

# ***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

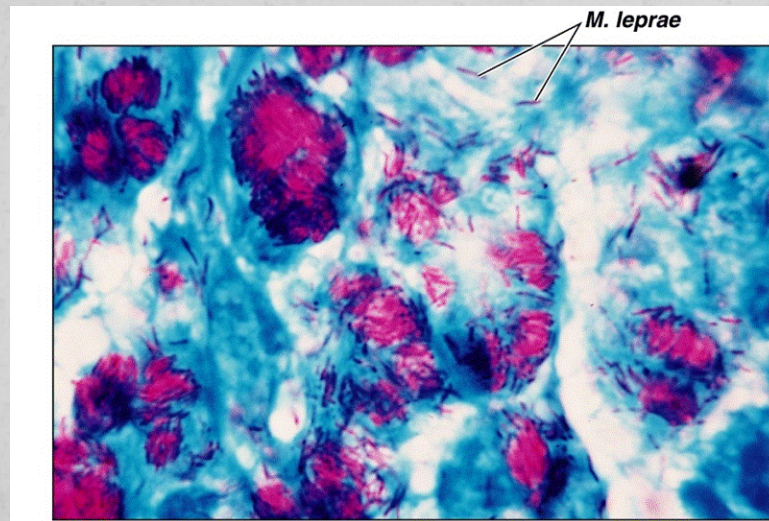
*M. avium* subsp. *avium* – ptice – izuzetak papagaji

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

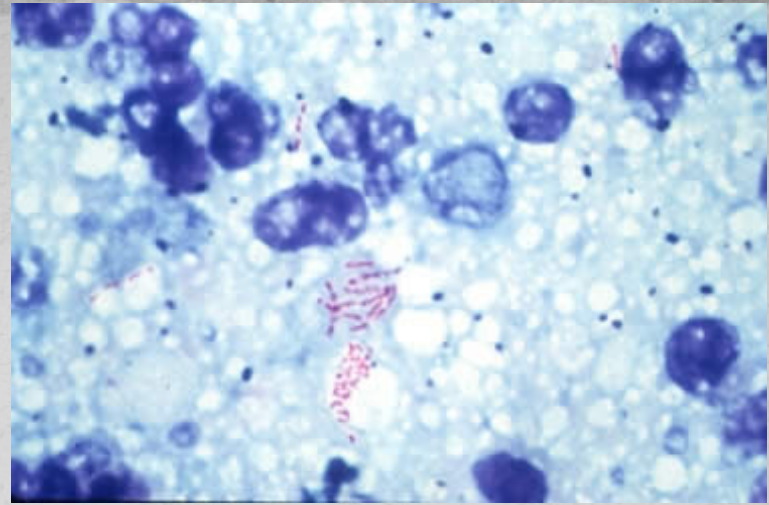
*M. avium* subsp. *paratuberculosis* – goveda, ovce, koze -  
paratuberkuloza

*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

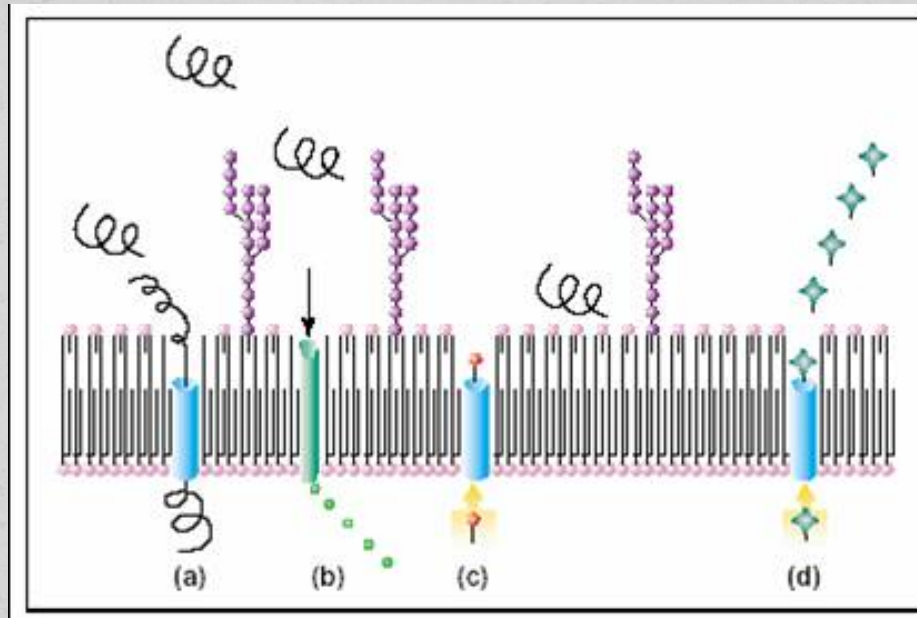


## *Mycobacterium* spp.



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

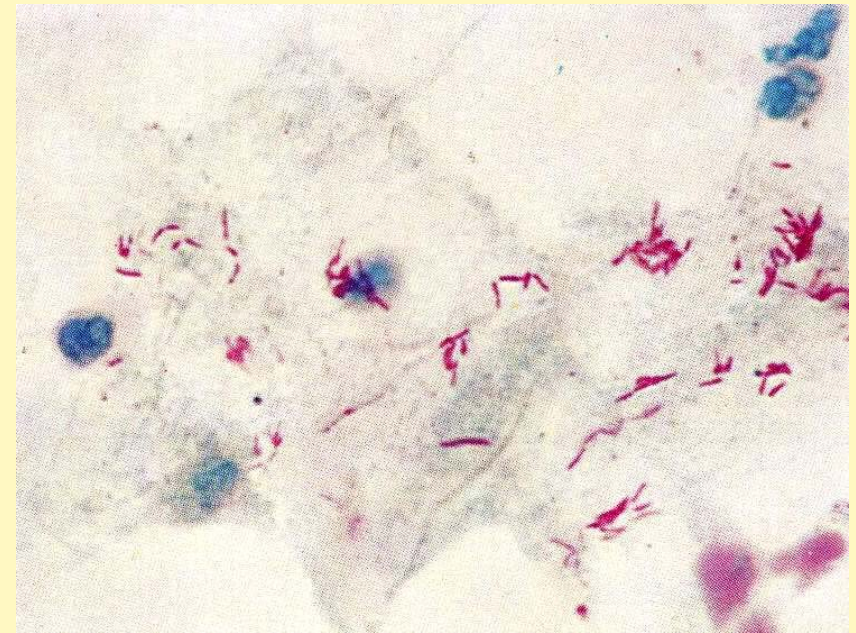
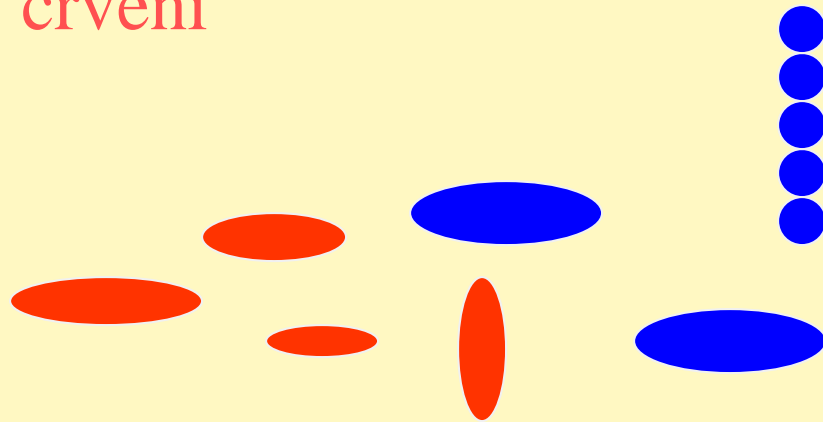
# Hemijski trokomponentni superpolimer – peptidoglikan, arabinogalaktan i mikolinska kiselina



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

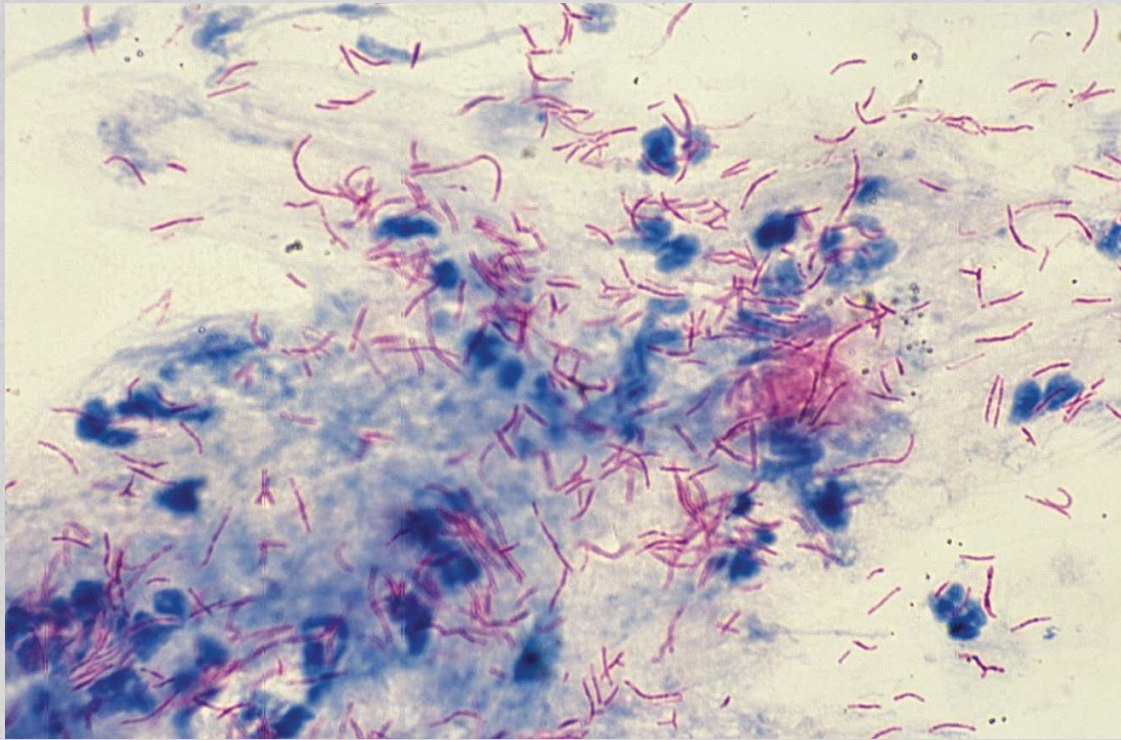
Acidorezistentni m.o.

