

Κεφάλαιο 6^ο *Mycobacteria* (Μυκοβακτηρίδια)

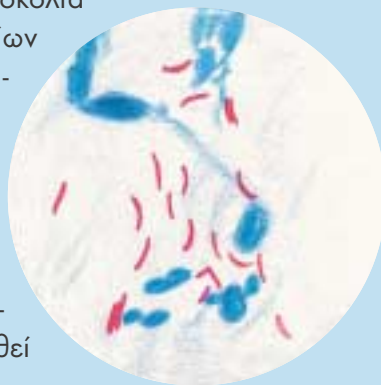
6.1. Γενικά - Είδη

Το γένος *Mycobacteria* περιλαμβάνει Gram θετικά, λεπτά, άσπορα, ακίνητα, αερόβια βακτηρίδια. Ταξινομούνται σε ομάδες με βάση την αργή ή γρήγορη ανάπτυξή τους. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τους είναι το πλήθος των λιπιδίων που βρίσκονται στο κυτταρικό τους τοίχωμα και στο κυτταρόπλασμα.

6.2. *Mycobacterium tuberculosis* (Μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης)

I. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ - ΧΡΩΣΗ

Το *M. tuberculosis* είναι λεπτό και ίσιο βακτηρίδιο, αν και μερικές φορές εμφανίζει κάμψη. Είναι ακίνητο, άσπορο, αερόβιο, οξεάντοχο. Τα κύτταρά του διατάσσονται σε ζεύγη παράλληλα το ένα προς το άλλο ή σε μικρούς σωρούς. Είναι Gram θετικό βακτηρίδιο, η χρώση του όμως είναι πολύ δύσκολη. Η δυσκολία οφείλεται στην ύπαρξη πολλών λιπιδίων στο κυτταρικό του τοίχωμα, που καθιστούν την επιφάνειά του υδρόφοβη. Μόνο εάν θερμανθεί το μικροβιακό κύτταρο, εισέρχονται χρωστικές στο κυτταρόπλασμα. Η ειδική χρώση που χρησιμοποιείται είναι η χρώση Ziehl-Neelsen, η οποία το χρωματίζει κόκκινο. Δεν αποχρωματίζεται, όταν προστεθεί στο παρασκεύασμα αιθυλική αλκοόλη που περιέχει HCl 3%. Ακριβώς γι' αυτόν το λόγο, επειδή δηλαδή δεν αποχρωματίζεται με οξέα και αλκοόλη, χαρακτηρίζεται ως οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο.



Σχήμα 6.1:
Mycobacterium tuberculosis
με οξεάντοχη χρώση

II. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Το *M. tuberculosis* αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες και η ανάπτυξή του ευνοείται σε ατμόσφαιρα CO₂ 10%. Έχει άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Δεν αναπτύσσεται στα συνθησιμέ-

να εμπλουτισμένα ή εκλεκτικά θρεπτικά υλικά του εργαστηρίου, αλλά σε ειδικά θρεπτικά υλικά που περιέχουν ζωικό λεύκωμα. Τέτοιο υλικό είναι το Löwenstein-Jensen, το οποίο φέρεται σε λοξή θέση μέσα σε σωληνάρια που κλείνουν με κοχλιωτό ή ελαστικό πώμα.

Το *M. tuberculosis* αναπτύσσεται με αργό ρυθμό. Το υλικό ελέγχεται για την ανάπτυξη του βακτηριδίου κάθε εβδομάδα και για έξι συνολικά εβδομάδες. Οι αποικίες του στο Löwenstein-Jensen είναι μικρές, ξηρές, υποκίτρινες με ρυτιδώδη επιφάνεια και ανώμαλη περιφέρεια.



Εικόνα 6.1: Αποικίες *M. tuberculosis* σε θρεπτικό υλικό Löwenstein-Jensen,

III. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Οι πιο χαρακτηριστικές ιδιότητες του *M. tuberculosis* είναι η παραγωγή νιασίνης, η αναγωγή νιτρικών αλάτων και η μη παραγωγή καταλάσης στους 68°C.

Όλα τα είδη του γένους *Mycobacteria* παράγουν καταλάση. Στο *M. tuberculosis* δεν παρατηρείται παραγωγή καταλάσης μετά από θέρμανση των αποικιών στους 68°C για 20 min.

Η παραγωγή νιασίνης, όπως και το αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία παραγωγής καταλάσης στους 68°C, αρκούν, για την ταυτοποίηση του *M. tuberculosis* στο εργαστήριο.

