

Mycobacterium spp.

- **Acidorezistentne bakterije štapićastog oblika**
- Visok sadržaj lipida u ćelijskom zidu
- Patogene mikobakterije prouzrokuju granulomatozne lezije u tkivima
- **Tuberkuloza, Paratuberkuloza, Lepra**
- Tuberkuloza
 - 1/3 čovečanstva inficirana,
 - 3-4 miliona ljudi umre godišnje od tuberkuloze

Mycobacterium tuberculosis complex

M. tuberculosis – primati, psi, goveda, papagaji

M. bovis – sisari- goveda, jelen, jazavac, ljudi...

M. africanum - ljudi

M. microti - glodari, retko druge vrsta

M. caprae – koze, goveda,

M. pinnipeppi – foke, morski lav, retko druge vrsta

- *Mycobacterium avium* complex

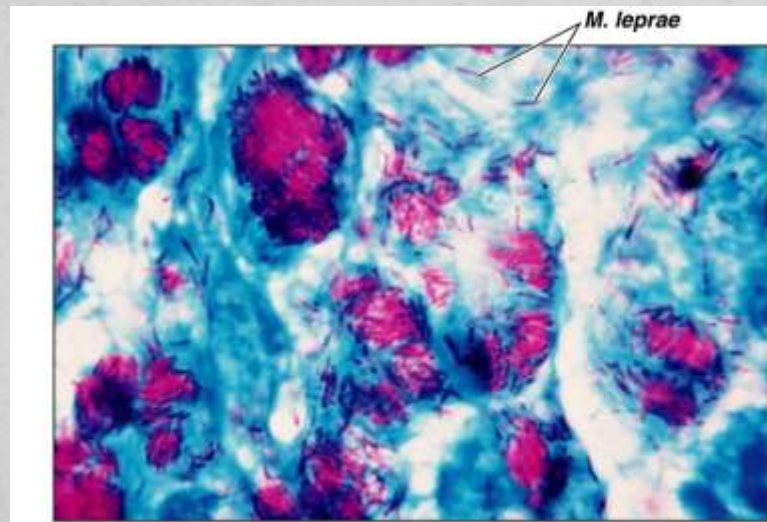
M. avium subsp. *avium* – ptice – izuzetak papagaji

M. avium subsp. *hominissuis* – ptice, svinje, goveda

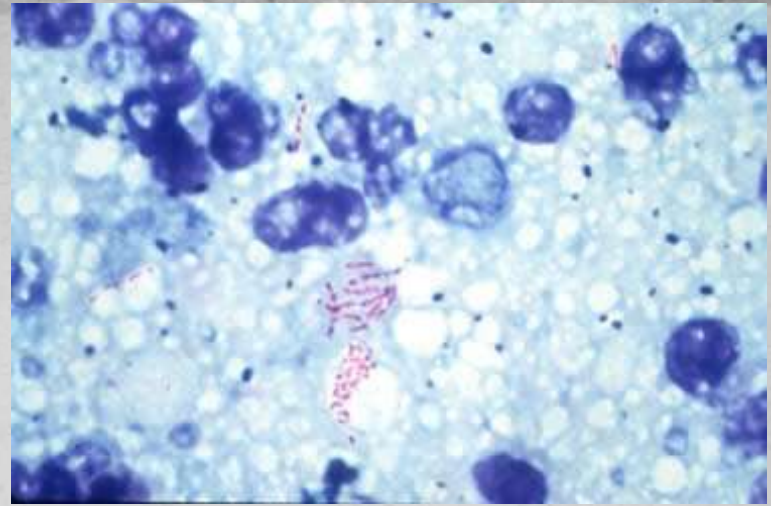
M. avium subsp. *paratuberculosis* – goveda, ovce, koze -
paratuberkuloza

M. avium subsp. *silvaticum* – ptice – nije utvrđena
patogenost

- *M. lepraemurium* – pacovi, miševi, mačke
 - lepra glodara i mačaka
- *M. leprae* - lepra ljudi
- *M. senegalense, M. farcinogenes*
 - ulceralni limfagenitis goveda

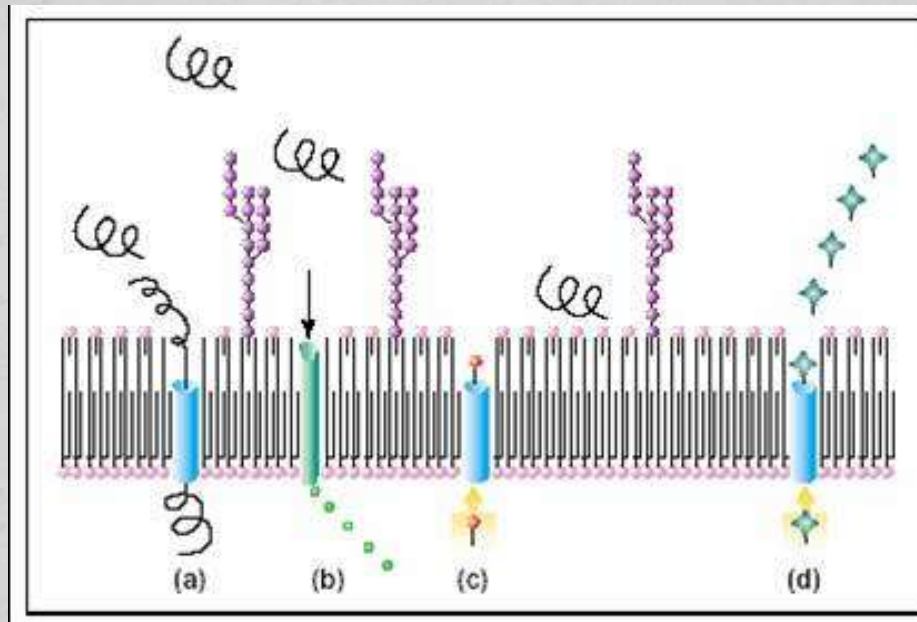


Mycobacterium spp.



- aerobne, asporogene, nepokretne bakterije štapićastog oblika
- citohemijski imaju ćelijski zid kao Gram pozitivne bakterije, ali visok sadržaj lipida i mikolinske kiseline onemogućuju prijem boje
- vrlo otporne, prisutne u zemljištu, vodi ...

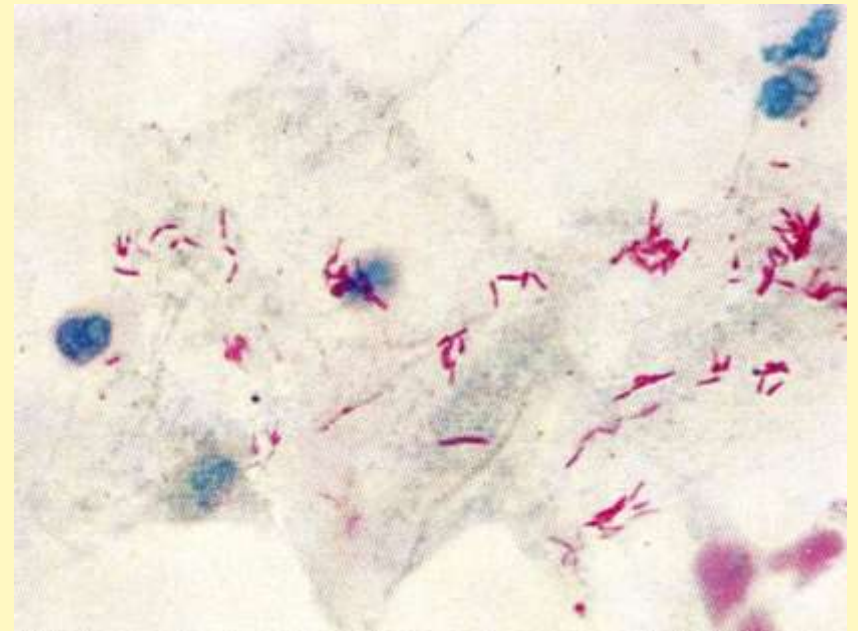
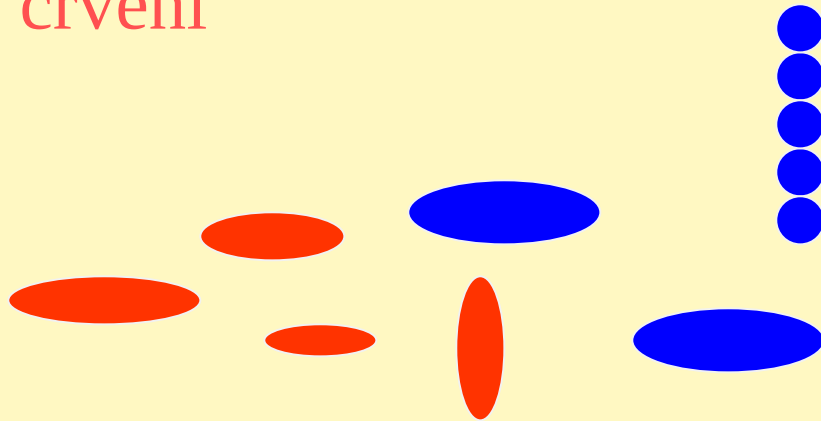
Hemijski trokomponentni superpolimer – peptidoglikan, arabinogalaktan i mikolinska kiselina



Bojenje po Ziehl-Neelson-u teško otpuštaju boju i nakon ispiranja kiselim alkoholom (3% HCl u 96% etanolu)

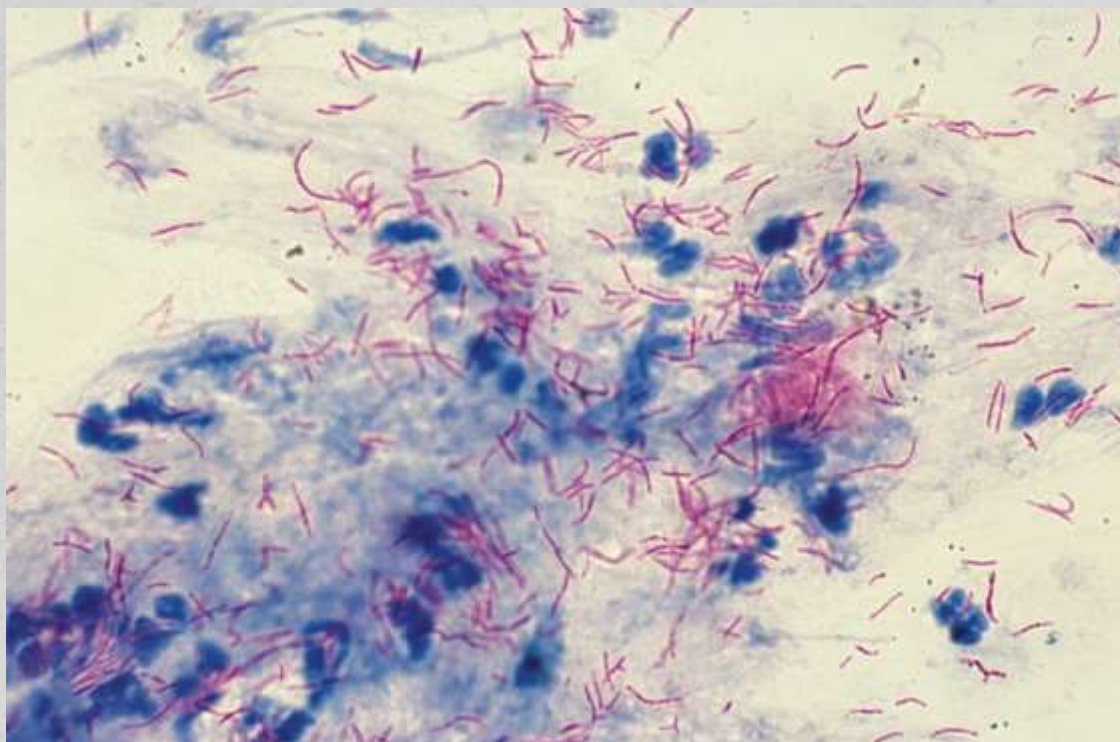
Acidorezistentni m.o.