crveni



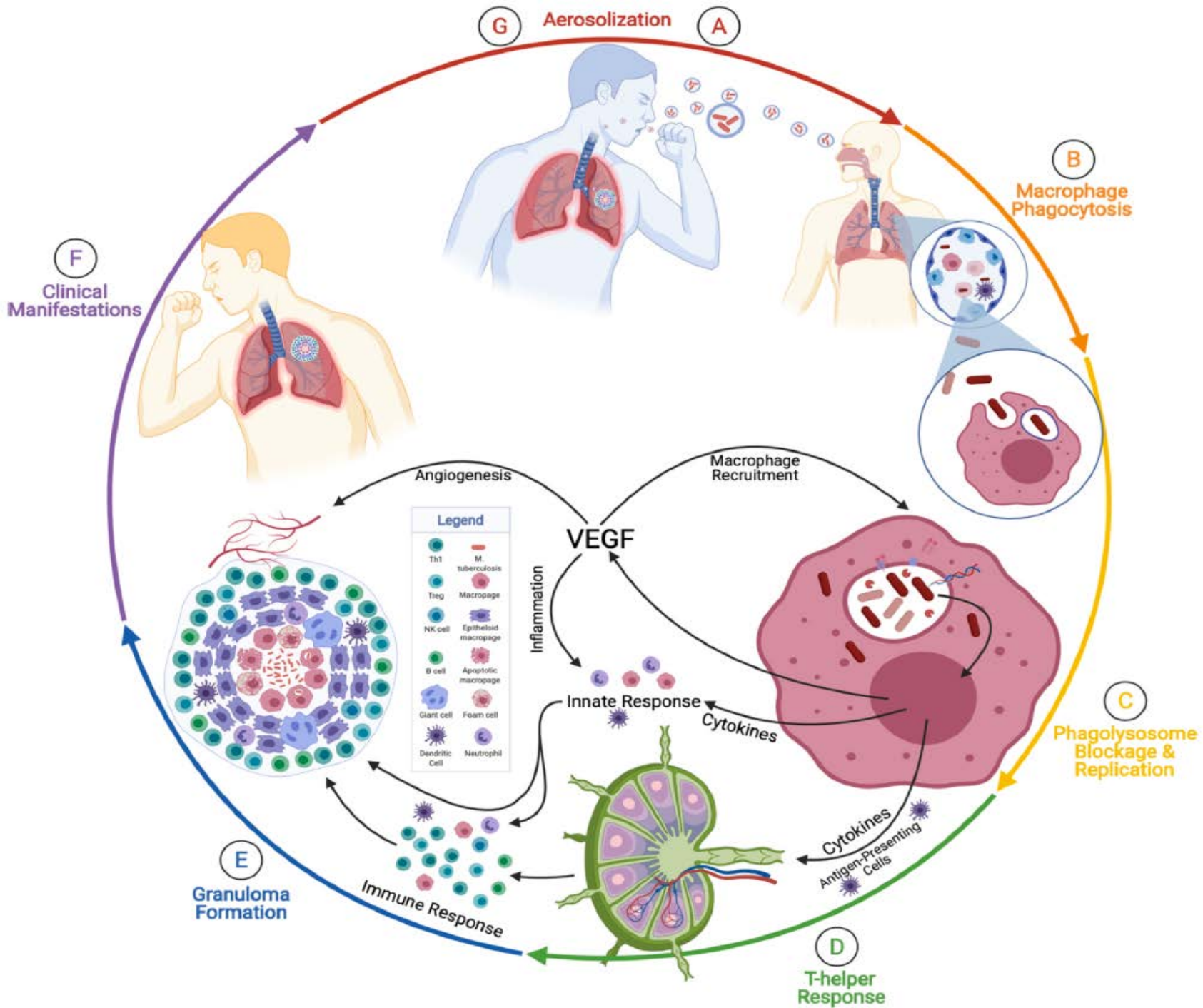
Ostali mikroorganizmi-plavi

# 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

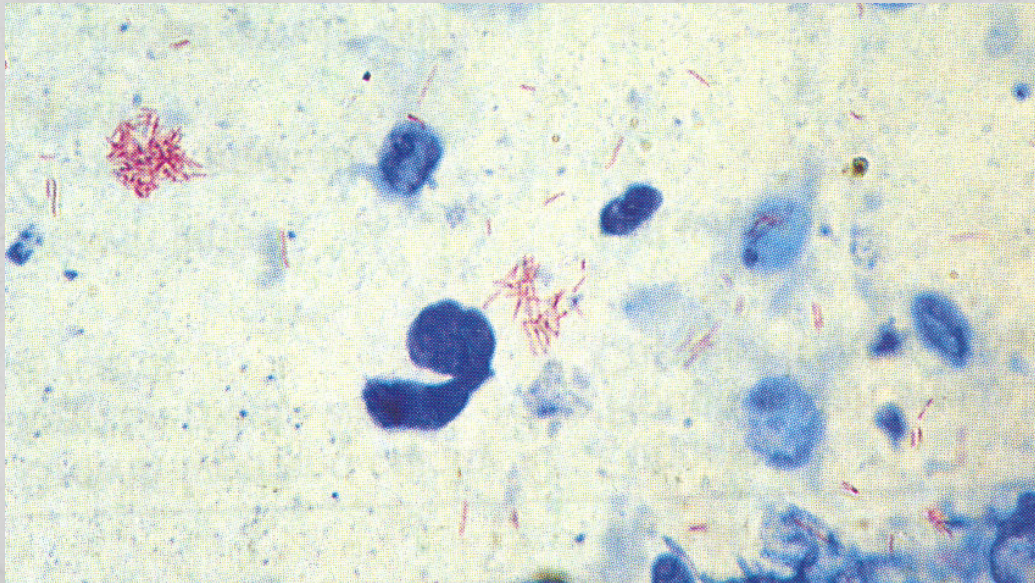


- sulfatidi – sulfolipidi i fosfolipid – fosfatidil inozitol manozid obezbeđuju **preživljavanje u fagocitima inhibicijom stvaranja fagolizozoma**
- sekretorni protein – antigen 85 vezuje za sebe fibronektin
- mikobaktini – amini odgovorni za dobijanje Fe, stres proteini, tuberkulini – bakterijski peptidi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

# Infekcija – respiratorni i digestivni trakt

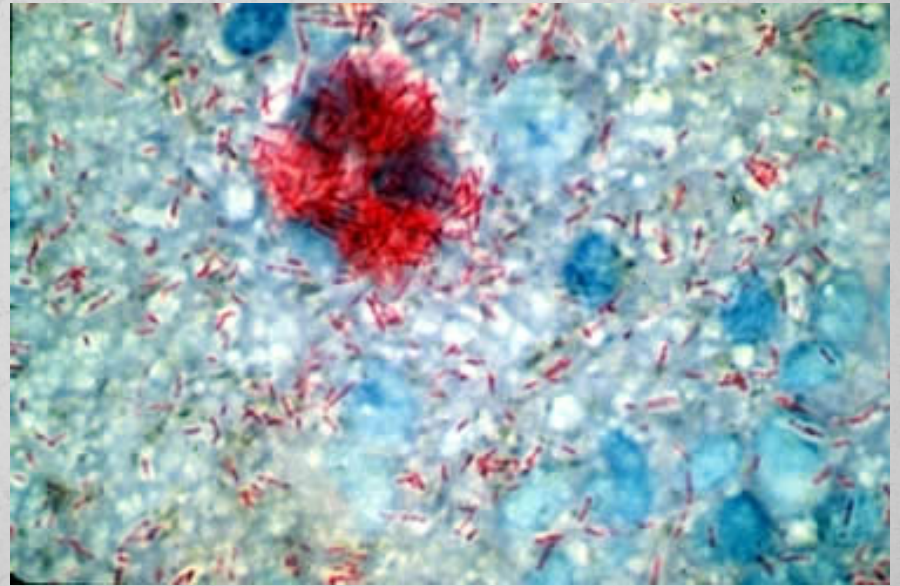
## Primarni afekt

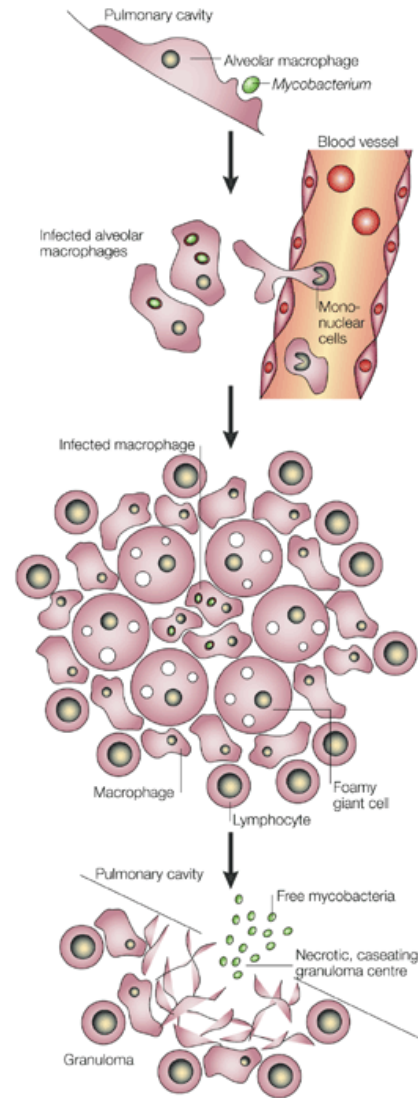
- inflamatorna reakcija
- nakupljanje monocita i histiocita
- inficirani makrofag IL-12 stimulacija  $T_{H1}$  limfocita - produkcija  $\gamma$  interferona, GM-CSF, MIF



## Granulomi – tuberkuli

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

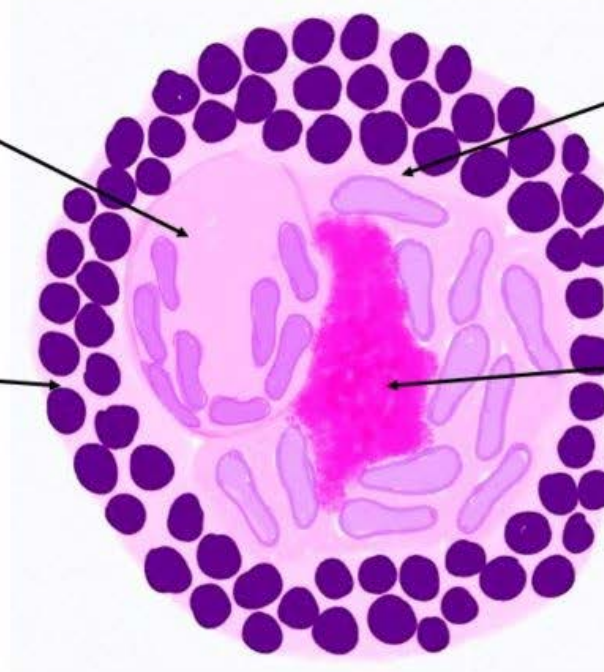




## GRANULOMA

Langhans Giant cell

Clusters of epithelioid cells surrounded by lymphocytes



Epithelioid cells with pale elongated nuclei

Amorphous, eosinophilic granular debris 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

