

Кафедра медицинской биологии,
микробиологии, вирусологии и
иммунологии



Возбудители
анаэробных
инфекций

Возбудитель столбняка (*Clostridium tetani*)

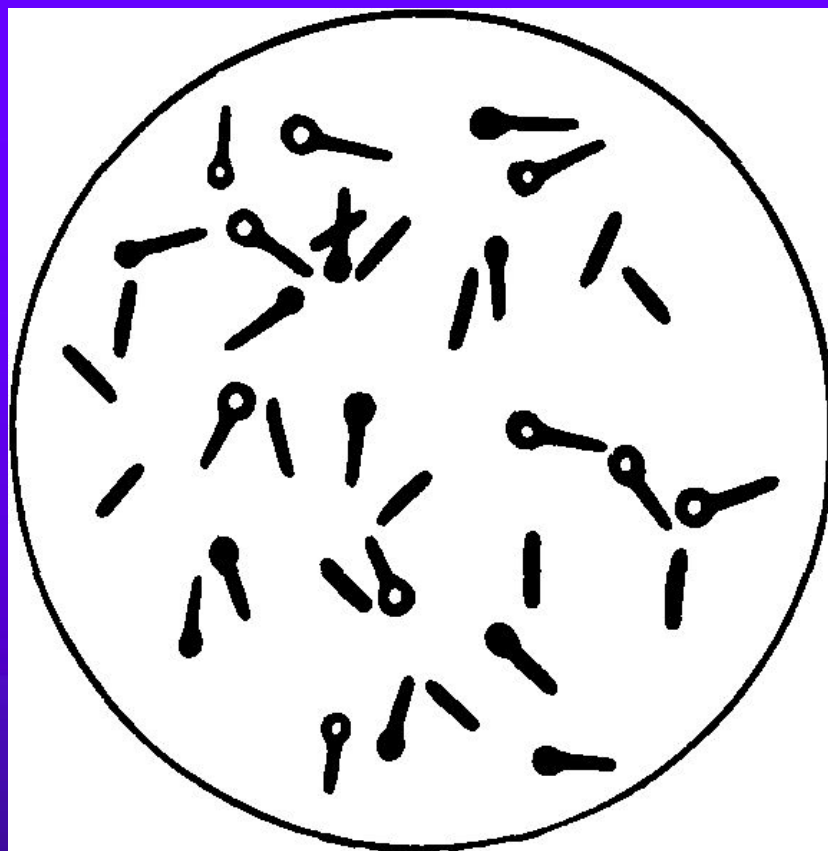
- ◆ Столбняковая палочка впервые описана М.Д. Монастирским (1883) и А. Николаером (1884), чистую культуру выделил С. Китазато в 1889 г.



Морфология и физиология

- ◆ *S. tetani* (tetanos - судороги, оцепенения) - тонкая, длинная, подвижная, безкапсульная граммположительная палочка с терминально расположенной круглой спорой, что придает ей характерного вида барабанной палочки. Клостридии столбняка - строгие анаэробы. На среде Китта-Тароцци они растут в виде легкого помутнения без выделения газа, на дне пробирки постепенно возникает осадок. На сахарно-кровяном агаре образуют колонии с компактным центром и нитевидными отростками, которые причудливо переплетаются (колонии-пауки). Иногда растут в виде круглых колоний с зонами гемолиза. Столбняковые палочки не разлагают углеводы, медленно сворачивают молоко и разреживают желатин.





Clostridium tetani с терминальной спорой



Clostridium tetani (электронная микроскопия)



Колонии *Clostridium tetani* на кровяном агаре

Токсинообразование.

