносят содержимое 20-22 куриных яиц (свежих), перемешивают, фильтруют через марлю. К 1000 мл яичной смеси добавляют 20 мл стерильного 2%-ного раствора малахитового зеленого и перемешивают.

К 1 л яичной смеси с малахитовым зеленым добавляют 600 мл солевого раствора с крахмалом, выдерживают около одного часа до исчезновения пузырьков, разливают в асептических условиях по 8-10 мл в пробирки и в скошенном положении прогревают при 80-85°C в течение 40 минут.

Синтетическая среда Сотона. В 940 мл дистиллированной воды растворяют 0,5 г двухосновного фосфорнокислого калия, 0,5 г сернокислой магнезии, 0,05 г лимоннокислого аммиачного железа, 2 г лимонной кислоты, 4 г аспарагина, 60 мл глицерина химически чистого.

Список использованных источников

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.
2. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А.А. Воробьев, Ю.С. Кривошеин, В.П. Ширококов. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр “Академия”, 2006. – 464 с.
3. Воробьев А.А., Быков А.С., Пашков Е.П., Рыбаков А.М. Микробиология: Учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.: ил.
4. Инструкция по применению туберкулиновых проб (Приложение №4 к Приказу Минздрава России от 21 марта 2003 г. №109).
5. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. вузов / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. - СПб.: СпецЛит, 2008. – 4-е изд., испр и доп. - 767 с.: ил.
6. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. – 704 с.; ил., табл.
7. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 1 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65

“Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 448 с.: ил.

8. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 2 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил.

9. Микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов (стоматология). / Под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.

10. Микробиология: учеб. для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальности 060301.65 “Фармация” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 608 с.: ил.

11. Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д. Атлас по микробиологии и вирусологии. М.: Медицина, 1976. – 307 с.: ил.

12. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред. В.И. Покровского. – 3-е изд., стереотип. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 768 с.: ил.

13. Приказ Министерства здравоохранения РФ №109 от 21 марта 2003 г. “О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации”.

14. Профилактика туберкулеза. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.1295-03.

15. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”, 2005. – 600 с.: ил.

16. Информационные ресурсы (WEB-ресурсы) по медицинской микробиологии и иммунологии (Интернет – сайты):

- <http://www.microbiology.ru>
- <http://ru.wikipedia.org>
- <http://immunology.ru>
- <http://www.rusmedserv.com>
- <http://www.molbiol.ru>

Иллюстрированное учебное пособие

Литусов Николай Васильевич

Микобактерии туберкулеза