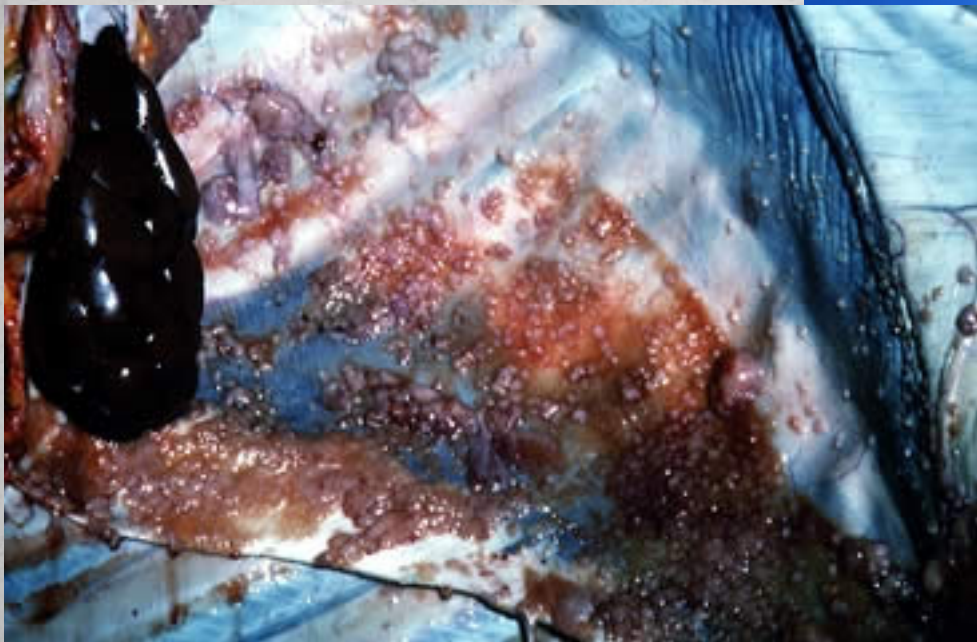
- **inkapsulacija, kalcifikacija i osifikacija**

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

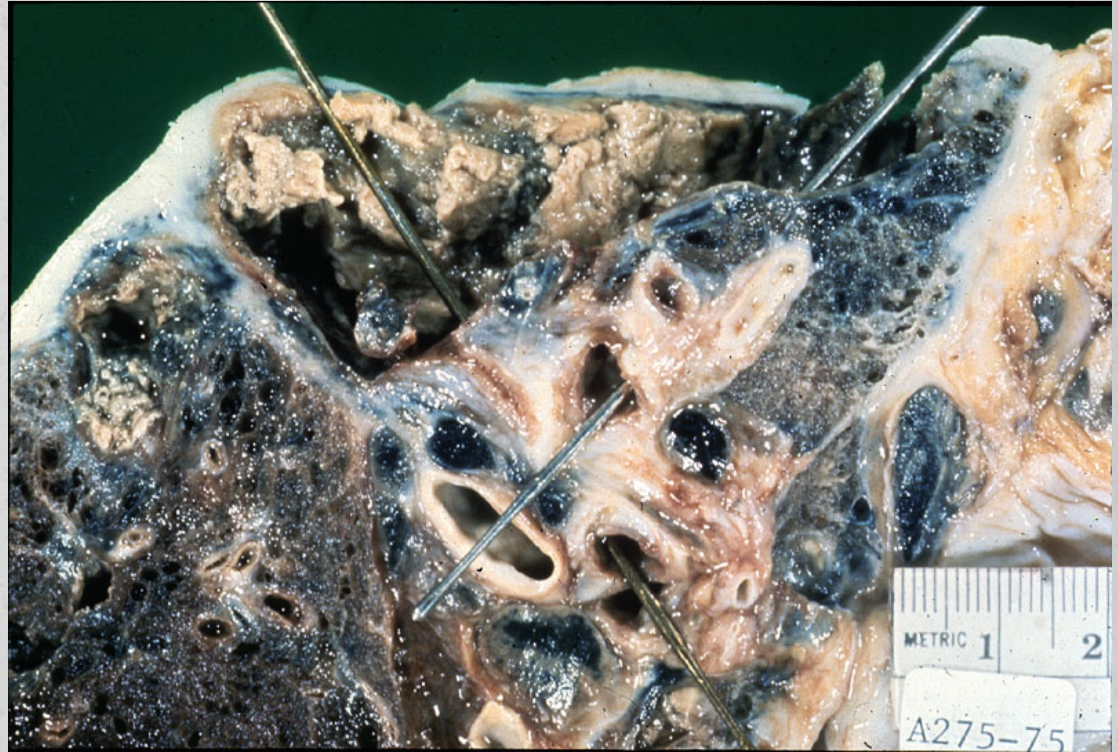
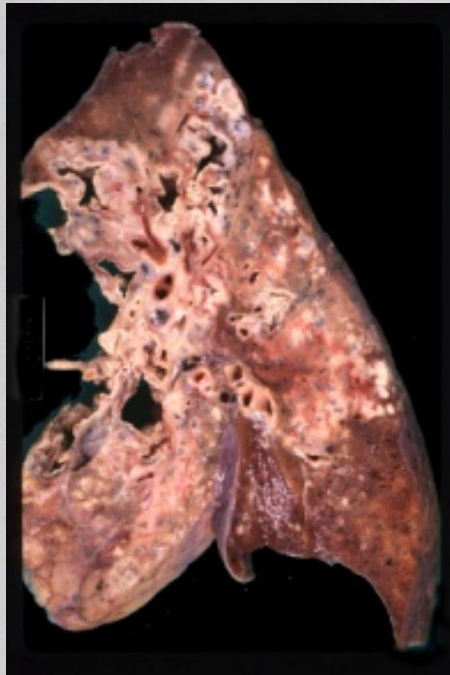
- pad imunosti organizma – sekundarna tuberkuloza - **hronična tuberkuloza i kasna generalizacija**