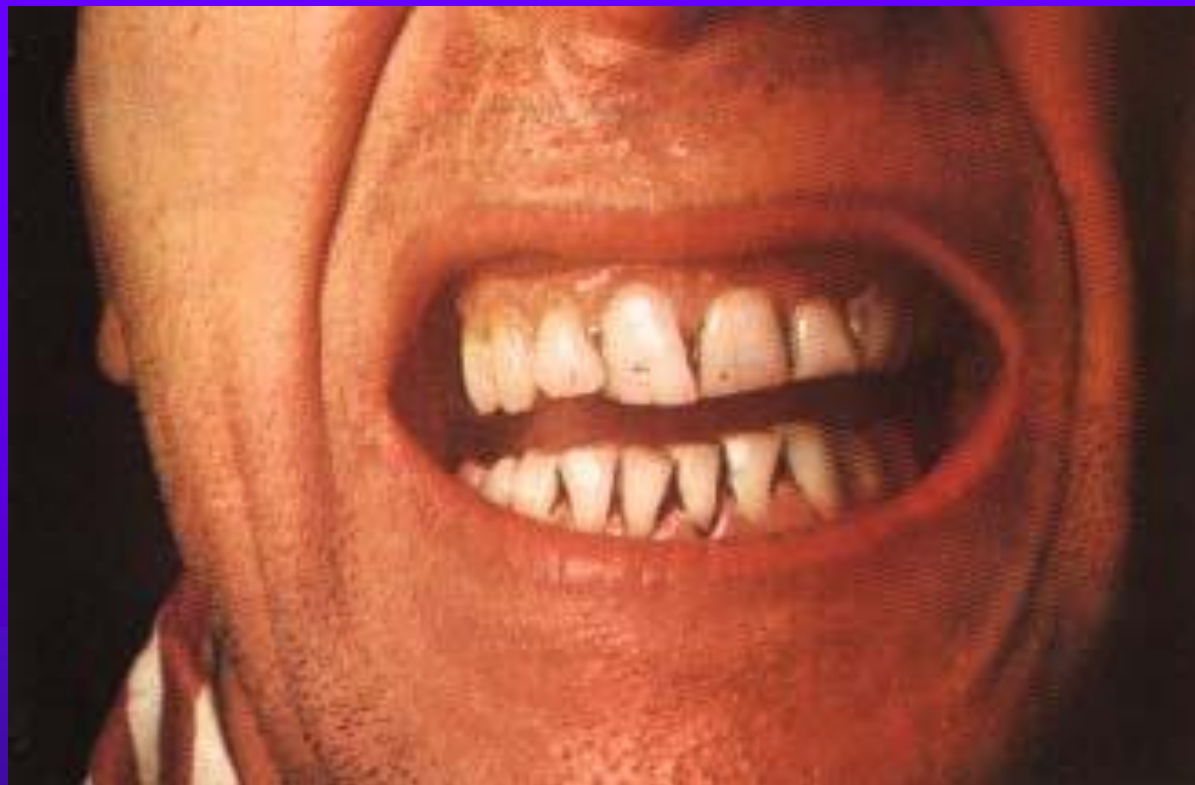
- ◆ Палочка столбняка продуцирует чрезвычайно сильный экзотоксин, который часто называют тетанотоксином. Он имеет две фракции: тетаноспазмин, который вызывает поражение двигательных центров нервной системы и вызывает спастическое сокращение мышц, и тетанолизин, лизирующий эритроциты. Силу токсина измеряют у DLM. Под действием формалина при 38-40 °С экзотоксин легко переходит в анатоксин, который широко используют для активной иммунизации людей.



Заболевания человека

Столбняк - острая инфекционная болезнь, которая сопровождается спастическим сокращением мышц и сильной интоксикацией организма. Основное условие возникновения столбняка - наличие раны и инфицирования ее спорами столбняковых палочек. Инкубационный период длится от 4 к 30 дней и дольше. В ране споры клостридий превращаются в вегетативные формы. Они производят экзотоксин, который вызывает все клинические симптомы болезни.





Risus sardonicus



опістотонус



опістотонус

Лабораторная диагностика.

- ◆ Диагноз столбняка врач устанавливает на основе характерных клинических симптомов. Микробиологическое исследование с диагностической целью проводят не часто. По большей части его используют для **выявления** спор в **почве**, перевязочных материалах, лекарствах парентерального **введения**. При исследовании ранового **содержания** после бактериоскопии его **сеют** на среду Китта-Тароцци. **Через** 3-7 суток определяют наличие токсина в биопробах на белых **мышцах**. Для этого двум животным вводят по 0,5-1 мл фильтрата культуры и еще двум - такие же дозы фильтрата, нейтрализованного противостолбнячной антитоксинной сывороткой на протяжении 40 хв. При наличии тетанотоксину первые две **мышцы** погибают, а другие остаются живыми.





Tetanus ascendens у лабораторних тварин

Профилактика и лечение.

- ◆ Диагноз столбняка врач устанавливает на основе характерных клинических симптомов. Микробиологическое исследование с диагностической целью проводят не часто. По большей части его используют для выявления спор в почве, перевязочных материалах, лекарствах парентерального введения. При исследовании ранового содержания после бактериоскопии его сеют на среду Китта-Тароцци. Через 3-7 суток определяют наличие токсина в биопробах на белых мышах. Для этого двум животным вводят по 0,5-1 мл фильтрата культуры и еще двум - такие же дозы фильтрата, нейтрализованного противостолбнячной антитоксинной сывороткой на протяжении 40 хв. При наличии тетанотоксину первые две мыши погибают, а другие остаются живыми.