crveni



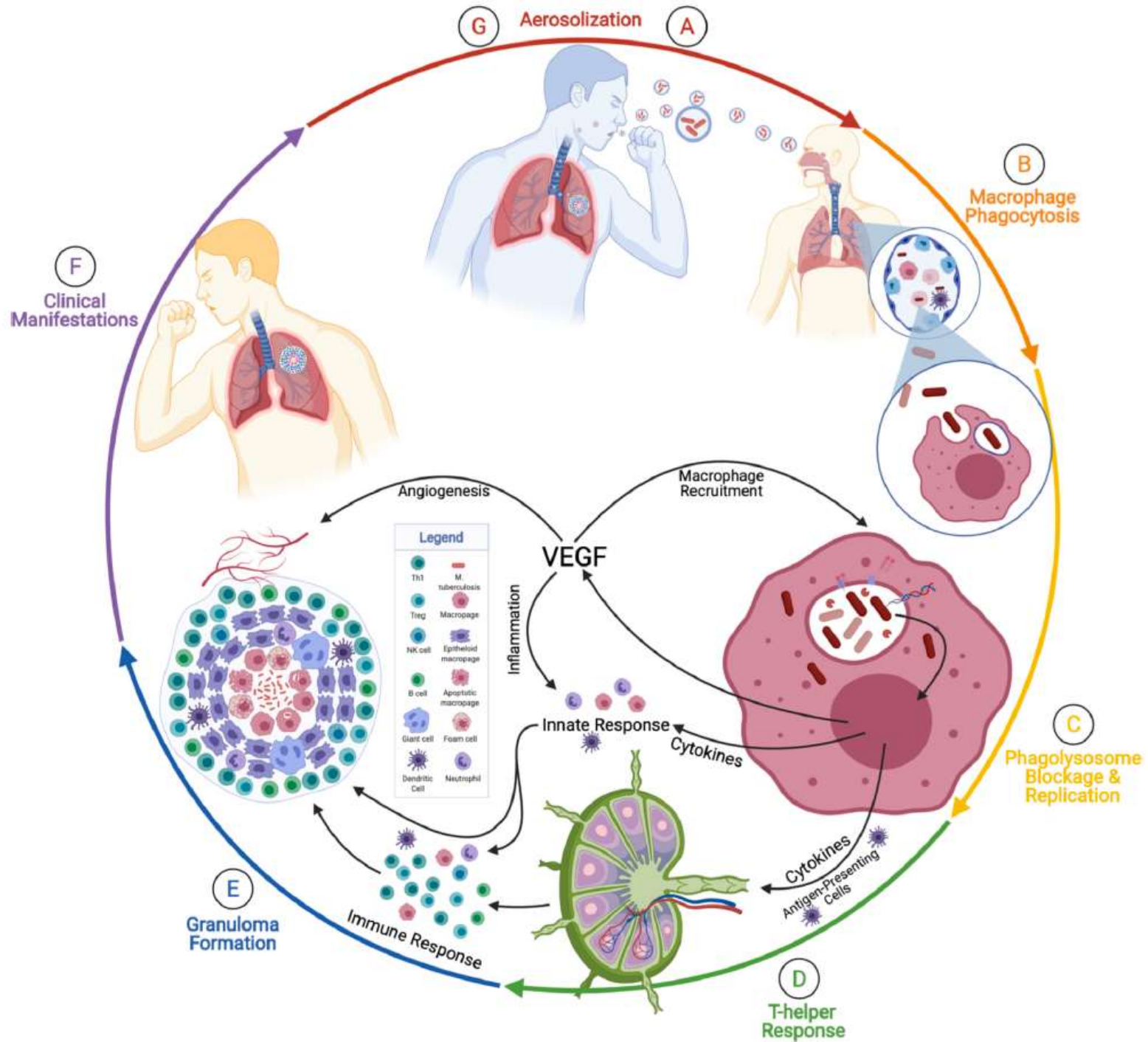
Ostali mikroorganizmi-plavi

Bojenje po Ziehl-Neelson-u



Patogeneza

- Nije ustanovljeno stvaranje toksina
- Oštećenje posledica burnog zapaljenskog i imunskog odgovora
- **HIPERSENZITIVNOST** – negativan efekat na domaćina
- **IMUNOST** – negativan efekat na makroorganizam



- sposobnost preživljavanja i razmnožavanja u fagocitima

- **hipersenzitivna reakcija tip IV kasne preosetljivosti - stimulacija celularnog imunskog odgovora**

- dimikolil trehaloza – cord faktor - inhibicija hemotaksije, dovodi do granulomatoznog procesa

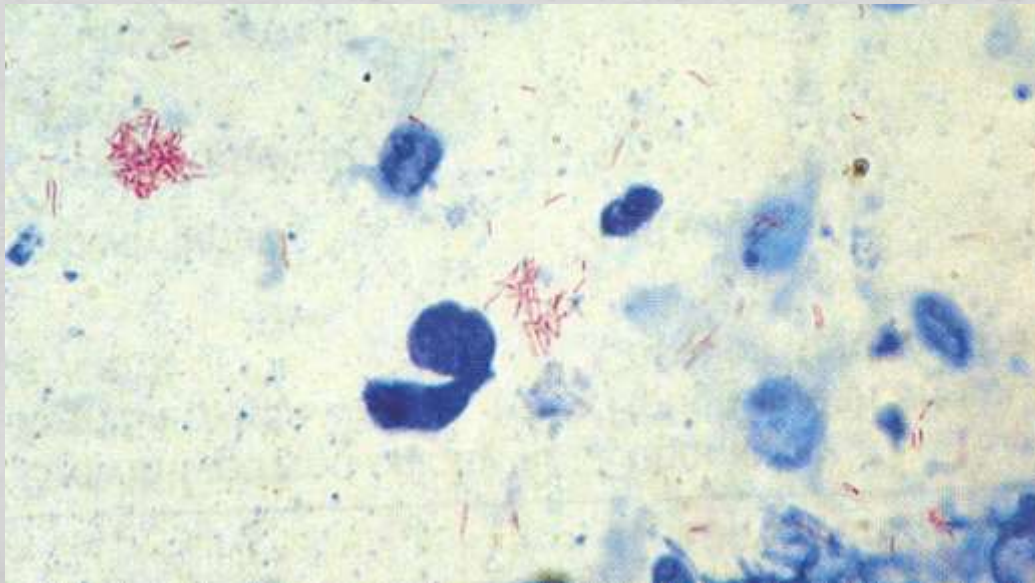


- sulfatidi – sulfolipidi i fosfolipid – fosfatidil inozitol manozid obezbeđuju **preživljavanje u fagocitima inhibicijom stvaranja fagolizozoma**
- sekretorni protein – antigen 85 vezuje za sebe fibronektin
- mikobaktini – amini odgovorni za dobijanje Fe, stres proteini, tuberkulini – bakterijski peptidi
- muramil dipeptid, vosak D

Infekcija – respiratorni i digestivni trakt

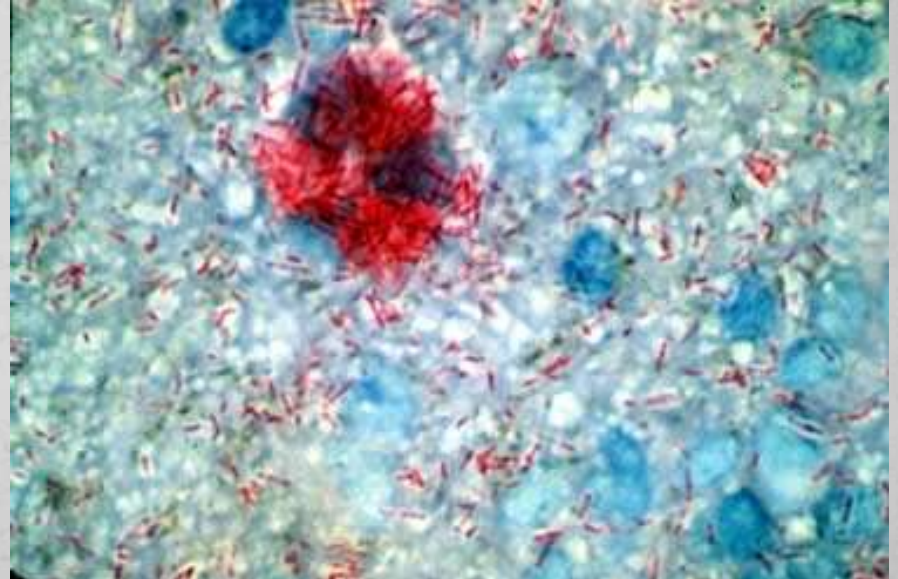
Primarni afekt

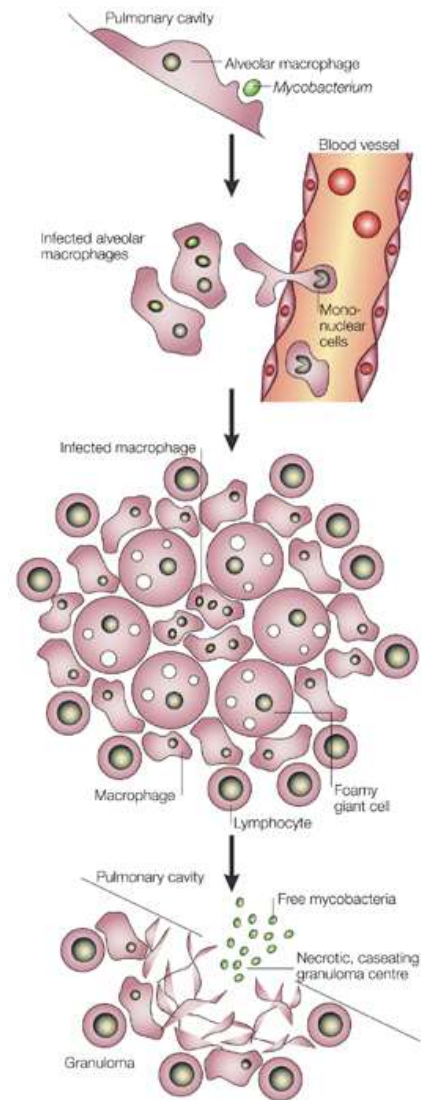
- inflamatorna reakcija
- nakupljanje histiocita i monocita
- inficirani makrofag IL-12 stimulacija T_{H1} limfocita - produkcija γ interferona, GM-CSF, MIF