# Granulom



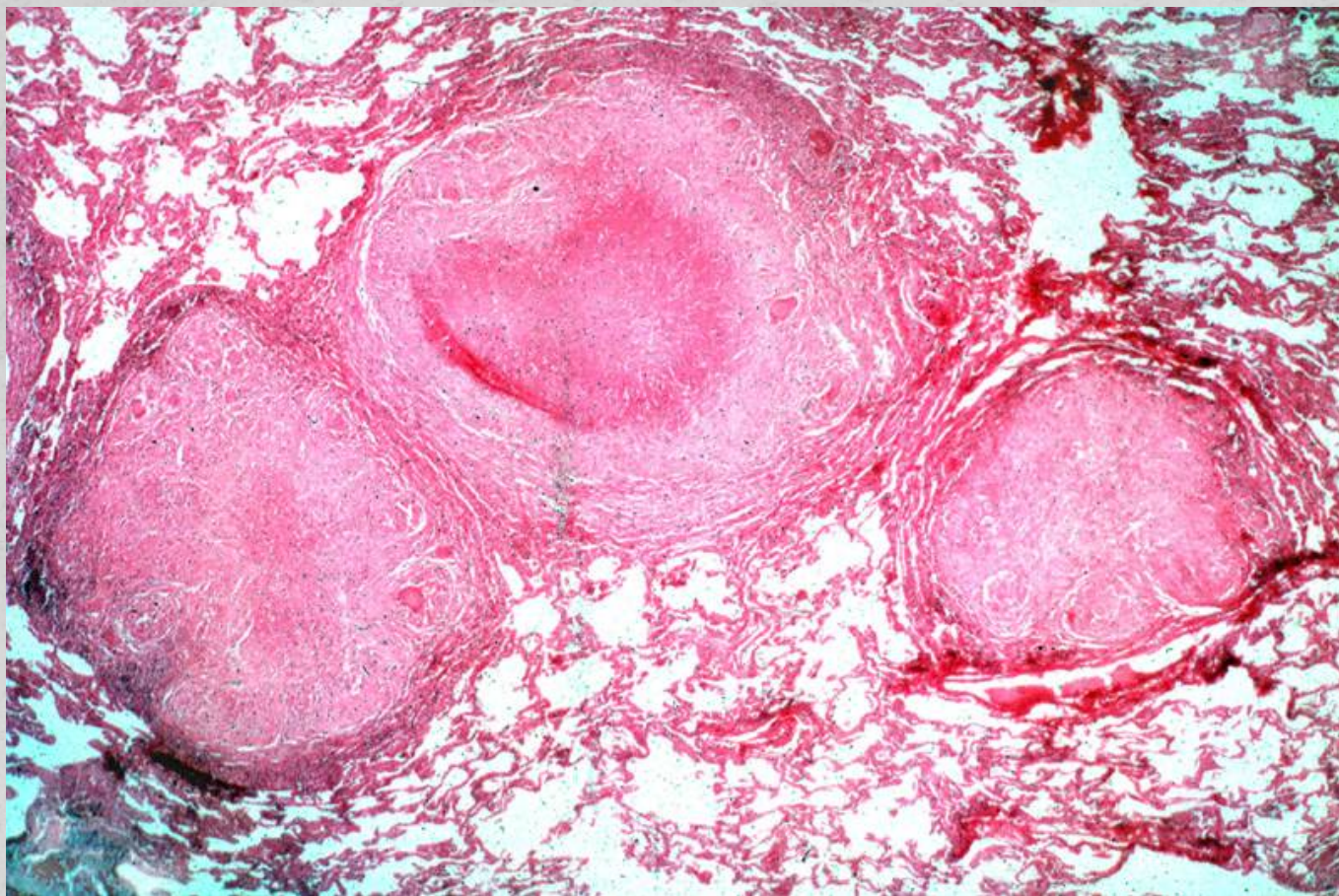


# Kaverne u plućima

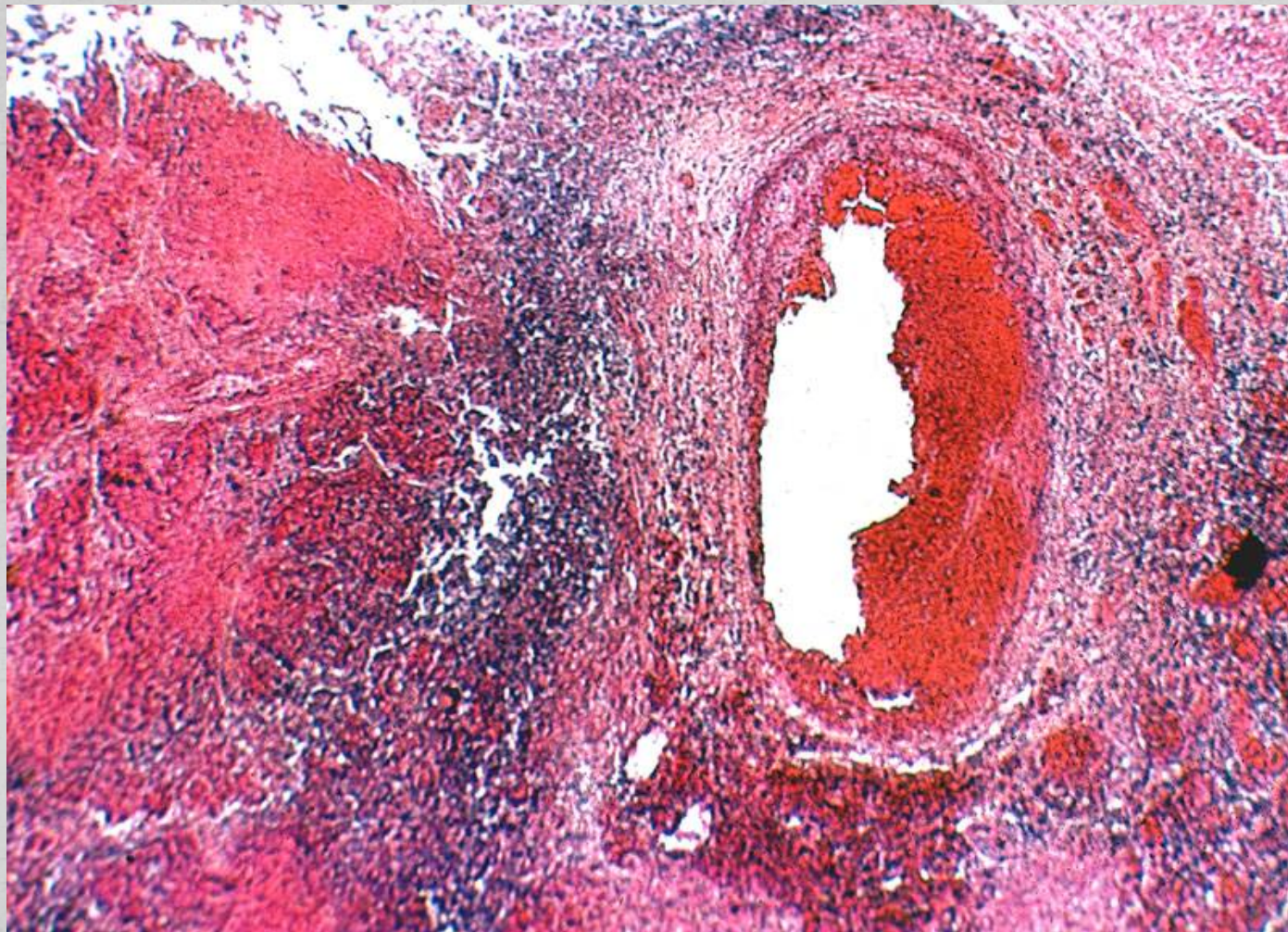


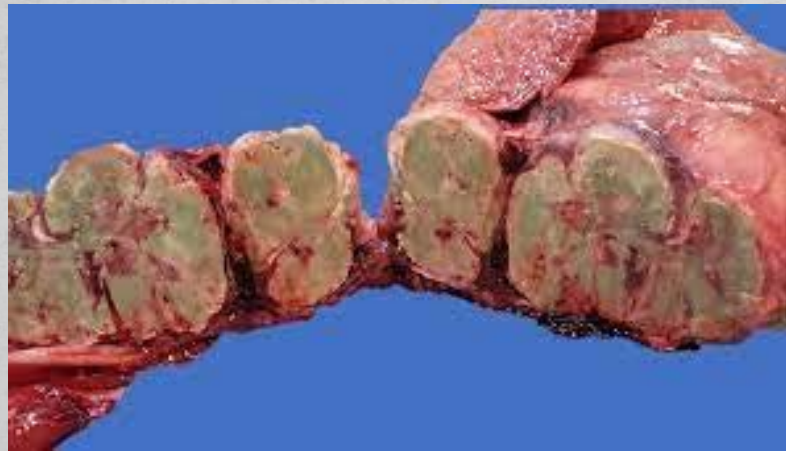


# Milijarna tuberkuloza



## Oštećenje krvnih sudova





## Laboratorijska dijagnostika

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

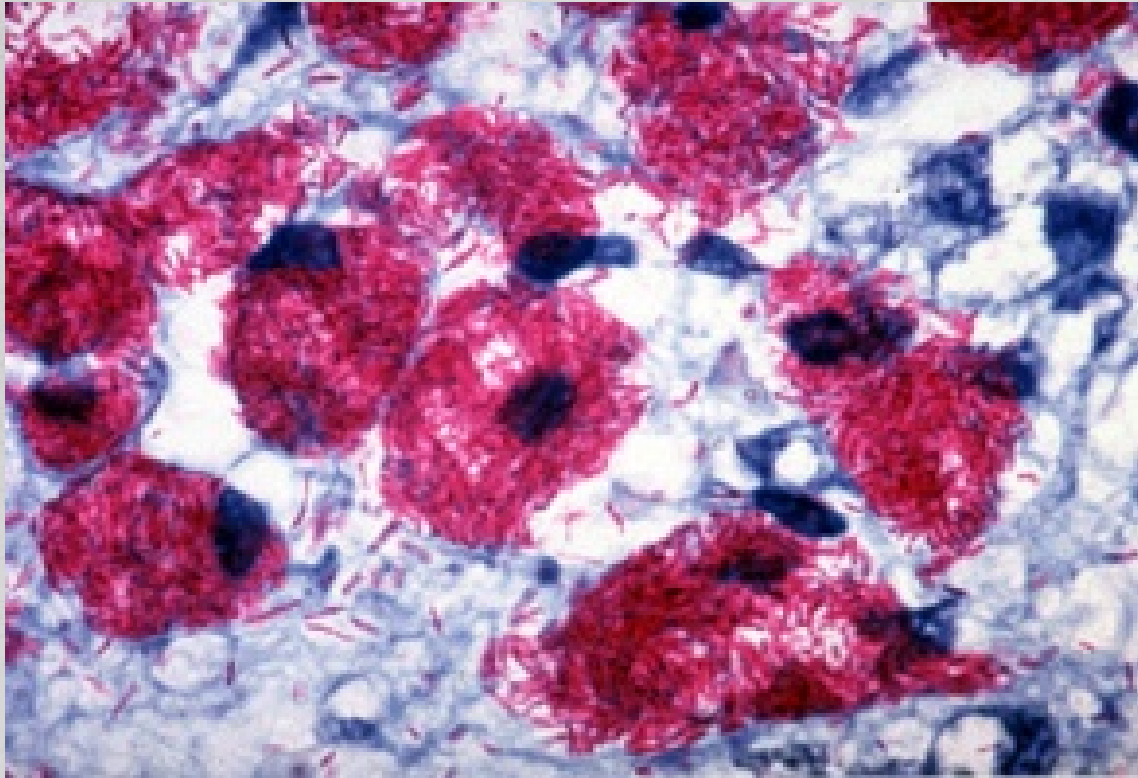
### **mikroskopski preparati direktno iz materijala**

- bojenje po Zeihl-Neelson-u ili sa fluorohromima (auramine, acridine-orange ...), tanki izduženi štapići 0,2-0,6 x 1,0-10,0  $\mu\text{m}$

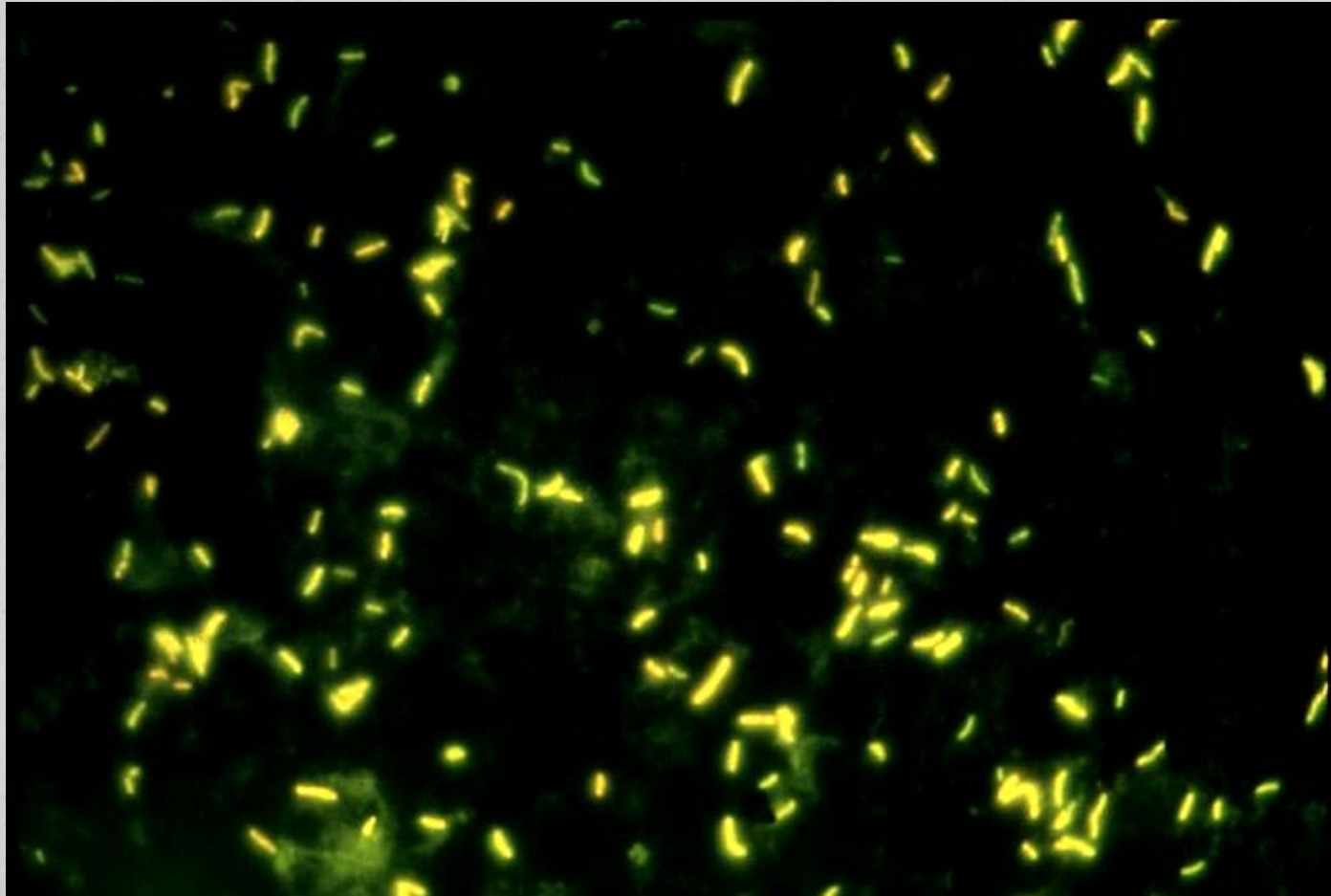
*M.bovis* i *M.avium subsp.avium* preko 4  $\mu\text{m}$ ,