- ◆ При ранении непривитых **лиц** необходимо проводить активно-пассивную иммунизацию: вводят подкожно 0,5 мл столбнякового анатоксину и внутримышечный 3000 МО противостолбнячной сыворотки или 3 мл противостолбнячного иммуноглобулина.
- ◆ Специфическое лечение проводят внутримышечным **введением** 100000-150000 МО противостолбнячной антитоксинной сыворотки. Лучшие результаты получают при инъекциях противостолбнячного человеческого иммуноглобулина, **который** вводят дозой 6 мл (900 МО).

Возбудитель ботулизма (*Clostridium botulinum*)



- ◆ *C. botulinum* - **большая** граммположительная палочка **длиной** 4-10 мкм и в ширину 0,6-1,5 мкм с округленными концами и перитрихиально расположенными жгутиками. Попадая во внешнюю среду, образует **большие** овальные субтерминальные споры, **которые** преувеличивают поперечный размер **клетки** и деформируют ее. Палочки со спорами имеют характерный вид теннисной ракетки . Капсулы не образуют.

Морфология возбудителя ботулизма

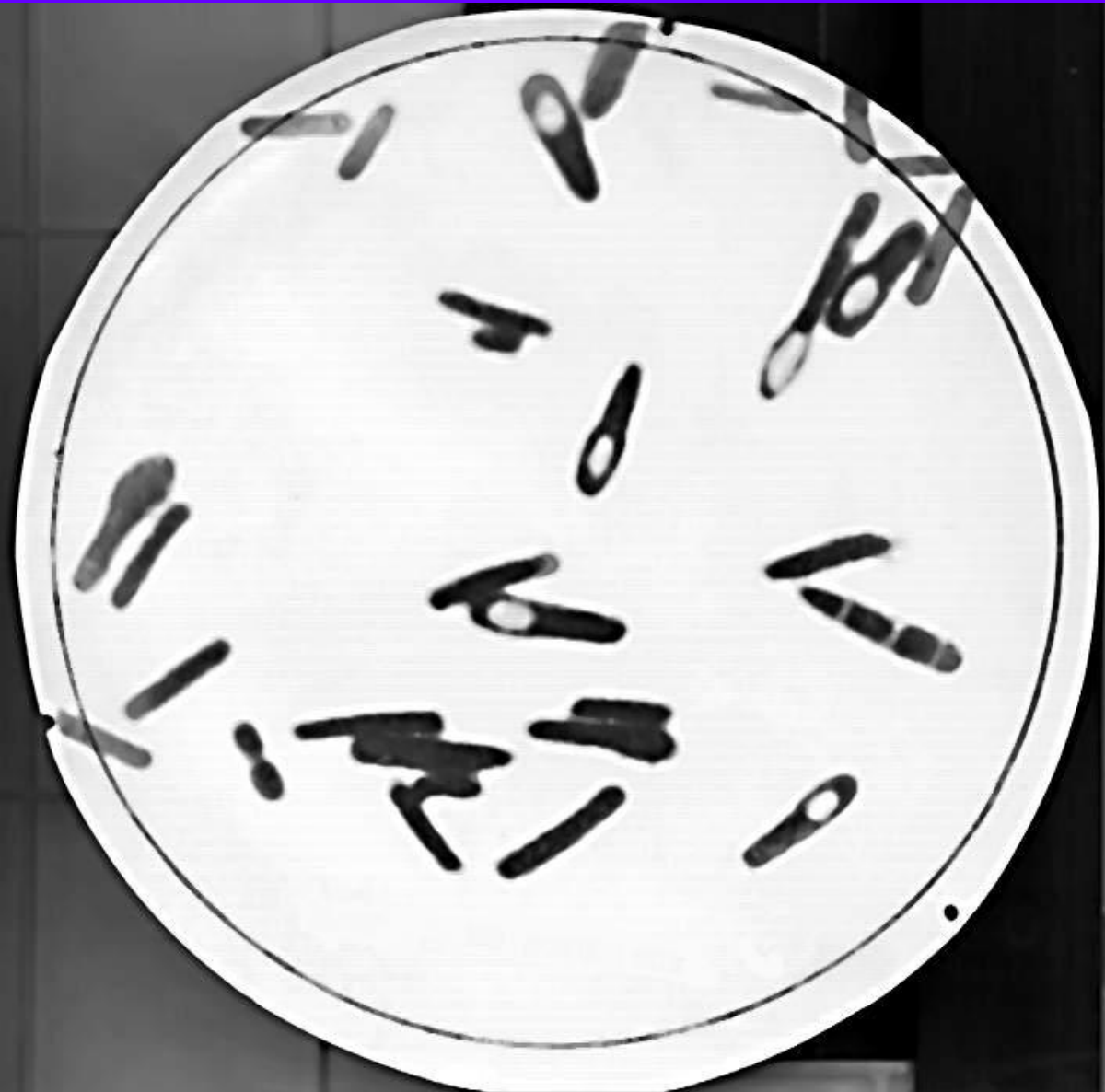
- ◆ *C. botulinum* - **большая** граммположительная палочка **длиной 4-10 мкм** и в ширину **0,6-1,5 мкм** с округленными концами и перитрихально расположенными жгутиками. Попадая во внешнюю среду, образует **большие** овальные субтерминальные споры, **которые** преувеличивают поперечный размер **клетки** и деформируют ее. Палочки со спорами имеют характерный вид теннисной ракетки. Капсулы не образуют.