Granulomi – tuberkuli

- epiteloidne ćelije i Langhans džinovske ćelije, T limfociti, vezivno tkivo
- citotoksični T limfociti ubijaju inficirane makrofage – kazeozna nekroza





GRANULOMA

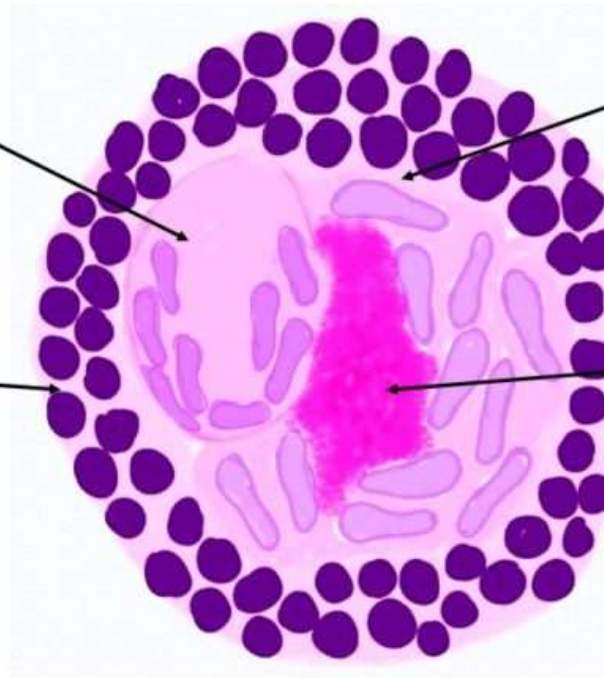
Langhans Giant cell

Clusters of epithelioid cells surrounded by lymphocytes

Epithelioid cells with pale elongated nuclei

Amorphous, eosinophilic granular debris material with complete loss of cellular details

CASEOUS NECROSIS
on gross examination



- **Primarni kompleks** - određen broj makrofaga dospeva do regionalnog limfnog čvora
- **Proliferativna forma produktivno hronično zapaljenje**
- Tuberkuloza prouzrokovana *M.tuberculosis* i *M.bovis* - goveda, ovce i koze
- **Eksudativna forma – eksudacija tečnosti i kazeozna nekroza, konji, mesožderi, ptice**



- **Primarni kompleks – primarno infektivno ognjište**

- sudbina zavisi od imunskog stanja organizma, infektivne doze, virulencije i *Mycobacterium* vrste

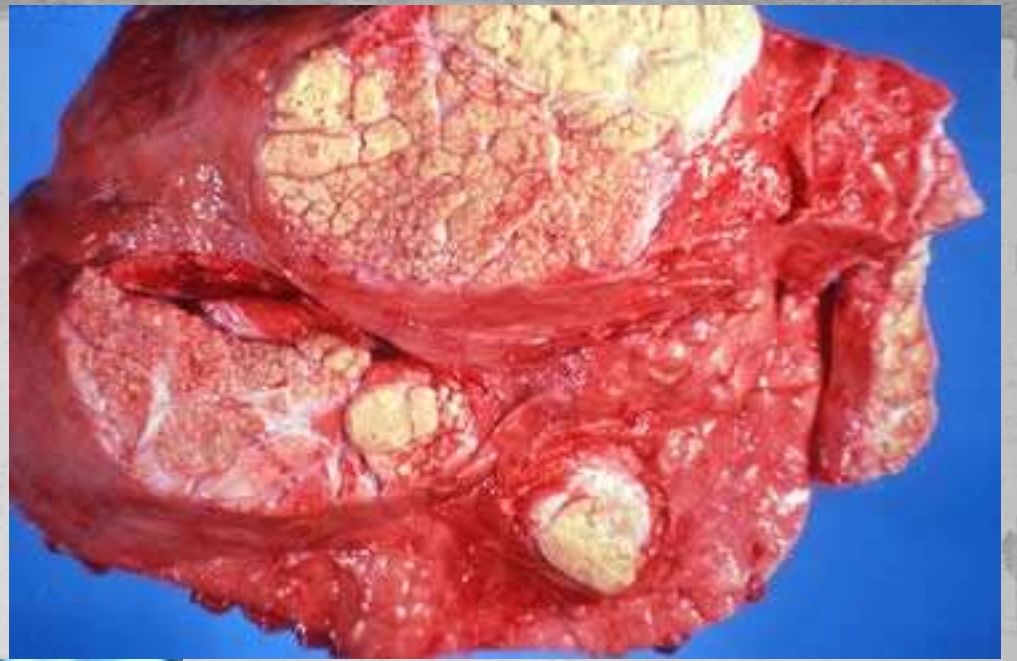
- **inkapsulacija, kalcifikacija i osifikacija**

- širenje na druga mesta – **rana generalizacija**

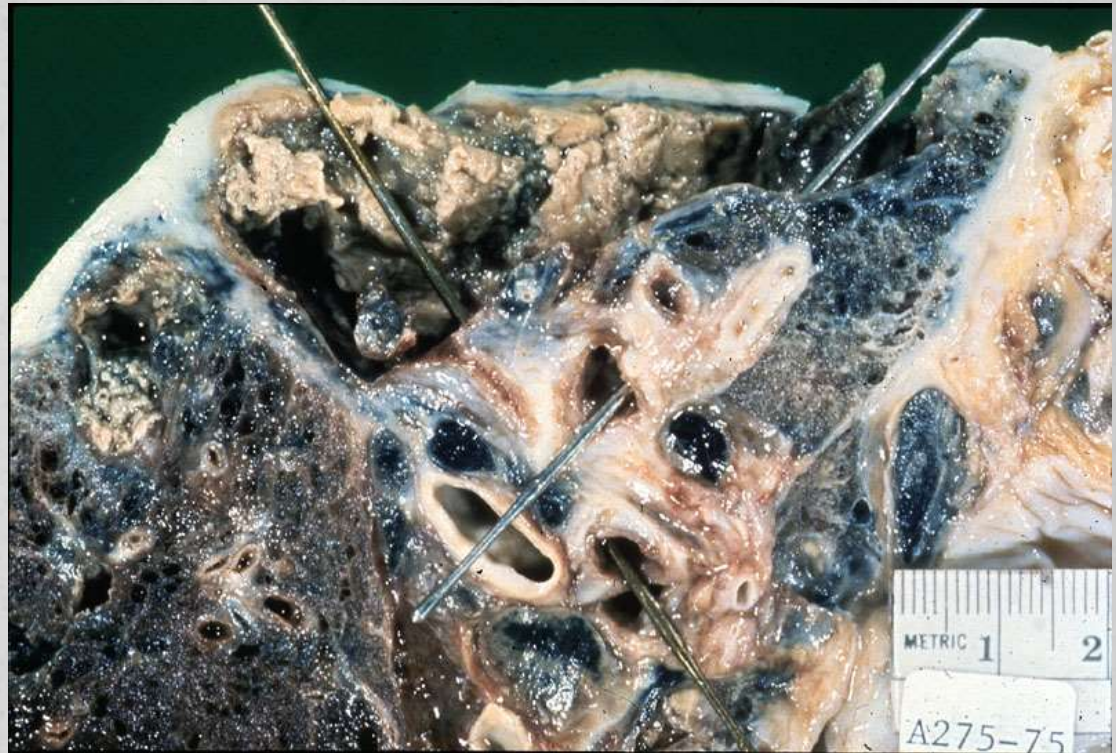
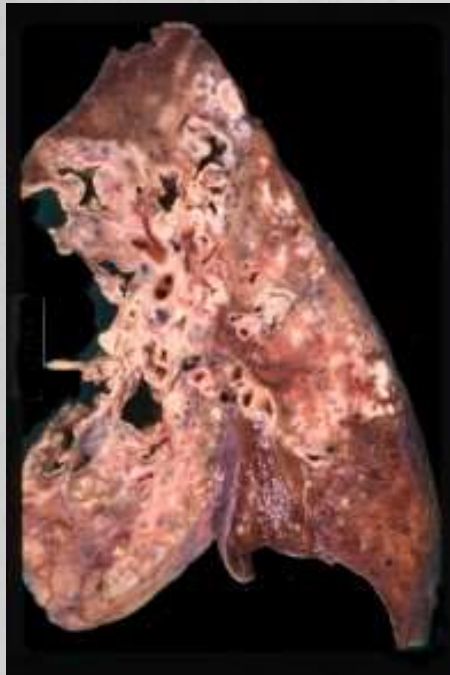
- pad imunosti organizma – sekundarna tuberkuloza - **hronična tuberkuloza i kasna generalizacija**