*M.avium subsp. paratuberculosis* manji od 2  $\mu\text{m}$

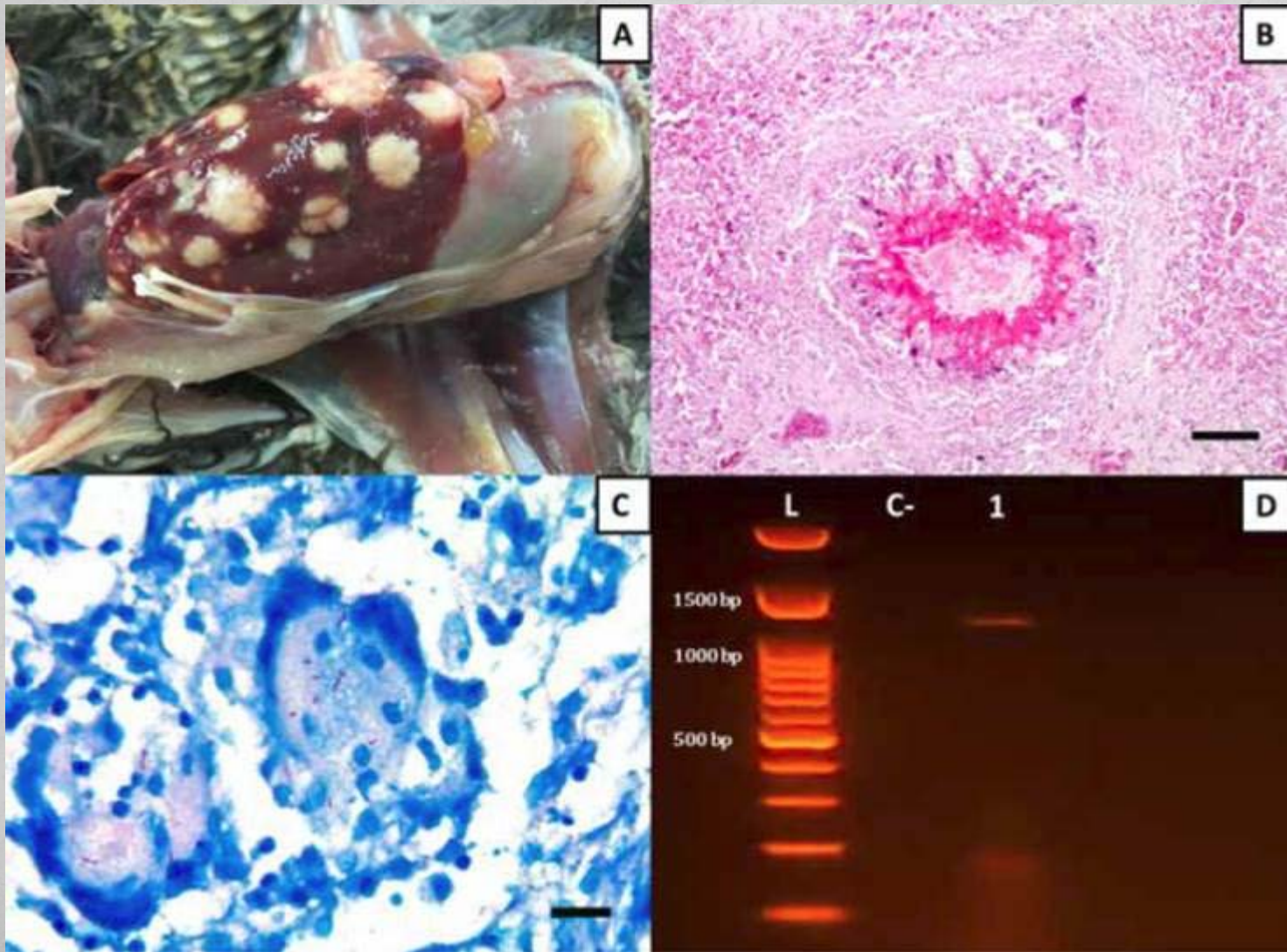
## Bojenje po Zeihl-Neelson-u



**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**

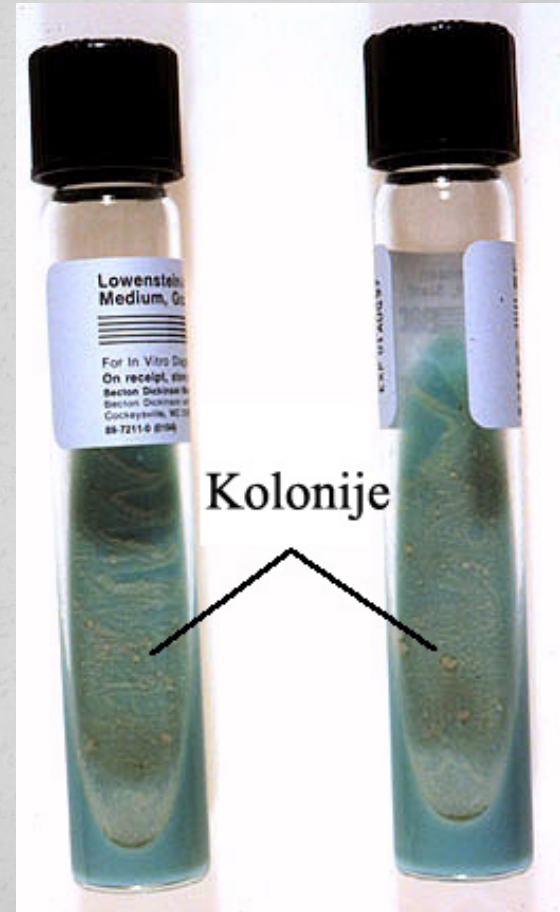


- **Sporo rastu** – generacijski period 24 časa
- **Kulture čuvati najmanje 6 nedelja**
- **Brži rast na tečnim podlogama**



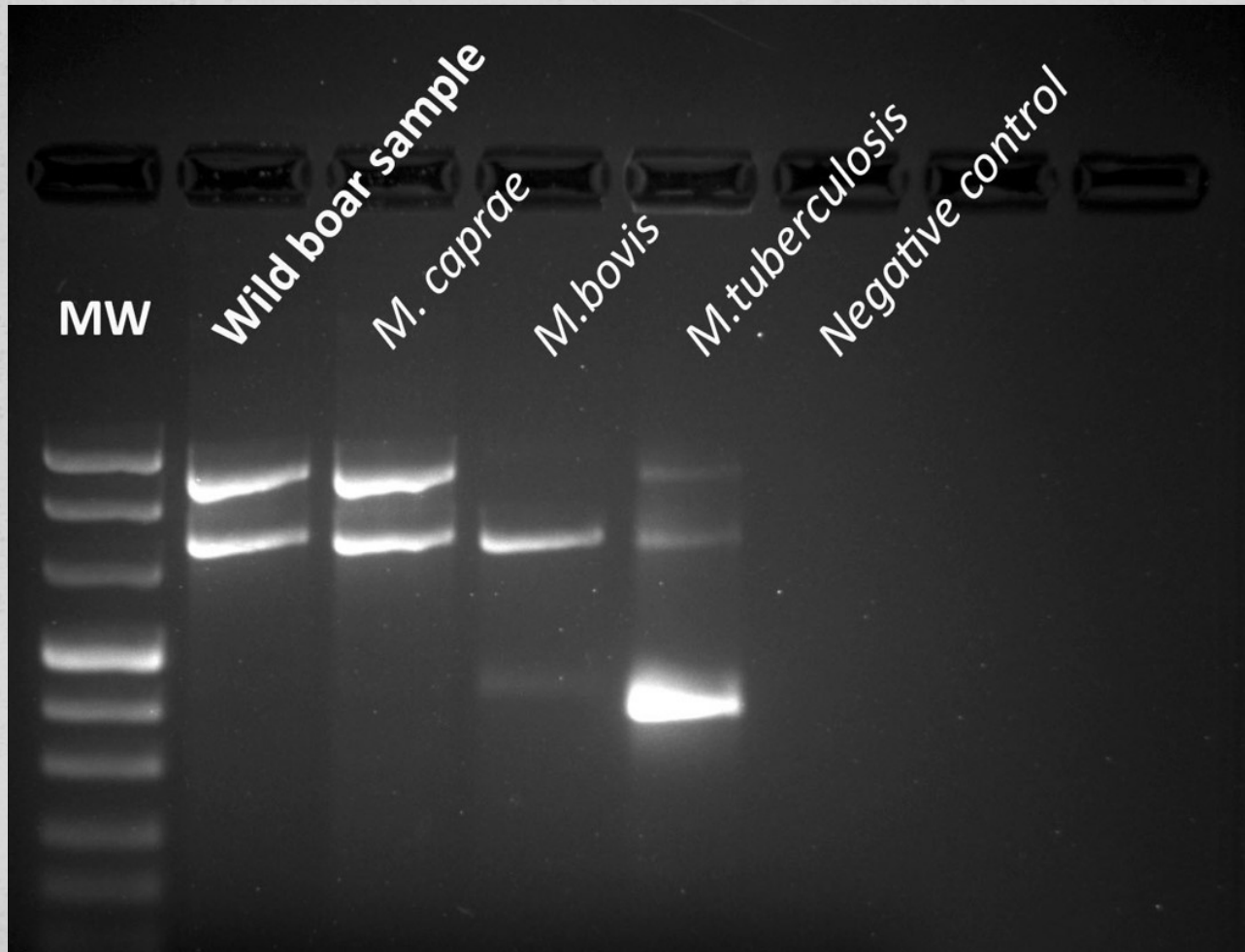
## Identifikacija vrste

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



# Identifikacija vrste

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

## *M. tuberculosis*

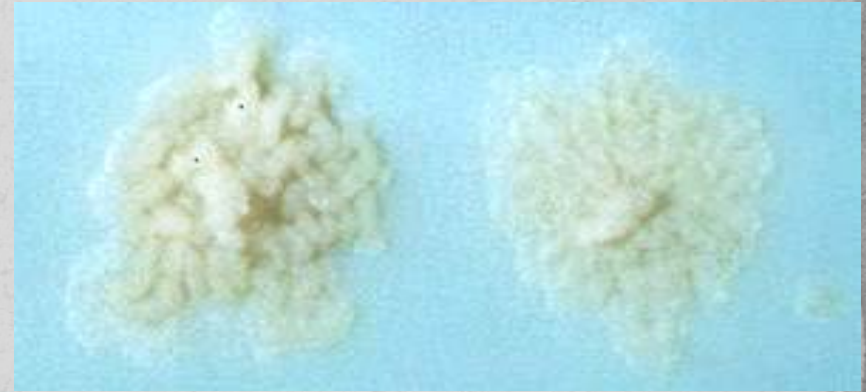
Lowenstein-Jensen -podloga sa malahit zelenim