Электронная микроскопия

C. botulinum

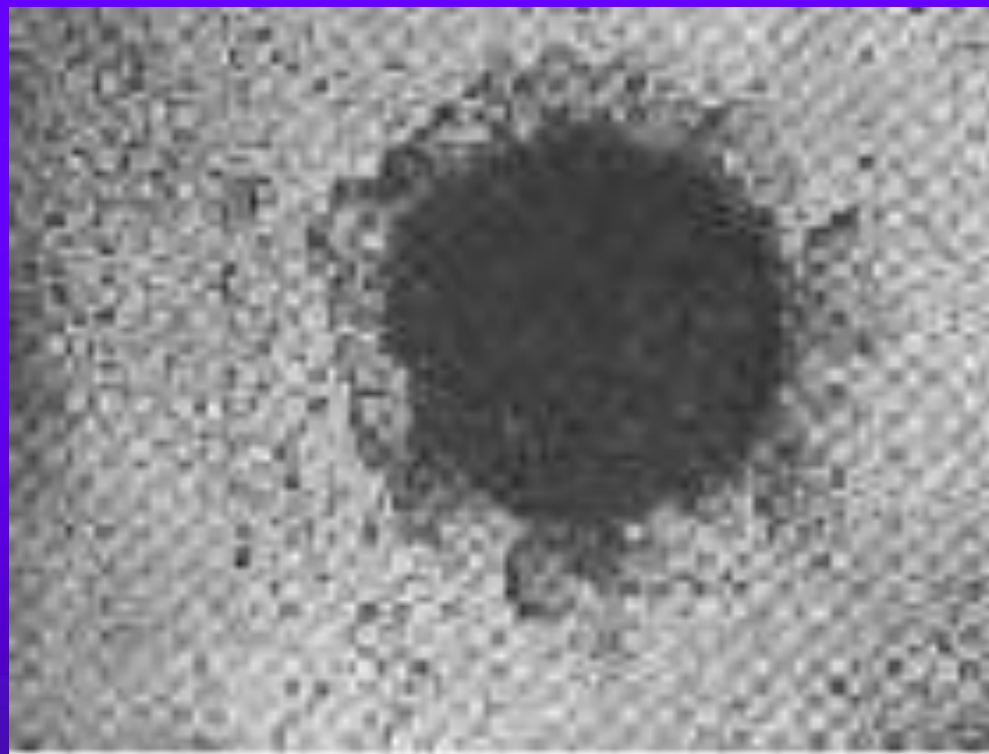


C. botulinum

Физиология возбудителя ботулизма

- ◆ Клостридии ботулизма - строгие анаэробы, непритязательные к питательным средам, оптимальная температура роста для разных сероварив колеблется от 25 до 40 °С. На среде Китта-Тароцци образуют муть и осадок на дне, имеют острый запах прогорклого масла. На сахарно-кровяном агаре вырастают неправильной формы колонии с фестончастими краями или нитевидными отростками с зонами гемолиза вокруг них.
- ◆ Палочки ботулизма ферментируют глюкозу, фруктозу, мальтозу к кислоте и газу, разреживая желатин, куриный белок, мясо, продуцируют лецитиназу.





Колонии *C. botulinum*

Антигенная структура

- ◆ Возбудитель ботулизма имеет семь серологических вариантов: А, В, С (С1, С2), D, Е, F, G, **которые** отличаются по характеру продуцируемых ими токсинов. Токсин каждого серовара нейтрализуется только гомологичной сывороткой. Наибольшее значение в патологии человека имеют серовари А, В, С, Е.



Токсинообразование.