Granulom



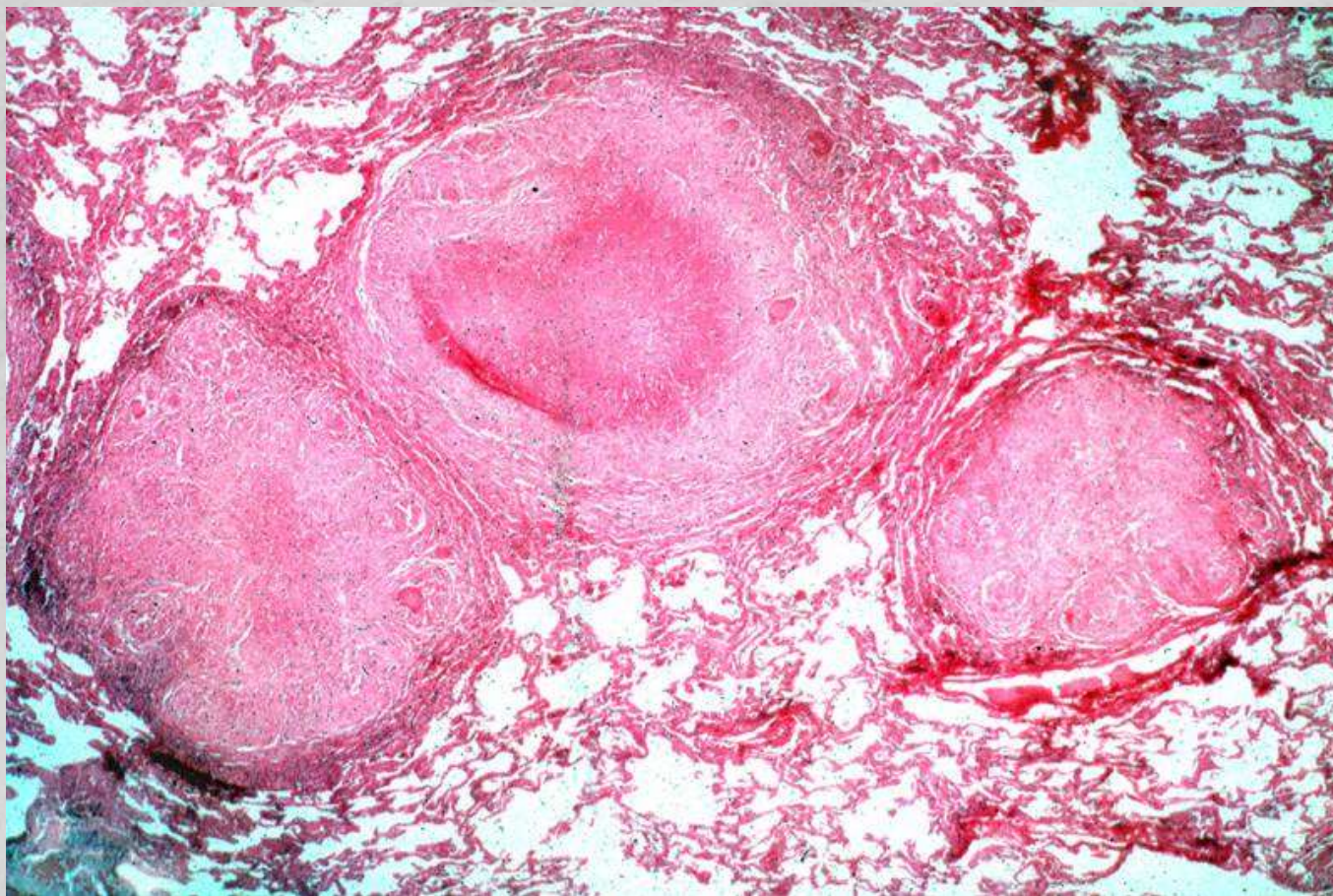


Kaverne u plućima

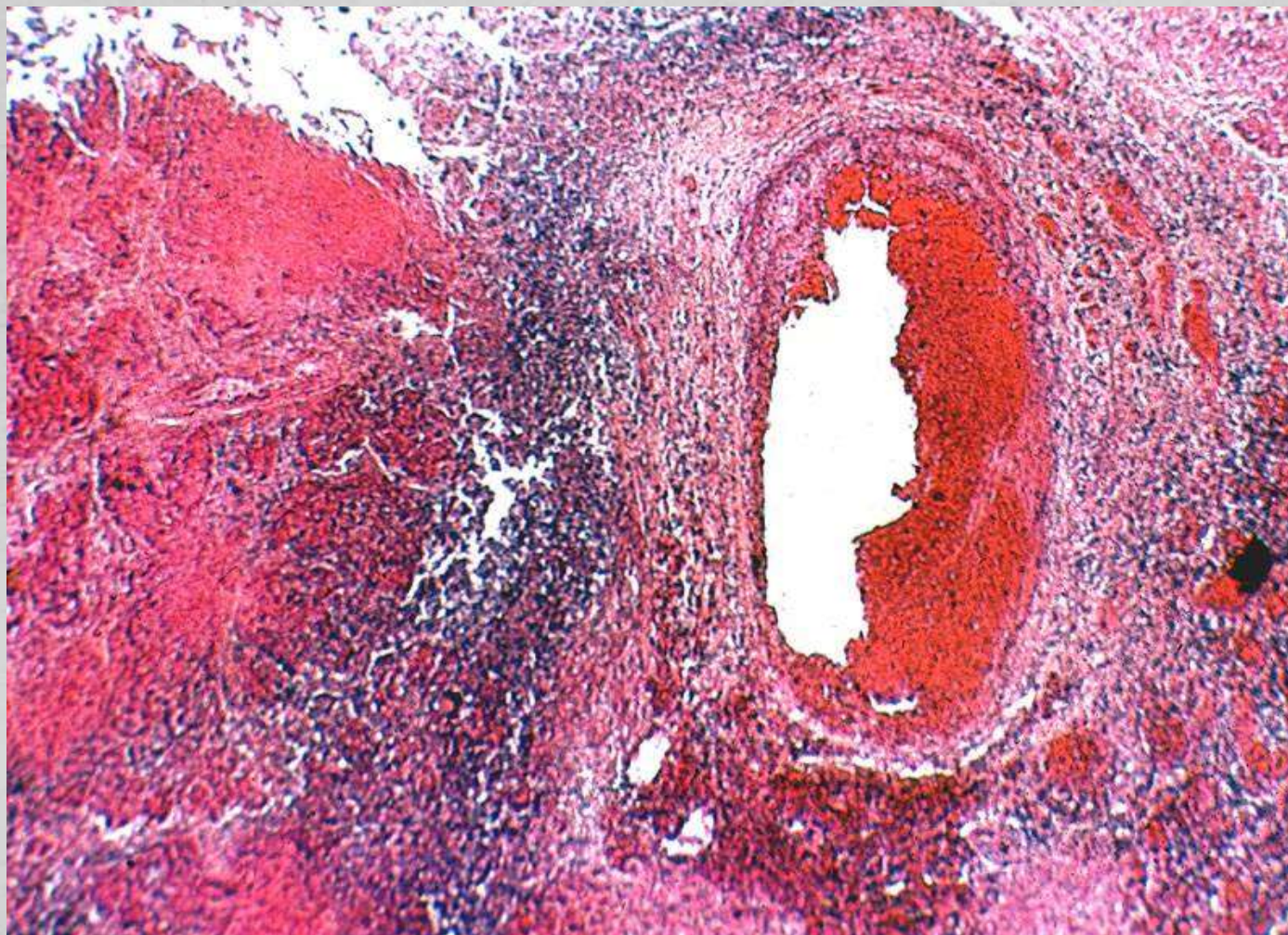


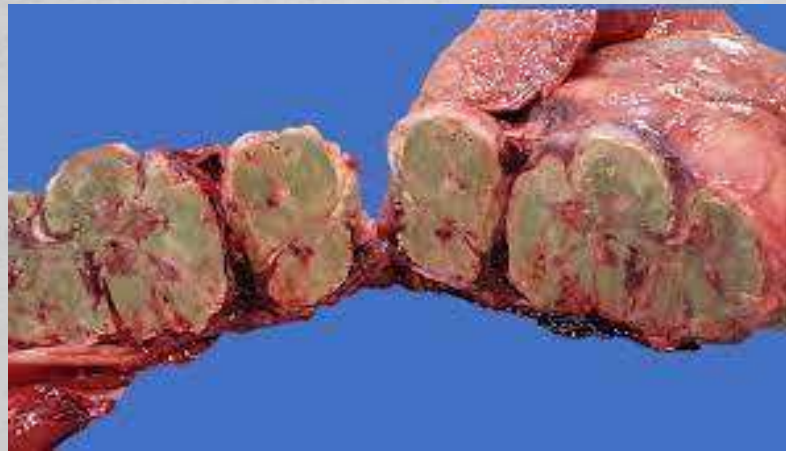


Milijarna tuberkuloza



Oštećenje krvnih sudova





Laboratorijska dijagnostika

- uzorci – žive životinje – aspirati, bioptati, traheobronhijalna lavaža, mleko
- uginule životinje – sveže i fiksirano tkivo u 10% formalinu, limfni čvorovi..

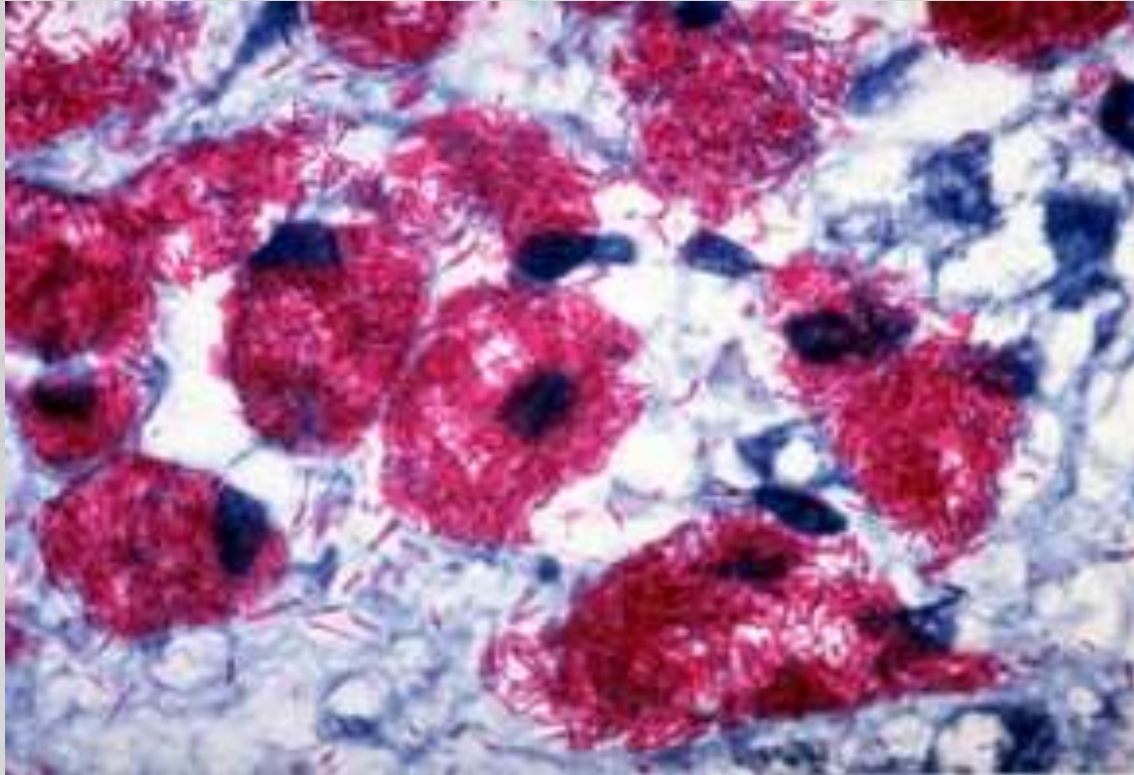
mikroskopski preparati direktno iz materijala

- bojenje po Zeihl-Neelson-u ili sa fluorohromima (auramine, acridine-orange ...), tanki izduženi štapići 0,2-0,6 x 1,0-10,0 μm