Bolja selektivnost – cyclohexamide, lincomycin,  
nalidiksinska kiselina



# *M. bovis*

-Lowenstein-Jensen sa piruvatom



*M. avium* subsp. *avium*



Razlika kolonija *Mycobacterium avium* i  
*Mycobacterium tuberculosis*



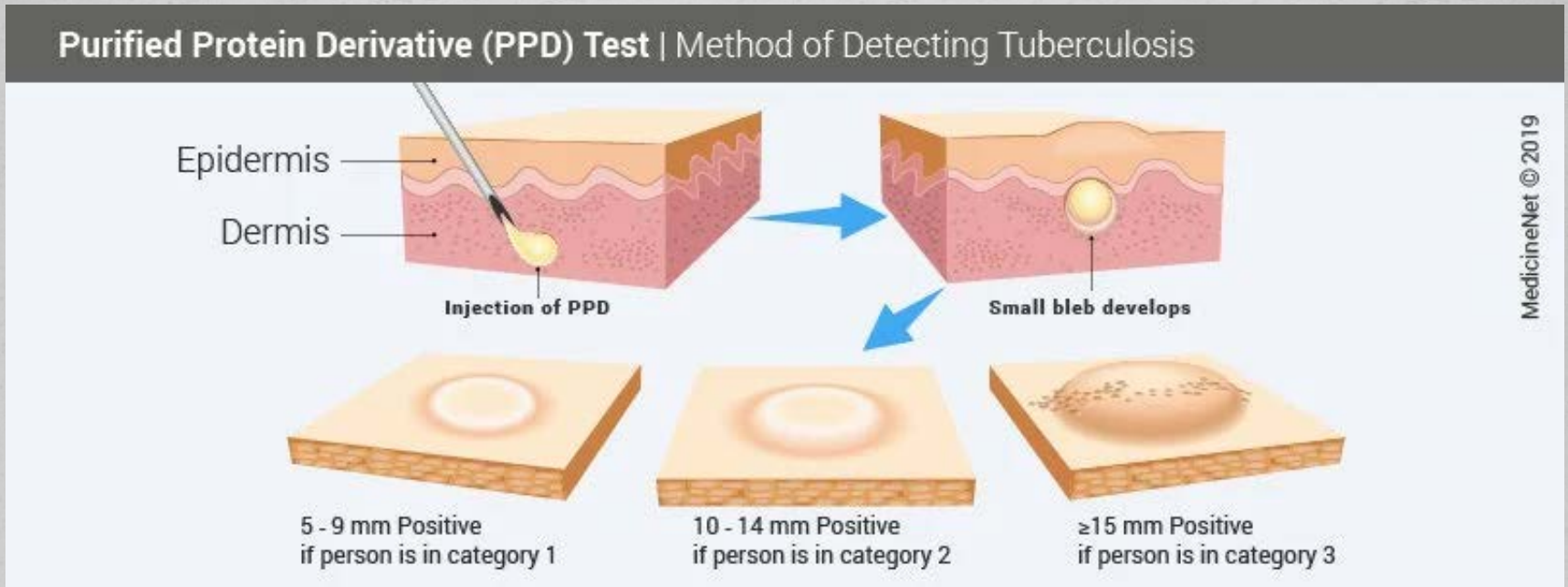
<b>Biološki ogled</b>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. avium</i>
<b>Kunić</b> Intravenozna inokulacija	<u>±</u> pluća	++ milijarna	++ generalizovana
<b>Zamorac</b> Subkutana inokulacija	++ generalizovana	++ generalizovana	-(+) fokalna
<b>Kokoška</b> Intravenozna inokulacija	—	—	++ generalizovana

- 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

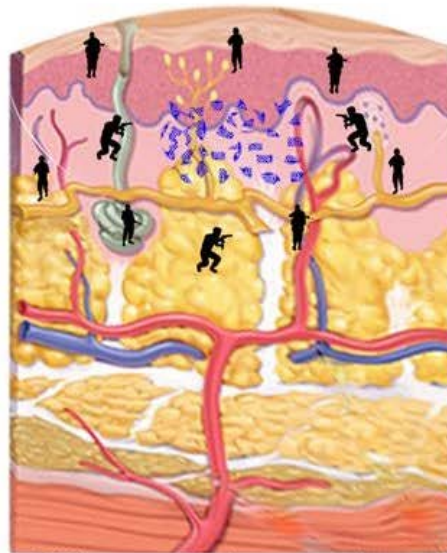


# -Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine

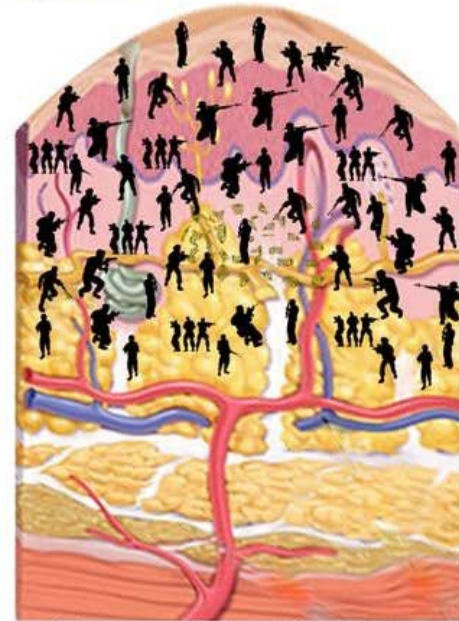
Once the pieces of Mycobacteria are injected into the skin of the animal, the immune system takes notice and sends in its troops (immune cells). Depending on how often it has seen these bacteria before will determine how many immune troops rush to the spot where the Mycobacteria were injected.



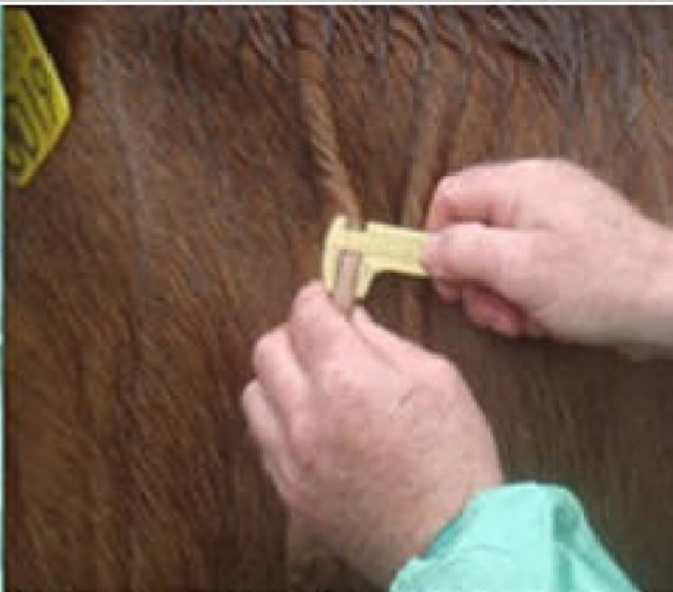
Injecting pieces of protein into the skin



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



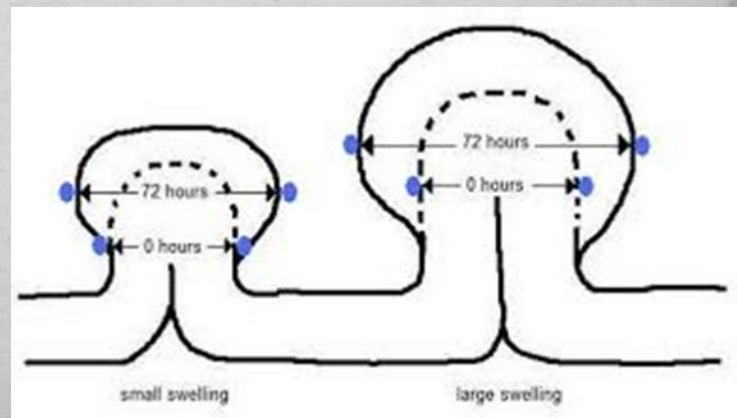
This protein has been seen before so the body sends in more troops