Все серовари палочек ботулизма производят экзотоксин, который является самым сильным ядом биологического происхождения. Выделение токсина происходит в анаэробных условиях как в культурах на средах, так и в пищевых продуктах, особенно в мясных, рыбных и овощных. В отличие от столбнякового экзотоксина ботулотоксин стойкий к действию ферментов кишечного тракта и всасывается в кровь неизменным. Теперь полученные очищенные экзотоксины отдельных сероварив, в 1 мг которых содержится от 10 к 100 млн. DLM для белых мышей. Ботулотоксин имеет нейротропное действие. Наиболее чувствительные к нему кони, кроли, гвинейские свинки, куры. Очень чувствительный к нему человек. В составе ботулинового экзотоксина найден ряд ядовитых фракций: нейротоксин, гемотоксин, лейкоцидин, ферменты лецитиназу, гиалуронидазу.



Ботулизм у человека.

Заболевание возникает после употребления в еду продуктов, овощных и рыбных консервов (особенно домашнего приготовления), слабо просоленных и прокапчивают красных рыб, которых содержат возбудители или токсины ботулизма. Из желудочно-кишечного тракта токсин всасывается в кровь и будет поражать центральную нервную систему, особенно ядра вытянутого мозга. Болезнь начинается с тошноты, блюет и проноса, сухости в роте, болючести при глотании. Часто первыми проявлениями ботулизма являются жалобы на нарушение зрения: снижение его остроты, "туман" или "сетка" перед глазами, двоение предметов, ухудшения аккомодации (диплопия). Возникают нарушения языка, сиплость голоса (дисфония), вплоть до полной его потери, затруднение глотание (дисфагия), мускульная слабость. Температура в большинстве случаев остается нормальной, сознание полностью сохранено. Больной погибает в результате паралича сердца или от остановки дыхания. Летальность высокая - от 40 до 60 %.



Лабораторная диагностика.

- ◆ Для **выявления** ботулинового токсина у больного берут кровь, промывные воды желудка, блювотиння, кал, мочу и **остатки** подозрительного пищевого продукта, в случае смерти - **содержание** желудка и кишок, лимфатические узлы, головной и спинной мозг. Материал от больного нужно забирать как можно быстрее, **к введению** протиботулиновой сыворотки и антибиотиков. Ботулотоксин определяют **с помощью** биологической пробы на белых **мышях**. Одной группе животных вводят в брюшную полость фильтрат исследуемого материала или вытяжки из **остатков** еды. **Второй** - исследуемый материал с поливалентной диагностической протиботулиновой сывороткой типов А, В, С, Е.





Проявления ботулизма у лабораторных
животных

Профилактика и лечение.

- ◆ Для профилактики ботулизма важное значение имеет правильная организация производства консервов, **особенно** мясных, рыбных и овощных.
- ◆ Клостридии ботулизма, **которые** сохранились после стерилизации консервов, вызывают вздутие жестянок (бомбаж). **Содержание** их имеет запах прогорклого масла. Такие консервы бракуют и уничтожают.
- ◆ Всем людям, **которые** потребляли продукты, которые послужили причиной отравления хотя бы одного человека, вводят с профилактической целью по 1000-2000 МО протиботулиновой сыворотки типов А, В, С и Е. Для активной иммунизации людей употребляют поливалентный ботулиновый анатоксин.