	Παραγωγή		Αναγωγή
	Νιασίνη	Καταλάση 68°C	Νιτρικά σε νιτρώδη
<i>M. tuberculosis</i>	+	-	+

Πίνακας 6.1: Βιοχημικές ιδιότητες του *M. tuberculosis*

IV. ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ - ΤΟΞΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Το κυτταρικό τοίχωμα του γένους *Mycobacteria* αποτελείται από πολλά λιπίδια. Η κυτταρική μεμβράνη του *M. tuberculosis* περιβάλλεται από:

- Λεπτό στρώμα πεπτιδογλυκάνης.

Κεφάλαιο 6^ο *Mycobacteria* (Μυκοβακτηρίδια)

- Στρώμα από γλυκίδια, πρωτεΐνες, γλυκερίνη και ένζυμα.
- Ένα παχύ λιπιδικό στρώμα πάνω από αυτά, το οποίο αποτελείται από μυκολικό οξύ (στην ύπαρξη του μυκολικού οξέος οφείλεται η οξεαντοχή του).
- Στρώμα βλεννοπρωτεϊδών εξωτερικά.

Κατά τη νόσο αναπτύσσονται αντισώματα προς όλα τα αντιγόνα του κυτταρικού τοιχώματος, τα οποία όμως δεν προφυλάσσουν από αυτήν.

V. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

Το *M. tuberculosis* προκαλεί τη νόσο φυματίωση. Η δράση του αποδίδεται στο ότι επιζεί στα φαγοκύτταρα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η πρώτη μόλυνση με το βακτηρίδιο προκαλεί φλεγμονή στον πνεύμονα και ακολουθεί η προσβολή των πυλαίων λεμφαδένων. Η φλεγμονή του πνεύμονα μαζί με την προσβολή των λεμφαδένων ονομάζεται «πρωτοπαθές σύμπλεγμα». Συνήθως η πρωτολοίμωξη αυτοθεραπεύεται και το άτομο απλώς εμφανίζει θετική φυματινοαντίδραση Μαντιoux. Σε ορισμένες περιπτώσεις ακολουθεί αιματογενής διασπορά και εγκατάσταση του *M. tuberculosis* στις μήνιγγες, στα οστά, στους νεφρούς ή σε άλλα όργανα.

Αναζωπύρωση της νόσου μπορεί να γίνει μετά από χρόνια, επειδή μερικά βακτήρια παραμένουν ζωντανά. Ένα πολύ μεγάλο ποσοστό των δευτερογενών λοιμώξεων (75%) οφείλεται σε αναζωπύρωση της αρχικής μόλυνσης.

Η φυματίωση προσβάλλει κυρίως τις φτωχότερες ομάδες του πληθυσμού στις υπό ανάπτυξη χώρες. Μετά από μια εντυπωσιακή μείωση, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση των κρουσμάτων, η οποία συμπίπτει με την αύξηση των κρουσμάτων του AIDS.

VI. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Ο άνθρωπος μολύνεται από το *M. tuberculosis* συνήθως στην παιδική ηλικία με όλους τους τρόπους άμεσης ή έμμεσης μετάδοσης. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος μετάδοσης είναι με τα σταγονίδια από το βήχα ή την ομιλία.

VII. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Γίνεται με:

- Μικροσκοπική εξέταση άμεσων παρασκευασμάτων χρωματι-

σμένων με τη χρώση *Ziehl - Neelsen*. Αν το δείγμα προέρχεται από υλικό χωρίς φυσιολογική χλωρίδα (π.χ. ΕΝΥ) και παρατηρηθεί στη μικροσκοπική εξέταση ύπαρξη οξεάντοχων βακτηριδίων, δίνεται θετική απάντηση, χωρίς να περιμένουμε το αποτέλεσμα της καλλιέργειας. Αν το δείγμα προέρχεται από περιοχή με φυσιολογική χλωρίδα, περιμένουμε το αποτέλεσμα της καλλιέργειας, για να δώσουμε απάντηση, γιατί υπάρχουν σαπροφυτικά Μυκοβακτηρίδια και Ακτινομύκητες με την ίδια μικροσκοπική εικόνα.

- Καλλιέργεια του δείγματος σε ειδικά θρεπτικά υλικά και επώαση 40 ημερών περίπου. Το δείγμα που συνήθως εξετάζεται είναι πτύελα, ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό.
- Μακροσκοπική και μικροσκοπική μελέτη των ύποπτων αποικιών.
- Οι ύποπτες αποικίες ελέγχονται για την παραγωγή νιασίνης, την παραγωγή νιτρικών και την παραγωγή θερμοανθεκτικής καταλάσης στους 68° C.

Πριν από την καλλιέργεια, δείγματα τα οποία έχουν φυσιολογική χλωρίδα (π.χ. πτύελα) επεξεργάζονται με διάφορες μεθόδους από τις οποίες η πιο συνηθισμένη είναι η μέθοδος Petroff.