# -Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine



# -Tuberkulinizacija – M'Fadyean 1899. godine

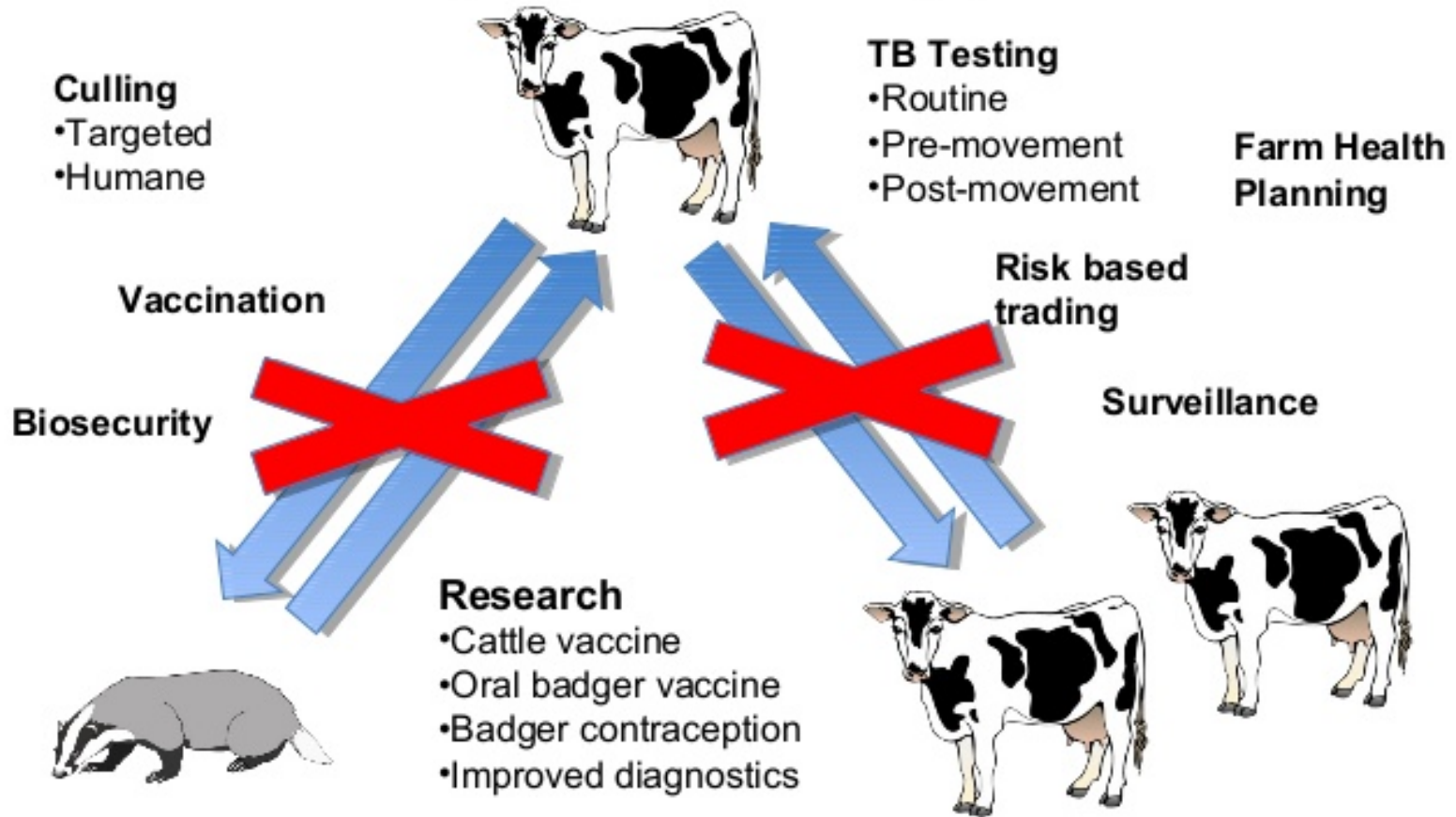


## **-Tuberkulinizacija - Pravilnik o utvrđivanju Programa mera zdravstvene zaštite životinja za 2025. godinu**

-Radi ranog otkrivanja tuberkuloze i utvrđivanja statusa gazdinstva goveda slobodnog od tuberkuloze vrši se dijagnostičko ispitivanje kod svih goveda starijih od šest nedelja primenom intradermalnih tuberkulinskih testova, u skladu sa posebnim propisom, odnosno prema planu Ministarstva, a u cilju određivanja statusa gazdinstva na navedene bolesti.

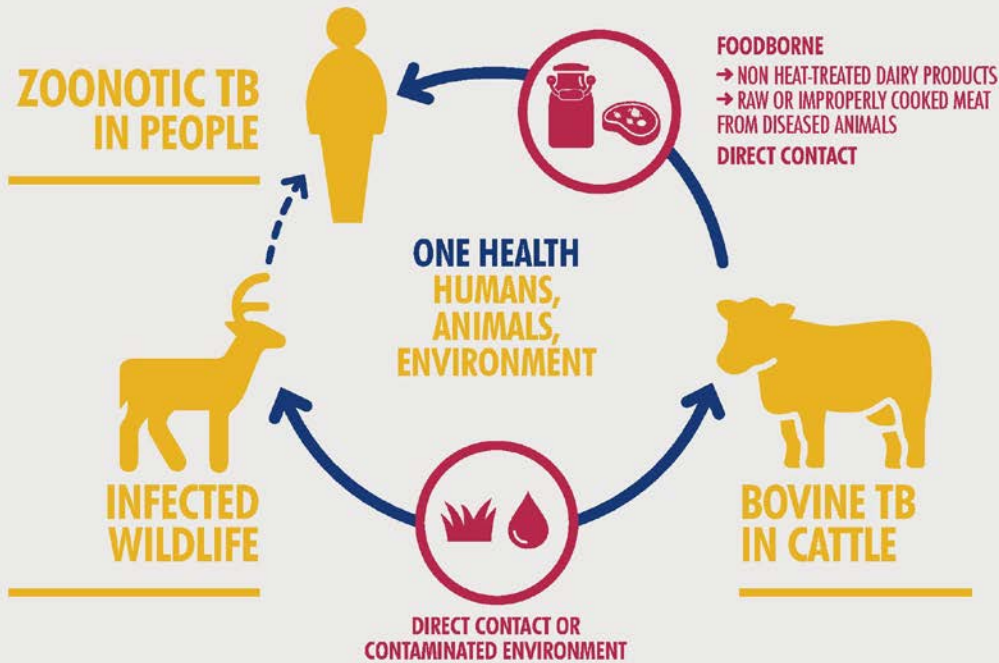
-Životinje kod kojih je dijagnostičkim ispitivanjem potvrđena tuberkuloza ne smeju napustiti gazdinstvo porekla, a nadležni veterinarski inspektor ih u najkraćem roku, a najkasnije u roku od 30 dana upućuje na klanje.

# A comprehensive approach



# BREAKING THE CHAIN OF TRANSMISSION

## STOPPING ZOOONOTIC AND BOVINE TUBERCULOSIS IN THEIR TRACKS



**ACT NOW** TO SAVE LIVES AND SECURE LIVELIHOODS



WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH  
Protecting animals, preserving our future

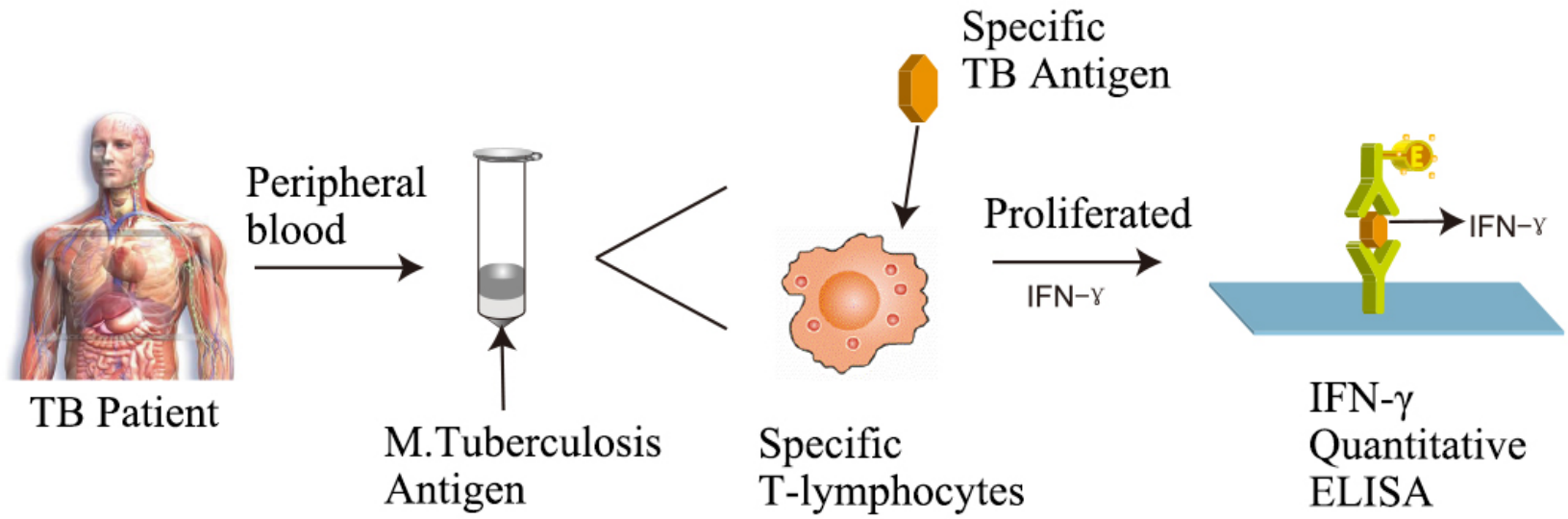


Food and Agriculture  
Organization of the  
United Nations

The Union

International Union Against  
Tuberculosis and Lung Disease  
Health solutions for the poor