Возбудители газовой анаэробной инфекции

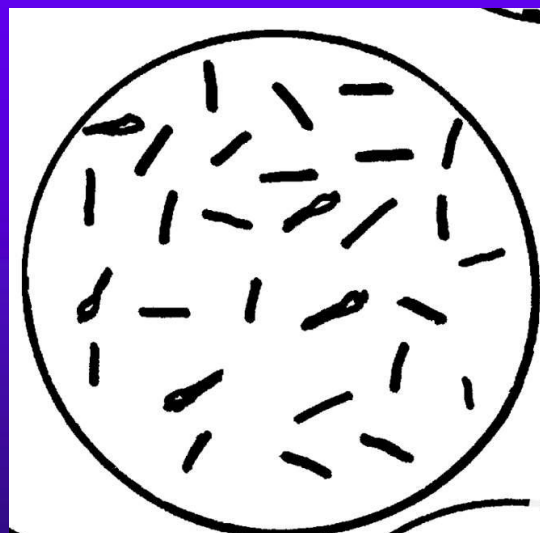
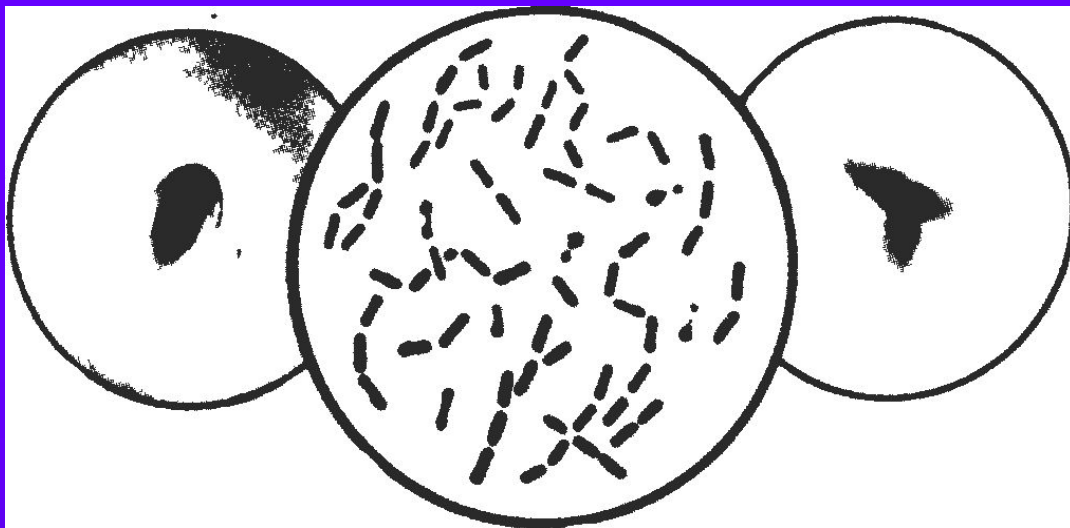
- ◆ Анаэробная ранова инфекция (газовая гангрена) - полимикробное заболевание, основными возбудителями которого являются клостридии - *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*. Значительно реже встречаются *C. histolyticum*, *C. sordellii*, *C. fallax*, *C. difficile* и др. Очень часто к ним присоединяются и аэробные микроорганизмы: стафило- и стрептококки, протей, кишечная палочка и тому подобное. Следовательно, это заболевание принадлежит к смешанным инфекциям.



Морфология и физиология.

Все названные выше основные виды кластридий являются **большими** граммположительными палочками с субтерминальными или центральными спорами. Палочки со спорами за своей формой напоминают веретено, откуда **походит** название рода этих бактерий (closter - веретено). *C. perfringens* имеет капсулу, но неподвижная. Все же другие виды имеют перитрихально расположенные жгутики и лишены капсул. *C. novyi* наибольшая **из** всех кластридий, *C. septicum* - полиморфные палочки, **которые** в культурах могут образовывать **нитевидные** формы. Остальные кластридии имеют значительно меньшие размеры.