Τα στάδια της μεθόδου αυτής είναι τα παρακάτω:

- Τοποθετούμε ποσότητα από βλεννοπυώδη πτύελα σε σωληνάριο, προσθέτουμε τριπλάσια ποσότητα διαλύματος NaOH 4% και αναμειγνύουμε.
- Τοποθετούμε το σωληνάριο για επώαση σε κλίβανο 37°C για 30 min.
- Φυγοκεντρούμε στις 2000-3000 στροφές για 10 min.
- Αφαιρούμε το υπερκείμενο υγρό και προσθέτουμε στο ίζημα διάλυμα HCL 8%, για να εξουδετερώσουμε την αλκαλική αντίδραση.
- Στρώνουμε από το ίζημα επιχρίσματα τα οποία χρωματίζουμε με χρώση *Ziehl-Neelsen* και εμβολιάζουμε τα κατάλληλα υλικά για την καλλιέργεια.

Υπάρχουν σήμερα ταχύτερες μέθοδοι ρευστοποίησης και χρωματισμού κατά *Ziehl-Neelsen* χωρίς τη χρησιμοποίηση φλόγας (cold stain).

Κεφάλαιο 6^ο *Mycobacteria* (Μυκοβακτηρίδια)

VIII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ

Για προληπτικούς λόγους γίνεται το εμβόλιο BCG. Εμβολιάζονται τα βρέφη και τα παιδιά, όταν υπάρχει άρρωστος από φυματίωση στην οικογένεια. Προηγείται έλεγχος με τη φυματινοαντίδραση Μαντουχ, που γίνεται με ενδοδερμική ένεση φυματίνης στο βραχίονα. Η φυματίνη είναι ένα πολυσακχαρίδιο ενωμένο με θερμοανθεκτικές πρωτεΐνες, ο οποίες παραλαμβάνονται από το διήθημα καλλιεργήματος του *M. tuberculosis* σε υγρό θρεπτικό υλικό.

Σε θετική αντίδραση εμφανίζεται σκλήρυνση του δέρματος με διάμετρο τουλάχιστον 10mm μετά από 48-72 ώρες. Η θετική αντίδραση Μαντουχ δείχνει ότι το άτομο έχει έρθει σε επαφή με το *M. tuberculosis*. Σε περίπτωση αρνητικού αποτελέσματος γίνεται εμβολιασμός.

6.3. *Mycobacterium leprae* (Μυκοβακτηρίδιο της λέπρας)

I. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ-ΧΡΩΣΗ

Το *M. leprae* είναι οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο και έχει την ίδια μορφολογία με το *M. tuberculosis*.

II. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Χαρακτηριστικό του *M. leprae* είναι ότι μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει δυνατή η καλλιέργειά του σε τεχνητά θρεπτικά υλικά.

III. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

Το *M. leprae* προκαλεί στον άνθρωπο τη λέπρα, η οποία είναι χρόνια νόσος.

Η νόσος εμφανίζεται με δύο κλινικές μορφές, τη φυματώδη και τη λεπροματώδη λέπρα.

Στη φυματώδη λέπρα εμφανίζονται οζίδια στο δέρμα ή μεγάλες επίπεδες πλάκες στο πρόσωπο, στα άκρα και στον κορμό, που ξεχωρίζουν σαφώς από το υγιές δέρμα. Είναι η καλοήθης μορφή της λέπρας, που μερικές φορές αυτοθεραπεύεται, δεν είναι μεταδοτική και δεν αναγνωρίζεται εύκολα.

Στη λεπροματώδη λέπρα υπάρχουν εκτεταμένες και διεισδυτικές δερματικές βλάβες στο πρόσωπο, όπως η καθίζηση της μύτης λόγω

απώλειας των ρινικών οστών και χόνδρων.

Επιπλέον και στις δύο μορφές της νόσου προσβάλλονται τα περιφερικά νεύρα, με αποτέλεσμα την απώλεια της αίσθησης του πόνου και της θερμότητας.

IV. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Πηγή του *M. leprae* είναι ο πάσχων άνθρωπος, από τα εκκρίματα του οποίου μεταδίδεται η νόσος. Η επιβίωσή του ευνοείται από τις χαμηλές θερμοκρασίες και αυτό δικαιολογεί την εντόπιση των λεπρικών βλαβών κατά προτίμηση στο δέρμα του προσώπου και των άκρων.