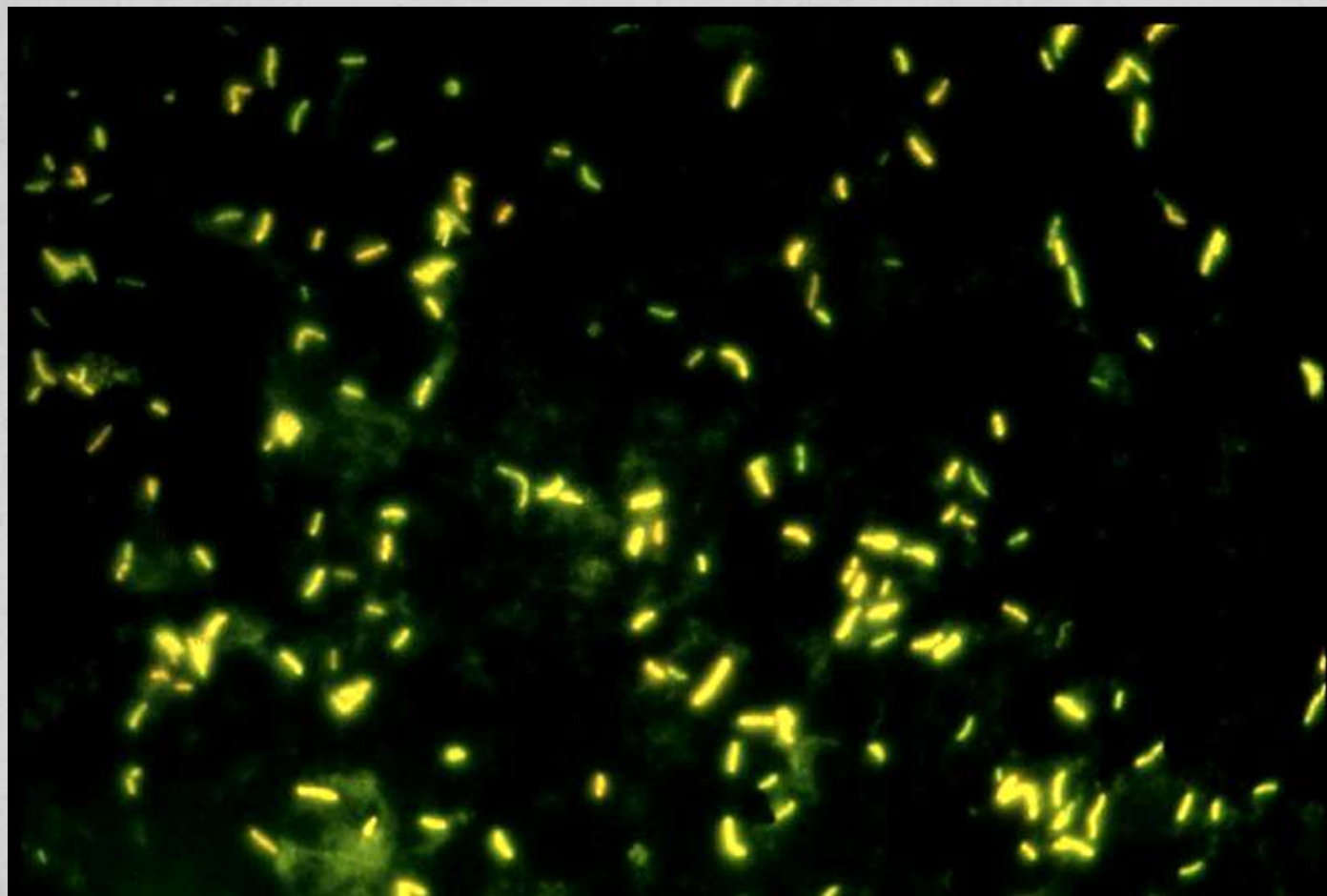
M.bovis i *M.avium subsp.avium* preko 4 μm ,

M.avium subsp. paratuberculosis manji od 2 μm

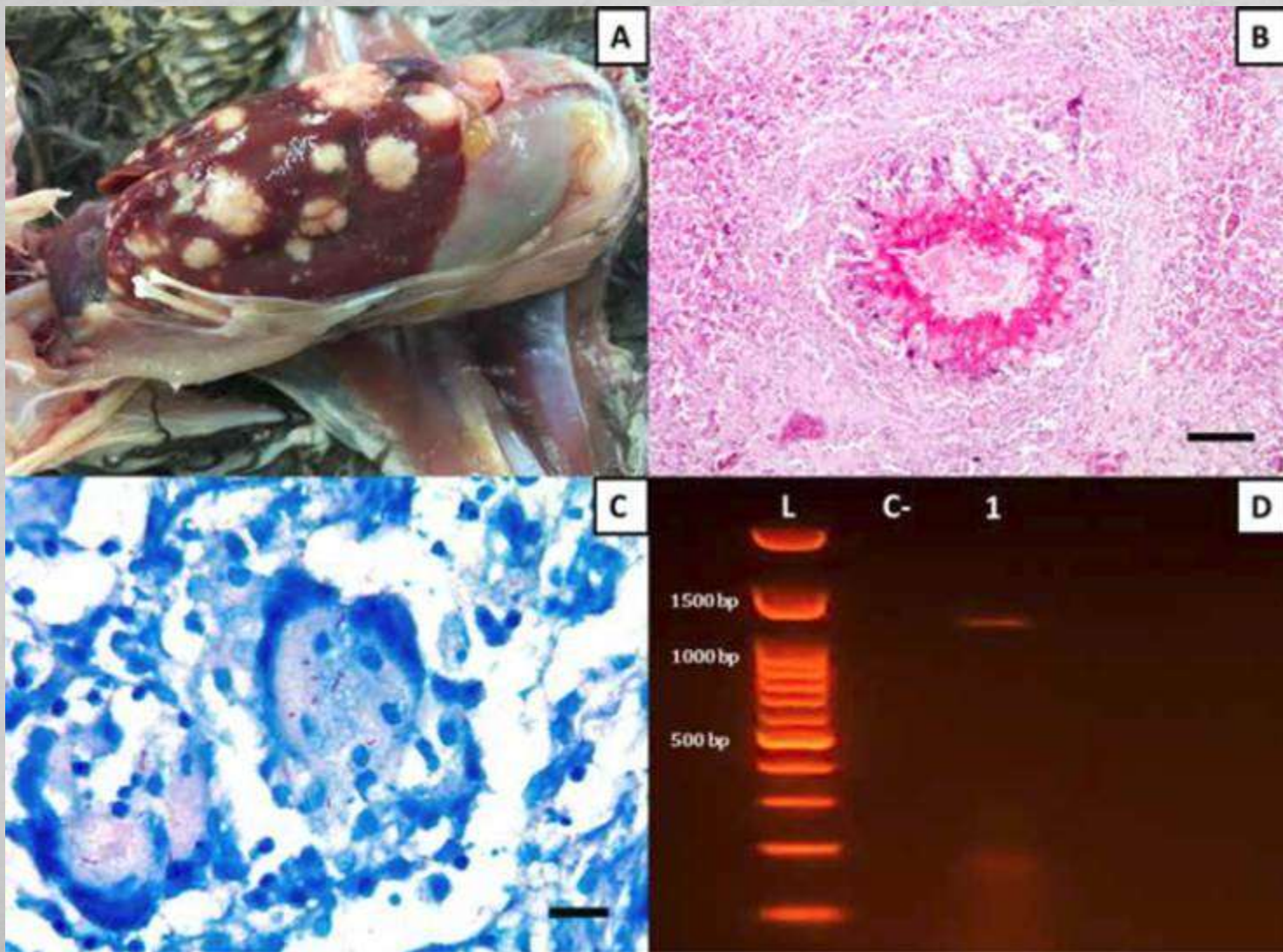
Bojenje po Zeihl-Neelson-u



Bojenje sa fluorohromima
- Sputum - TB Auromine/Rhodamine



Tuberkuloza ptica



Izolacija

- opasnost po zdravlje ljudi – rad u Biohazard komorama
- **selektivna dekontaminacija** – 2-4% NaOH, 5% oksalinska kiselina ...
- rastvaranje mucina – N-acetil-L-cistin
- koncentrisanje
- **Hranljive podloge**
Lowenstein-Jensen i Stonebrinks



- **Sporo rastu** – generacijski period 24 časa
- **Kulture čuvati najmanje 6 nedelja**
- **Brži rast na tečnim podlogama**



Identifikacija vrste

- uslovi kultivisanja, brzina rasta, izgled kolonija
- biohemijske osobine
- **biološki ogled**
- hromatografija – masne kiseline
- molekularne tehnike – PCR, DNK **probe**



	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i> complex	<i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>
Brzina rasta	3-8 nedelja	3-8 nedelja	2-6 ned.	i preko 16 nedelja
Opt. temperatura	37 °C	37 °C	37-43 °C	37 °C
Kolonije	rapave, čvrste	Krem boje, trošne, ispupčene	Lepljive, beličaste, trošne	Sitne,
Faktori rasta	Ne	ne	ne	mikobactin
Glicerol	Poboljšava rast Eugoničan	Inhibira Disgoničan	Poboljšava Eugoničan	
Na-piruvat	Nema efekat	Poboljšava	Nema efekat	
Niacin/ nitrati	+	-	-	
PYR proba	-	+	-	

M. tuberculosis

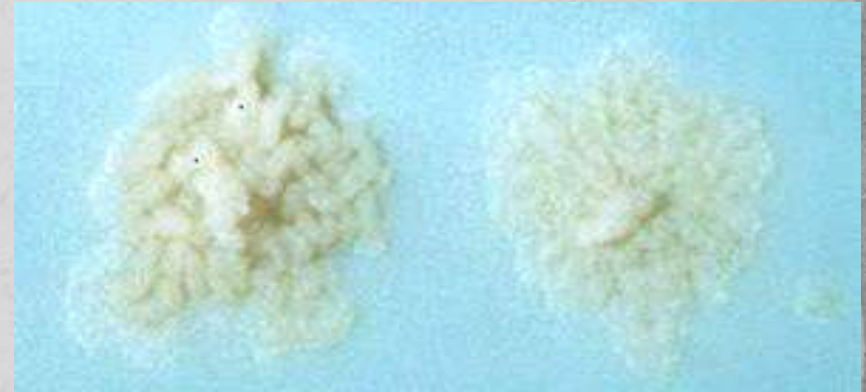
Lowenstein-Jensen -podloga sa malahit zelenim