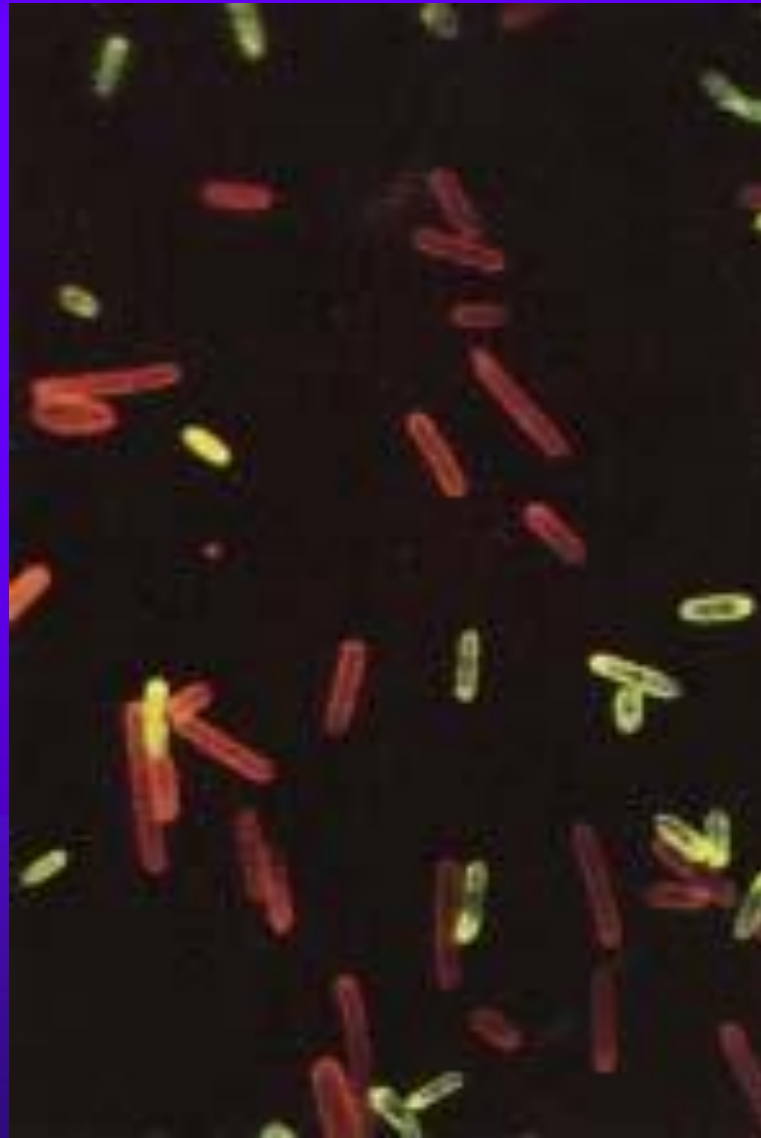




Чистая культура и колонии Clostridium perfringens



Мазок *Clostridium perfringens*



Clostridium perfringens



Clostridium histolyticum



Clostridium septicum

Культуральные свойства

- ◆ Выращивают анаэробные клостридии на среде Китта-Тароцци и сахарно-красном агаре. На **жидкой** среде они образуют муть, потом оседают хлопьями на дно пробирки. *C. perfringens* и *C. septicum* на среде Китта-Тароцци растут с бурным газообразованием. Очень характерный рост *C. perfringens* на молоке: **через 4-6 часов** оно интенсивно сворачивается, образуется дырчатый сгусток, пропитанный газом, **который** часто **подбрасывает** его **к** ватной пробке. Такое характерное **изменение** молока используют в лабораториях для экспресс-диагностики анаэробной инфекции, вызванной *C. perfringens*.
- ◆ На сахарно-красном агаре *C. perfringens* образует гладкие и блестящие сероватые колонии с **ровными** краями и поднятым центром; *C. novyi* - шершавые колонии с зоной гемолиза; *C. septicum* - сплошной налет в виде сплетенных **нитей** на фоне гемолиза.

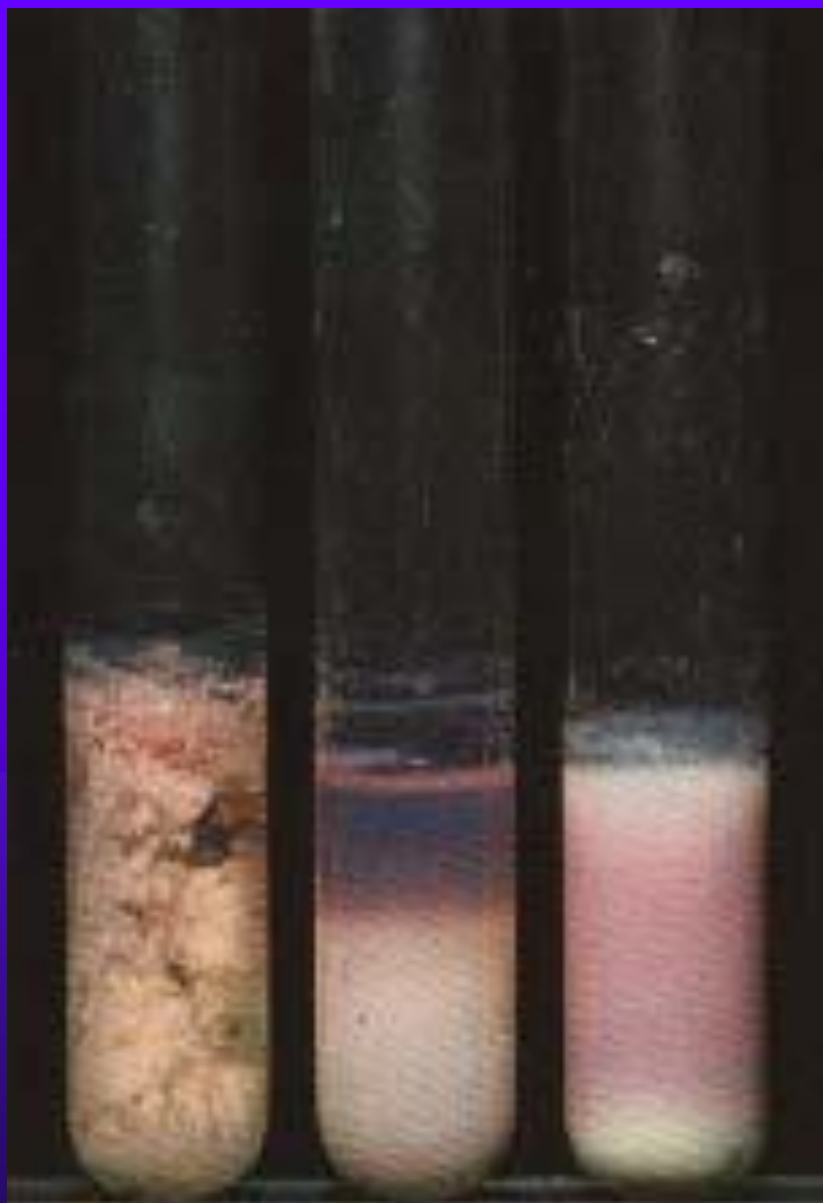




Колонии на кровном агаре *Clostridium perfringens*



**Протеолитические
свойства *Clostridium
perfringens***



*Протеолитические
свойства Clostridium
perfringens*

Токсинообразование.