# $\gamma$ interferonski test



# $\gamma$ interferonski test

## Mitogen – Positive Control

Low response may indicate inability to generate IFN- $\gamma$

## Nil – Negative Control

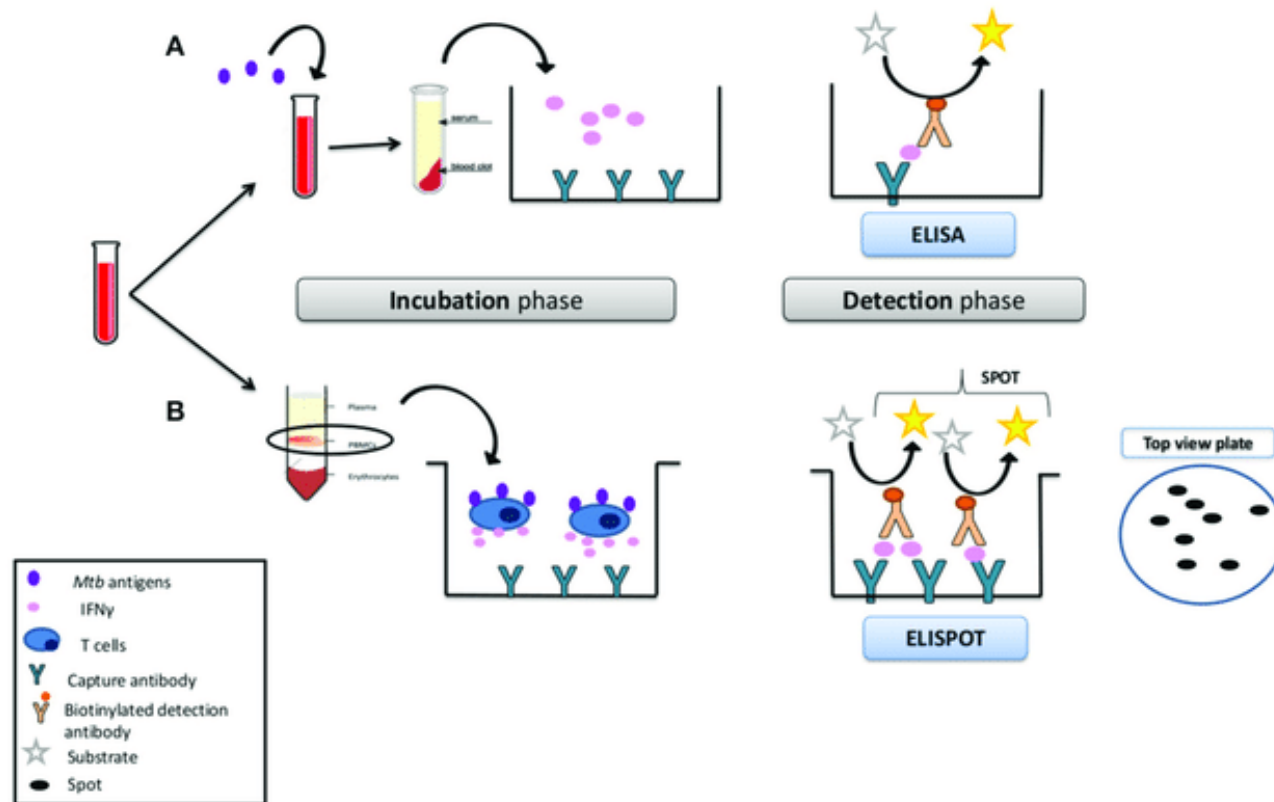
Adjusts for background IFN- $\gamma$

TB1 – Primarily detects CD4 T cell response

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



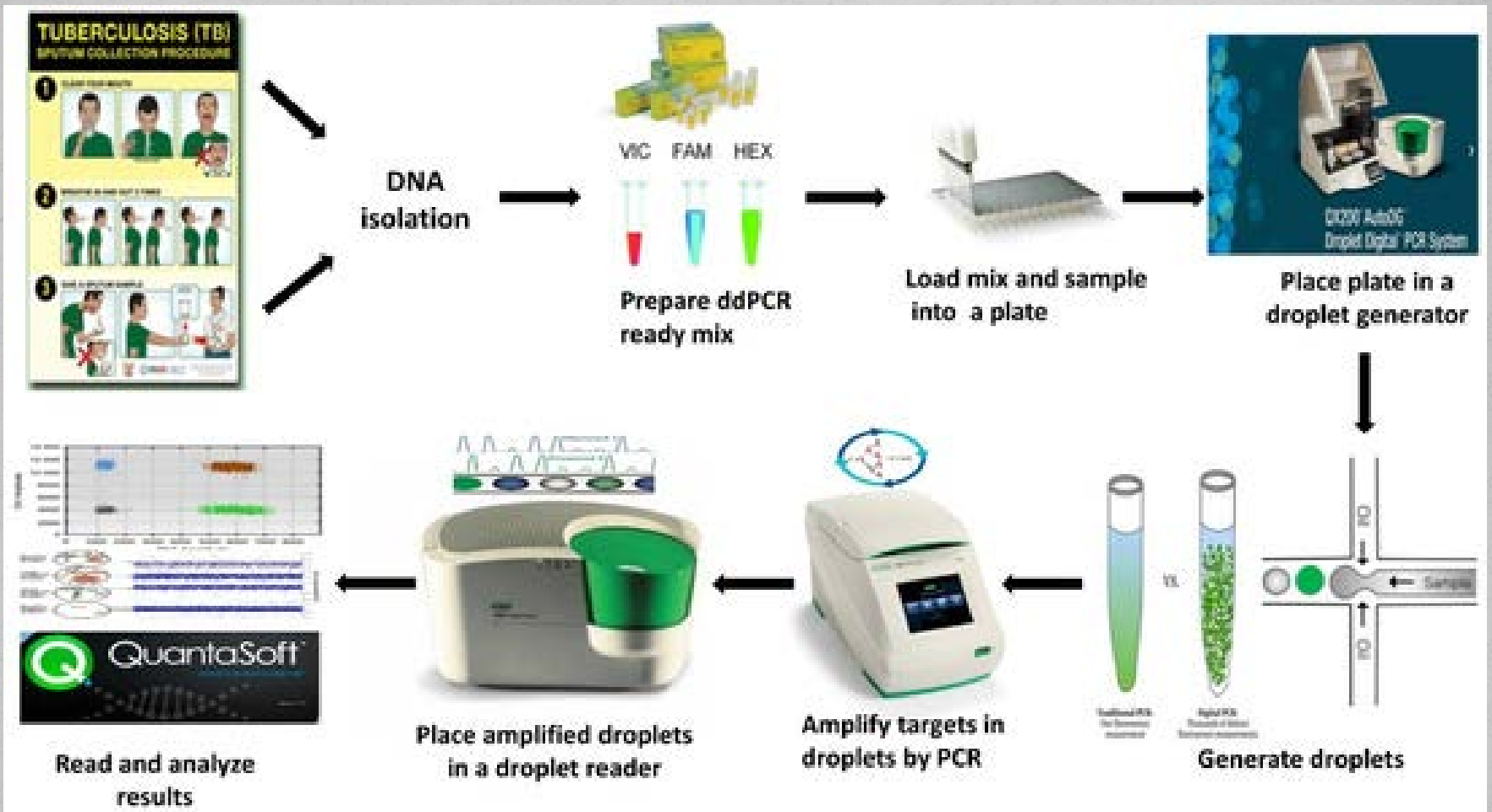
# $\gamma$ interferonski test



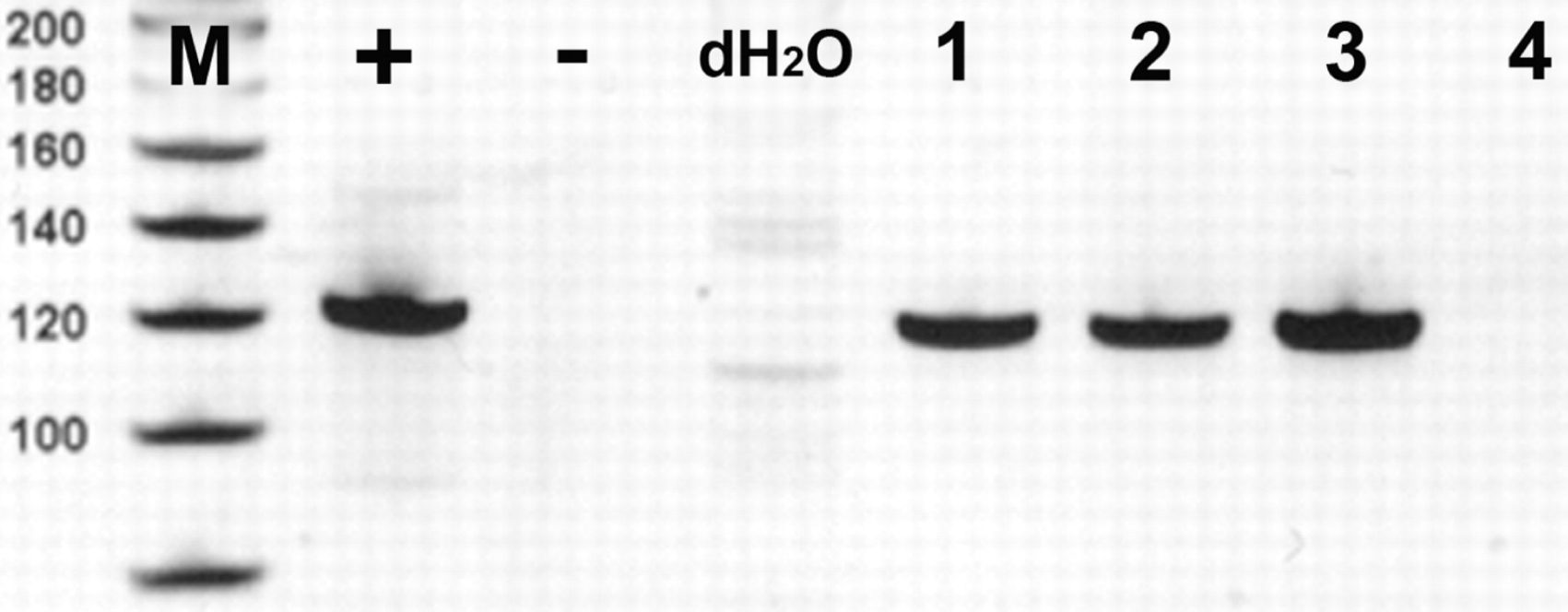
# PCR metoda



# PCR metoda



# PCR metoda



# Eradiacija 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

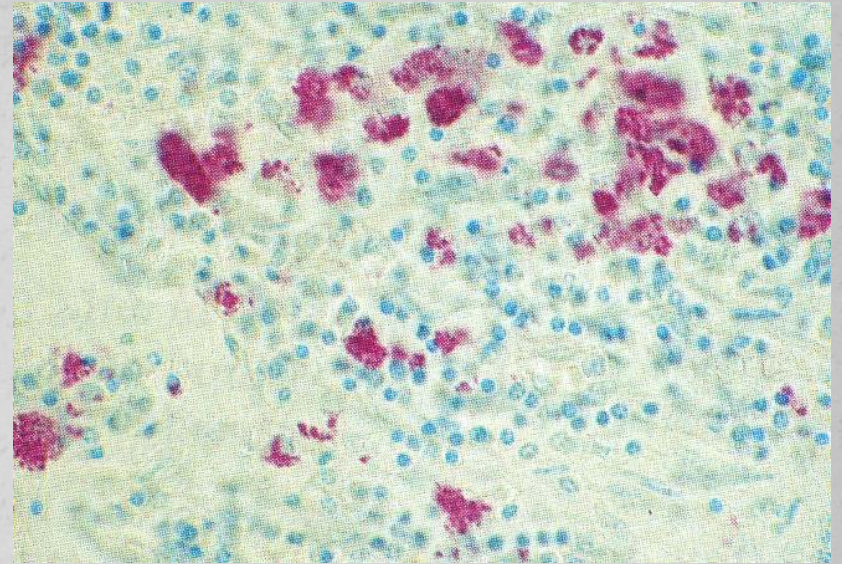


# *M.avium* subsp.*paratuberculosis*

**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
- Prevenirica 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