Bolja selektivnost – cyclohexamide, lincomycin,
nalidiksinska kiselina

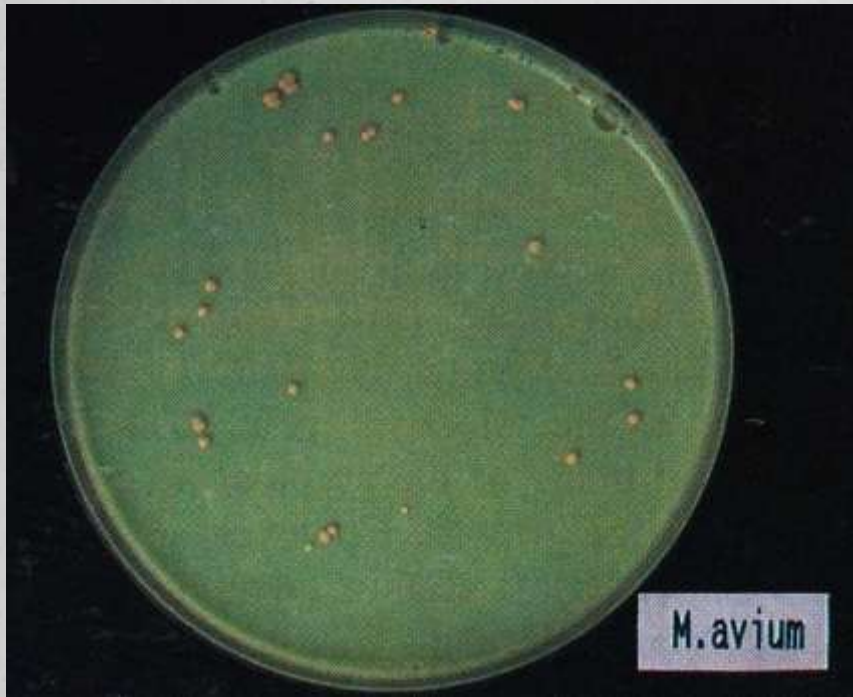


M. bovis

-Lowenstein-Jensen sa piruvatom



M. avium subsp. *avium*



Razlika kolonija *Mycobacterium avium* i *Mycobacterium tuberculosis*



Biološki ogled	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i>
Kunić Intravenozna inokulacija	$\underline{+}$ pluća	++ milijarna	++ generalizovana
Zamorac Subkutana inokulacija	++ generalizovana	++ generalizovana	-(+) fokalna
Kokoška Intravenozna inokulacija	—	—	++ generalizovana

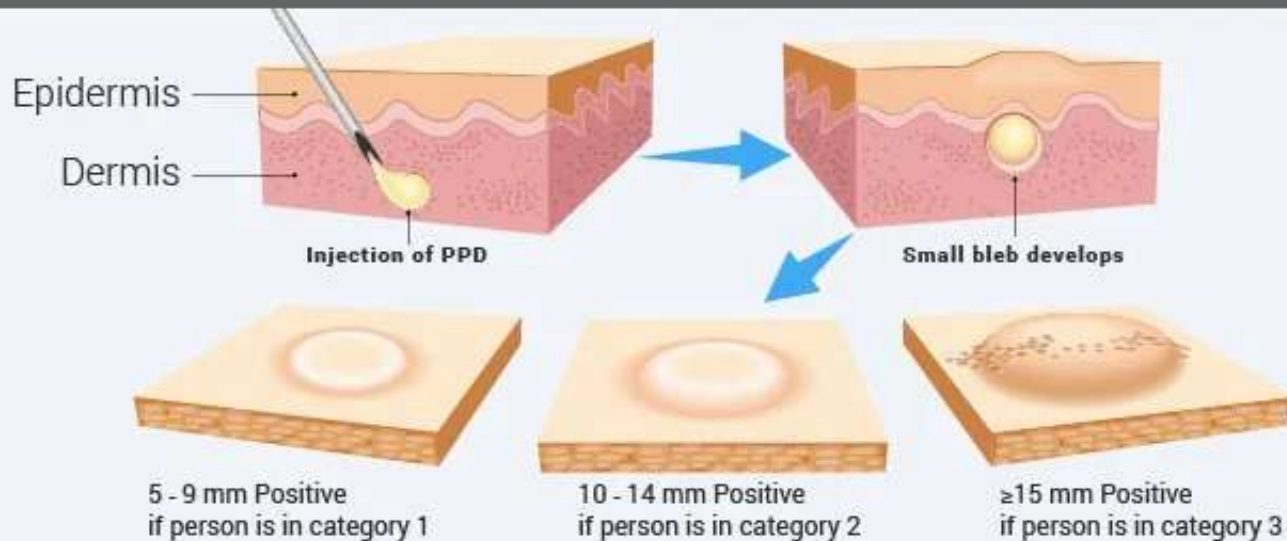
- Tuberkulinizacija** – M'Fadyean 1899. godine
- **reakcija kasne preosetljivosti** intradermalna inokulacija 0,1 ml tuberkulina – PPD
- zadebljanje kože –maksimalno nakon 72 časa-4mm



-**Tuberkulinizacija** – M'Fadyean 1899. godine

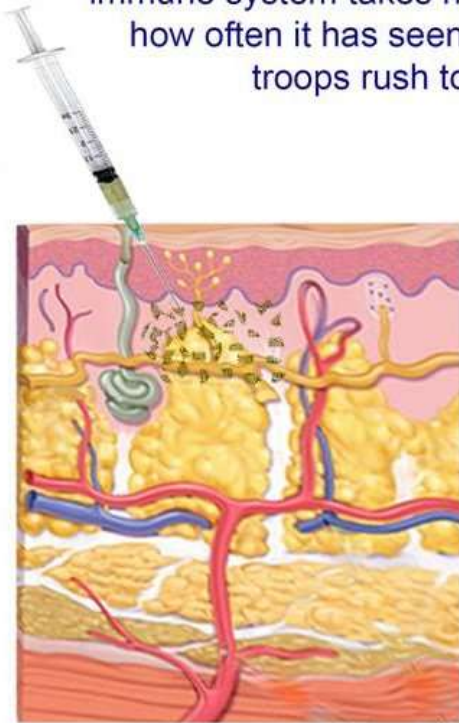
-Kod ljudi se naziva Mantoux test

Purified Protein Derivative (PPD) Test | Method of Detecting Tuberculosis

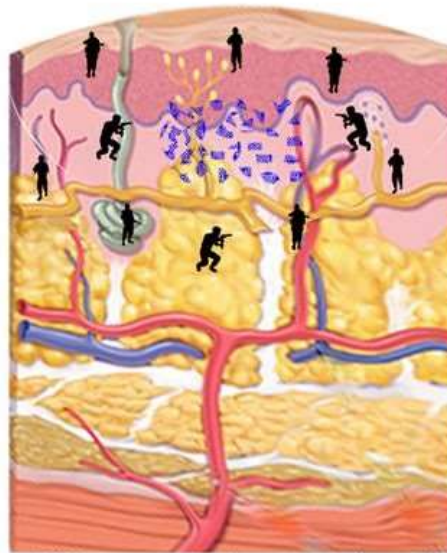


-Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine

Once the pieces of Mycobacteria are injected into the skin of the animal, the immune system takes notice and sends in its troops (immune cells). Depending on how often it has seen these bacteria before will determine how many immune troops rush to the spot where the Mycobacteria were injected.



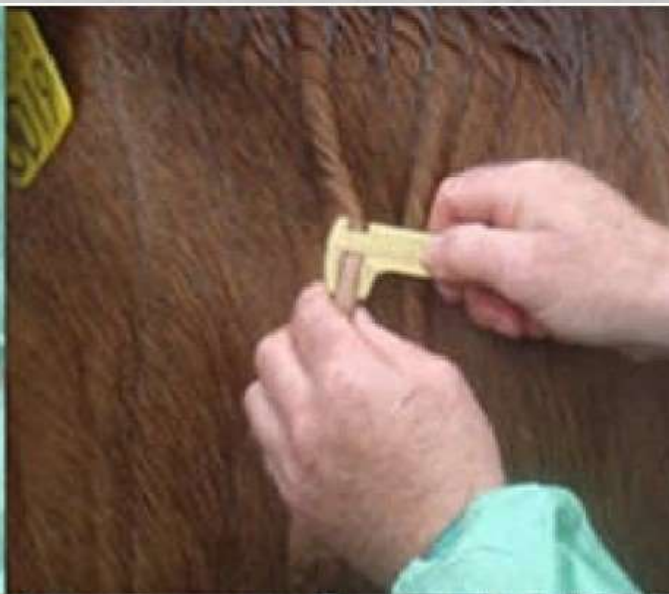
Injecting pieces of protein into the skin



This protein has not been seen before so only a few soldiers show up



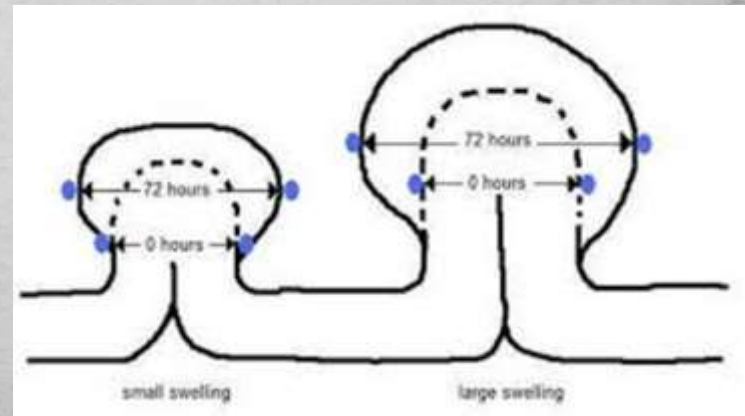
This protein has been seen before so the body sends in more troops



-Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine



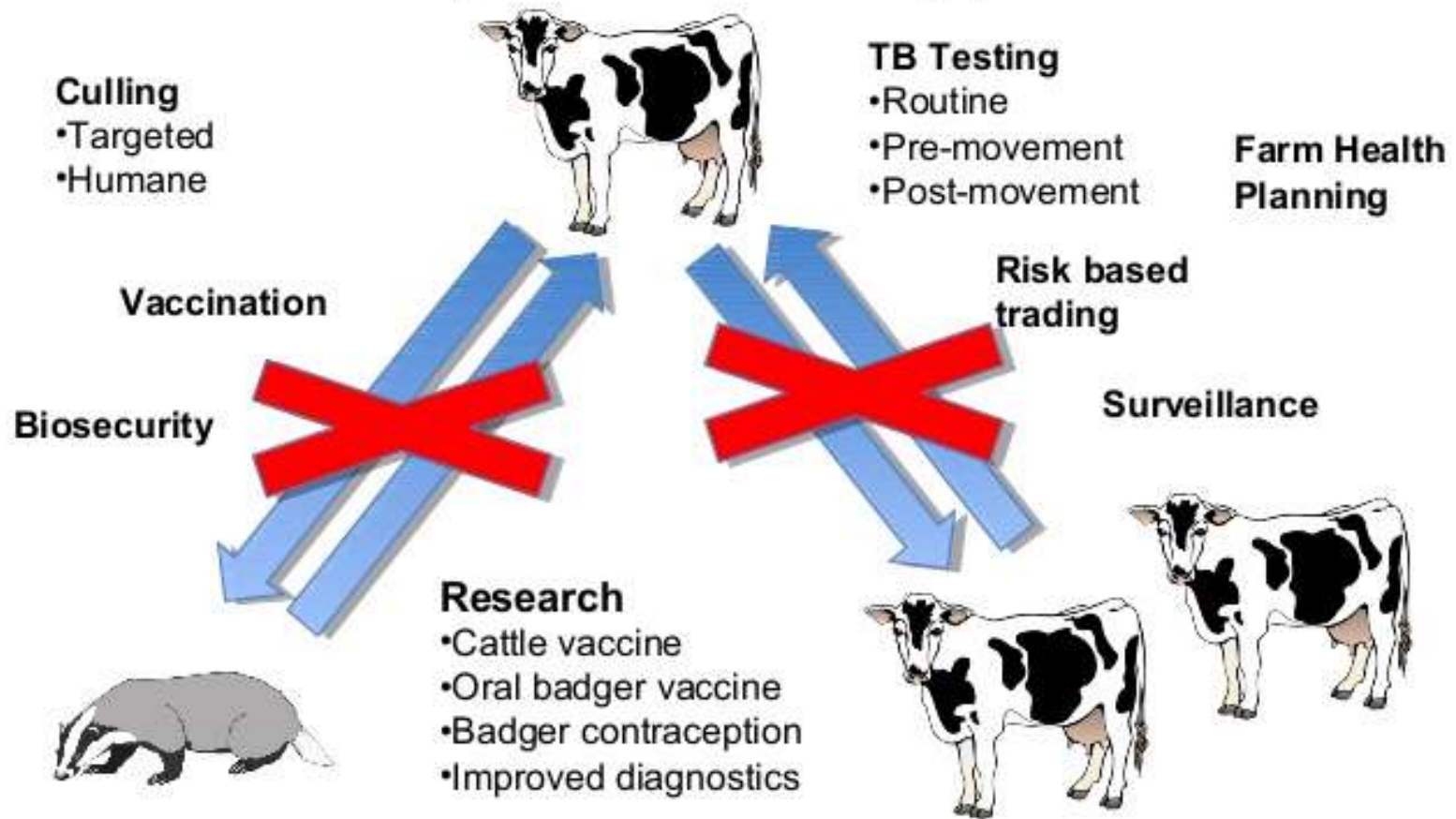
-Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine



-Tuberkulinizacija - Pravilnik o utvrđivanju Programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2022. godinu

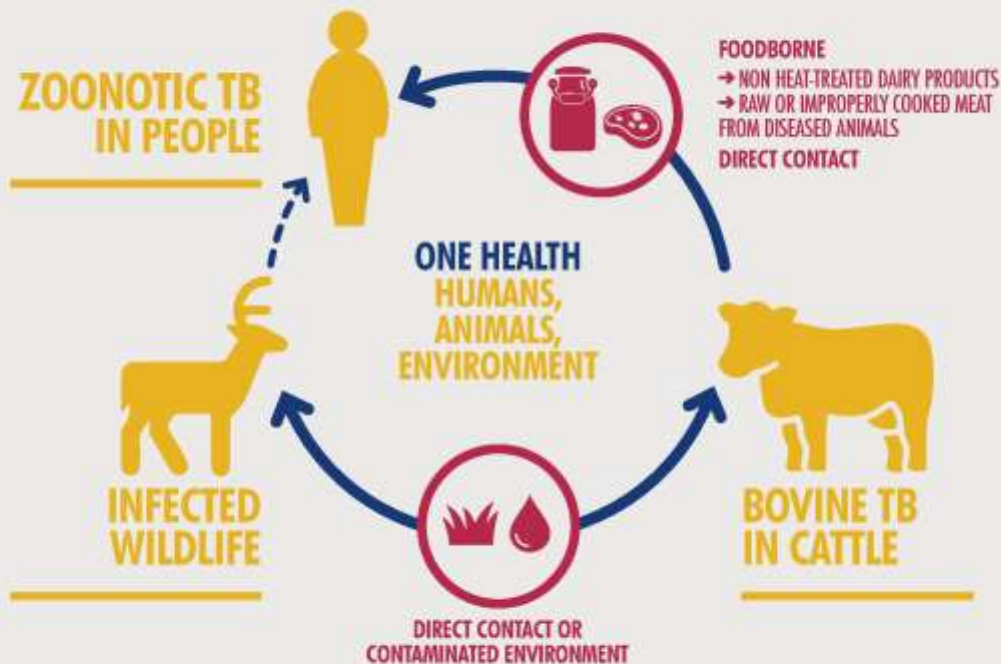
- Goveda, ovce i koze dijagnostički se ispituju jednom godišnje, i to goveda na: brucelozu, tuberkulozu i enzootsku leukozu, a ovce i koze na brucelozu, pri čemu period od poslednjeg ispitivanja ne sme da bude kraći od šest ni duži od 12 meseci, odnosno u cilju određivanja statusa gazdinstva na navedene bolesti kod goveda, prema planu Ministarstva.