Η μολυσματικότητα του *M. leprae* αποδείχτηκε στατιστικά ότι είναι μικρή, ενώ ο χρόνος επώασης μεγάλος. Όταν εκδηλώνεται ως φυματώδης λέπρα, θεραπεύεται ή τουλάχιστον ελέγχεται. Για τους λόγους αυτούς καταργήθηκε το απάνθρωπο μεσαιωνικό σύστημα απομόνωσης των ασθενών στα λεπροκομεία, όπως στη Σπιναλόγκα. Μόνο οι πάσχοντες από βαριές επιπλοκές λεπροματώδους λέπρας νοσηλεύονται σε ειδικά νοσοκομεία.

V. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η εργαστηριακή διάγνωση γίνεται με την αναζήτηση οξεάντοχων βακτηριδίων σε άμεσα παρασκευάσματα χρωματισμένα με τη χρώση Ziehl-Neelsen. Το δείγμα μπορεί να προέρχεται από ξέσματα του βλεννογόνου της μύτης, από τις αλλοιώσεις του δέρματος ή από μια σταγόνα αίματος από το λοβίο του αυτιού.

VI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ

Για προληπτικούς λόγους υπάρχει εμβόλιο το οποίο γίνεται συγχρόνως με το BCG, επειδή παρατηρήθηκε ότι οι εμβολιασμένοι με το BCG παρουσιάζουν αντοχή στη λοίμωξη από λέπρα.

Οι τελευταίες έρευνες της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (ΠΟΥ) αυξάνουν τις ελπίδες ότι θα μειωθεί ο αριθμός των λεπρών και η νόσος θα μπει κάτω από τον έλεγχο των υγειονομικών αρχών.

Κεφάλαιο 6^ο *Mycobacteria* (Μυκοβακτηρίδια)

Ανακεφαλαίωση

Το *M. tuberculosis* είναι λεπτό, ίσιο βακτηρίδιο, αν και μερικές φορές εμφανίζει κάμψη. Με τη χρώση Ziehl - Neelsen χρωματίζεται κόκκινο και τα κύτταρά του διατάσσονται σε ζεύγη παράλληλα το ένα προς το άλλο ή σε μικρούς σωρούς. Ο χρωματισμός του είναι δύσκολος λόγω της ύπαρξης πολλών λιπιδίων και ιδιαίτερα του μυκολικού οξέος. Μόνο αν θερμανθεί το μικροβιακό κύτταρο, εισέρχονται οι χρωστικές στο κυτταρόπλασμα. Δεν αποχρωματίζεται με την προσθήκη αιθυλικής αλκοόλης που περιέχει HCl 3% και γι' αυτό θεωρείται οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο.

Το *M. tuberculosis* αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες και καλλιεργείται σε ειδικά θρεπτικά υλικά που περιέχουν ζωικό λεύκωμα, όπως το Löwenstein - Jensen.

Η παραγωγή νιασίνης, όπως και το αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία παραγωγής καταλάσης στους 68°C, αρκούν για την ταυτοποίηση του *M. tuberculosis* στο εργαστήριο.

Προκαλεί τη νόσο φυματίωση. Η φυματίνη, η οποία παραλαμβάνεται από το διήθημα του καλλιεργήματος του *M. tuberculosis*, χρησιμοποιείται για την εκτέλεση της φυματινοαντίδρασης Mantoux. Με αυτήν ελέγχουμε αν κάποιο άτομο έχει μολυνθεί στο παρελθόν από το *M. tuberculosis*.

Το *M. leprae* προκαλεί στον άνθρωπο τη νόσο λέπρα. Μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει δυνατή η καλλιέργειά του σε τεχνητά θρεπτικά υλικά. Πηγή είναι ο πάσχων άνθρωπος. Η νόσος μπορεί να εμφανιστεί με δύο μορφές, τη φυματώδη και τη λεπροματώδη λέπρα. Η εργαστηριακή διάγνωση γίνεται με την αναζήτηση οξεάντοχων βακτηριδίων σε άμεσα παρασκευάσματα χρωματισμένα με χρώση Ziehl - Neelsen.

Α
Π
Η
Τ
Κ
Α
Β

Ερωτήσεις

1. Ποια είναι η μικροσκοπική εικόνα του *M. tuberculosis*;
2. Γιατί το *M. tuberculosis* χαρακτηρίζεται οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτήριο;
3. Ποιες είναι οι σπουδαιότερες βιοχημικές ιδιότητες του *M. tuberculosis*;
4. Ποια είναι η πορεία της εργαστηριακής διάγνωσης του *M. tuberculosis*;
5. Με ποιες κλινικές μορφές εμφανίζεται η λέπρα στον άνθρωπο και ποια τα βασικά χαρακτηριστικά τους;
6. Πώς γίνεται η εργαστηριακή διάγνωση του *M. leprae*;