- ◆ Все клостридии продуцируют сложные экзотоксины. Да, *S. perfringens* выделяет токсин, который включает свыше 10 фракций. Среди них наибольшее значение имеют α-гемолизин, φ-гемолизин, β-токсин (некротоксин), ε-токсин (нейротоксин), энтеротоксин и тому подобное. Этот вид продуцирует также большое количество ферментов агрессии: лецитиназу *S*, протеиназу, колагеназу, гиалуронидазу, фибриназу, ДНК-азу, нейраминидазу. Они играют большую роль в развитии гангренозного процесса. Еще более сильный токсин образует *S. pouyi*. К его составу также входят многие отдельные токсичные фракции и ферменты. Токсичная активность *S. septicum* несколько более слабая. Токсины других возбудителей анаэробной газовой инфекции еще недостаточно изучены. *S. difficile* образует энтеротоксин и цитотоксин, которые вызывают геморрагическое воспаление толстого кишечника при пищевых токсиноинфекциях.





Определение
лецитиназной
активности на ЖСА



Антигенная структура.

- ◆ В **практических** бактериологических лабораториях антигены **разных** видов клостридий для их дифференциации не используют. Иногда определяют только серовари *C. perfringens* А, В, С, D, Е, F, **которые** продуцируют **разные** токсины, в отдельных случаях - четыре биовара *C. novyi*.



Заболевания человека.

- ◆ Заболевание возникает когда есть травма, рана, инфицированная анаэробными клостридиями. На рану поверхность они попадают при загрязнении ее землей, обрывками тканей и тому подобное. Заболевание характеризуется **быстрым** омертвением и распадом тканей с образованием газов и явлениями тяжелой общей интоксикации. Так как анаэробная инфекция является полиэтиологичным заболеванием, в ране одновременно размножаются и выделяют токсины несколько видов анаэробов, часто в ассоциации с аэробными бактериями.
- ◆ **Следовательно**, в организм проникает одновременно несколько токсинов. При этом один токсин может значительно усиливать ядовитое действие другого (эффект потенцирования). Возможно, именно этим можно объяснить молниеносные формы анаэробной инфекции, когда больной погибает **через** несколько часов при явлениях чрезвычайно тяжелой интоксикации организма.
- ◆ Кроме анаэробной газовой инфекции, отдельные виды клостридий, **особенно** *C. perfringens* и *C. difficile*, могут вызывать пищевые токсикоинфекции.





FIG. 21-10 In this case of gas gangrene there is a discharge from the lower end of the wound. The gangrenous area is turning black due to tissue necrosis.

Лабораторная диагностика.

- ◆ Для исследования необходимо брать кусочки поврежденных мышц, особенно на границе со здоровой тканью, рановый экссудат, кровь, перевязочные и шовные материалы, обрывки одежды, почва. Его проводят несколькими этапами: микроскопия - выявление кластридий и капсул *S. perfringens*; бактериологическое исследование - выделение чистых культур и микробных ассоциаций, определения их видового состава и получения токсинов; установление вида токсина в биологических пробах на мышцах с помощью теста нейтрализации соответствующей антитоксинной сывороткой.





Используют и экспресс-методы диагностики: занял материалов на молоко и среду Вильсона-Блера (агар с хлорным железом и сульфитом натрия). Если в исследуемом материале есть *S. perfringens*, уже через 4-6 часов происходит характерное изменение молока - бурное свертывание и образование губчатого сгустку, а среда Вильсона-Блера за это время почернеет.

Профилактика и лечение.

- ◆ К ускоренным методам диагностики принадлежит и газожидкостная хроматография, с помощью которой за несколько минут можно выявить в рановом содержании наличие специфических жирных кислот клостридий, но их виды этим способом не определяют.

Для предупреждения возникновения анаэробной газовой инфекции важное значение имеют своевременная и полноценная первичная хирургическая обработка раны и раннее профилактическое внутримышечное введение антитоксинных сывороток (по 10000 МО сывороток против *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum* - основных возбудителей заболевания).

Для лечения анаэробной инфекции используют те же антитоксинные сыворотки, но значительно больше в дозах (50-100 тыс. МО).