A comprehensive approach



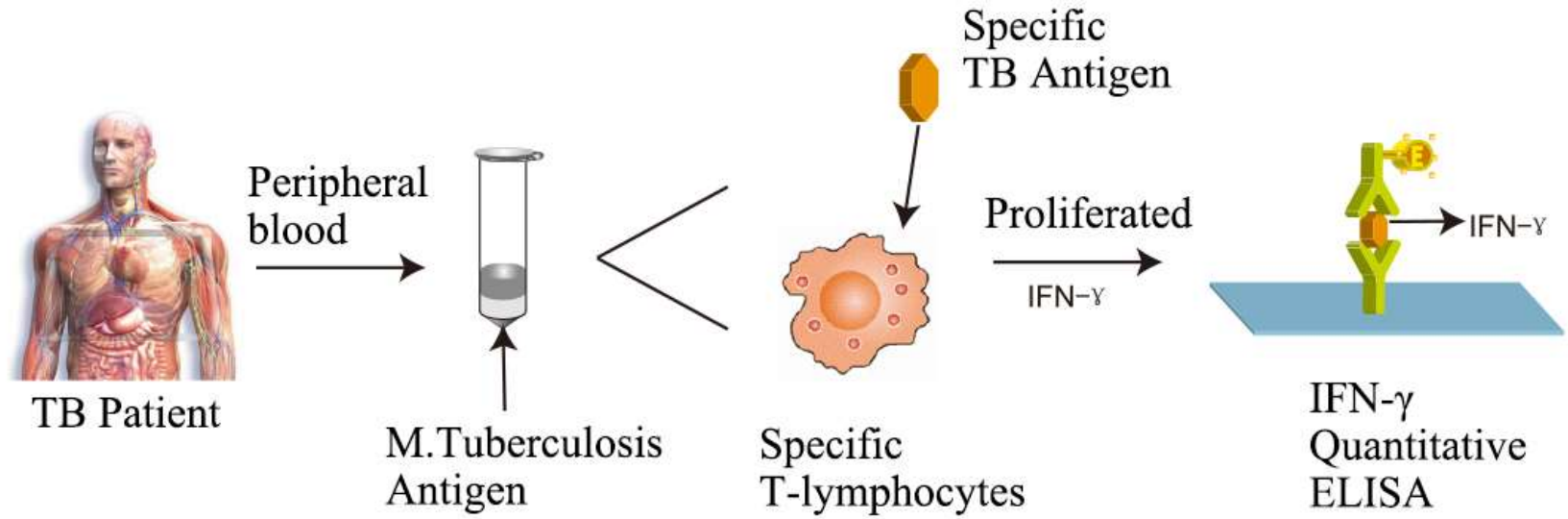
BREAKING THE CHAIN OF TRANSMISSION

STOPPING ZOONOTIC AND BOVINE TUBERCULOSIS IN THEIR TRACKS



ACT NOW TO SAVE LIVES AND SECURE LIVELIHOODS

γ interferonski test



γ interferonski test

Mitogen – Positive Control

Low response may indicate inability to generate IFN- γ

Nil – Negative Control

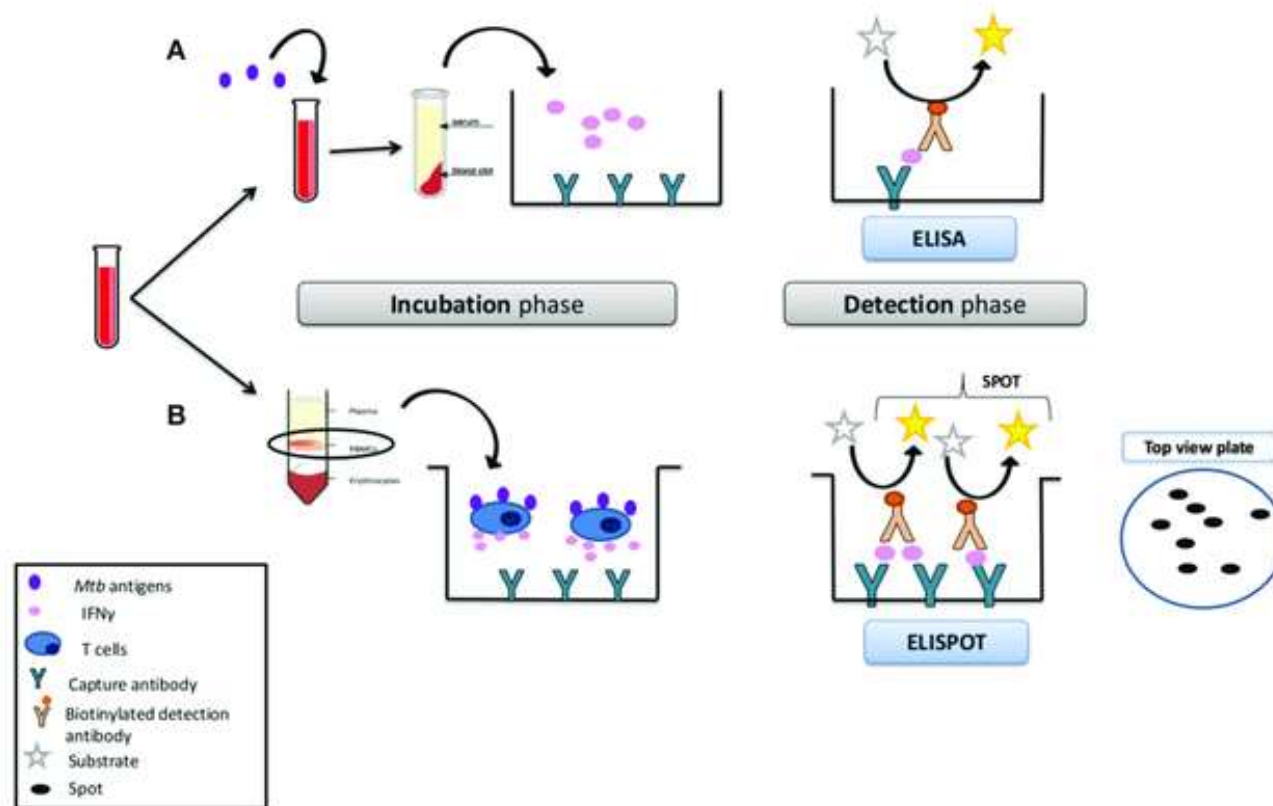
Adjusts for background IFN- γ

TB1 – Primarily detects CD4 T cell response

TB2 – Optimized for detection of CD4 and CD8 T cell responses



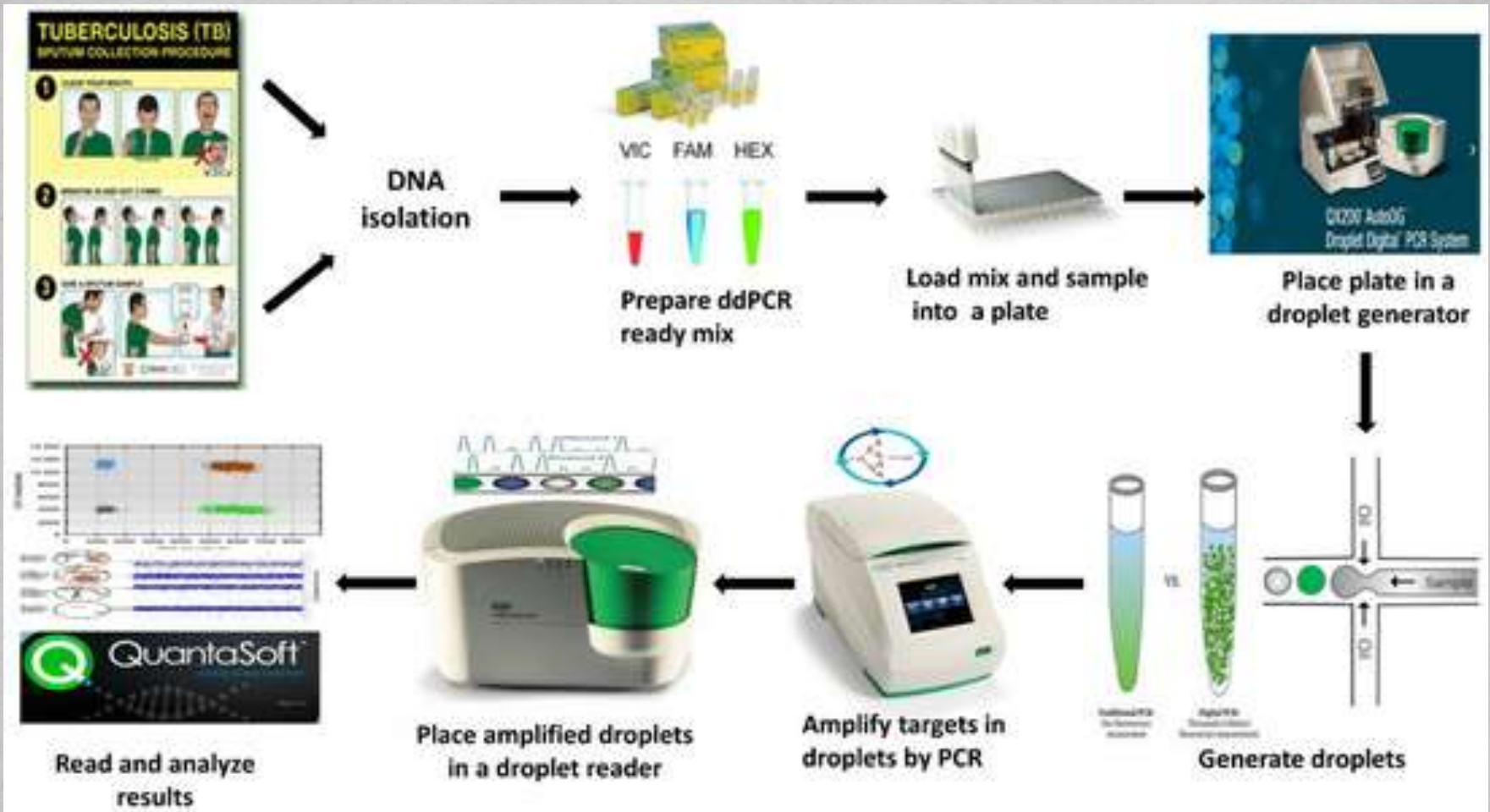
γ interferonski test



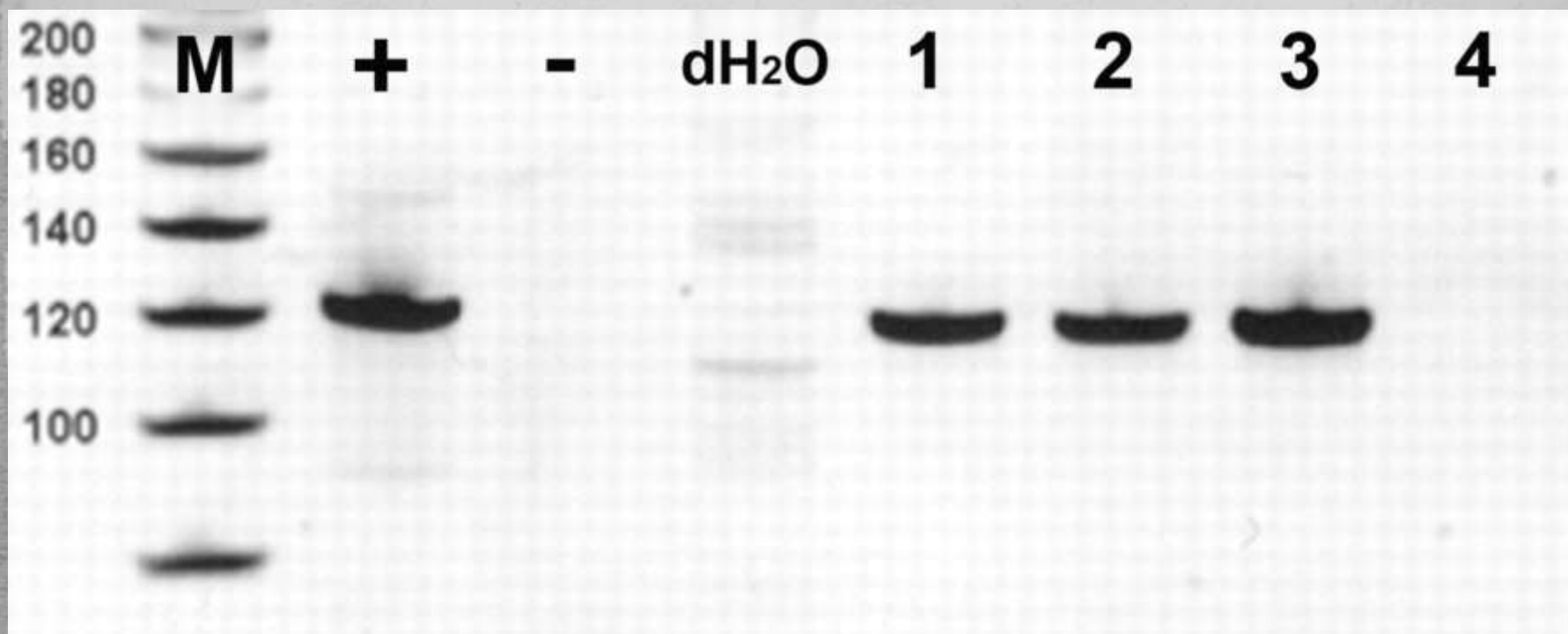
PCR metoda



PCR metoda



PCR metoda



Eradikacija tuberkuloze

– ubijanje inficiranih životinja

- **Ljudi – BCG – Bacillus Calmette-Guerin**

230 pasaža 1908- 1921.godina podloga sa glicerolom, žuči i krompirom

- Pasterizacija mleka 63 °C 30 minuta ili 72 °C 15 sekundi



Terapija - ljudi

- I - izonijazid, rifampin, etambutol, pirizinamid
- II – streptomycin, kanamicin, ofloksacin, ciprofloksacin

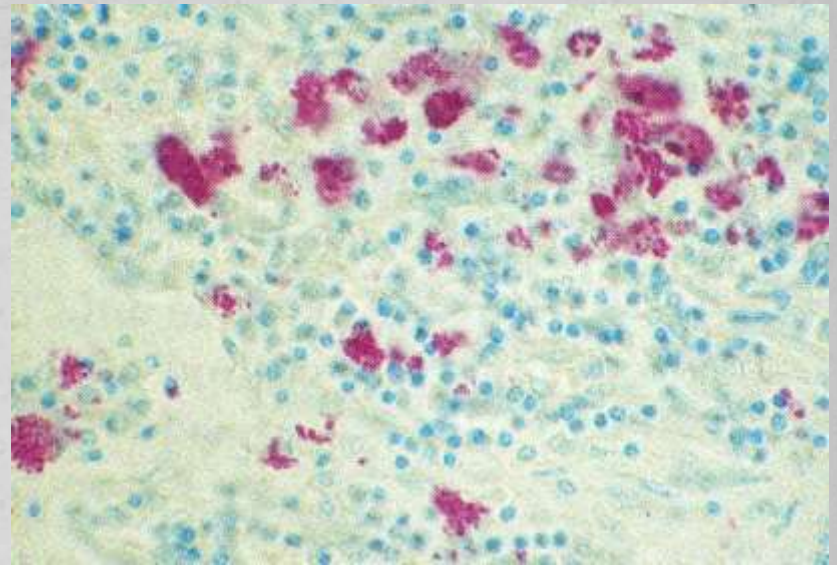


M.avium subsp.*paratuberculosis*

Paratuberkuloza - hronična,
kontagiozna bolest domaćih
i divljih preživara - enteritis
- Prvi put opisana 1895.godine

Johne i Frothingham

- Bang 1906.godine nije tuberkuloza
- **Crohns-ova bolest ljudi**
- **Preživljavaju pasterizaciju ?**



- **Infekcija-telad, inkubacija duga**
- Karakteristike - put infekcije – oralno
 - tropizam – creva
- patogenost specifičnost prema domaćinu – preživari
- Uzorci – bioptat creva, mezenterijalnih limfnih čvorova, feces – 15 g
- Bojenje po Zeihl- Neelson-u kratki crveni štapići u grupicama

Izolacija

- Herrold podloga sa jajima i mikobaktinom
- Kolonije pojava i nakon 16 nedelja
- Prevencija i kontrola - higijena, odvajanje teladi od majki, vakcina



M. lepraemurium — mačke formiranje granuloma, nodularne lezije na koži, ulceracije

- kultivisanje specijalna podloga, spor rast

Bojenje po Zeihl-Neelson-u, histopatologija

