

ПАТОГЕННЫЕ КЛОСТРИДИИ

- 1. Общая характеристика патогенных клостридий.*
- 2. Возбудители газовой анаэробной инфекции.*
- 3. Возбудитель столбняка.*
- 4. Возбудитель ботулизма.*

ПАТОГЕННЫЕ КЛОСТРИДИИ

Облигатные анаэробы - микроорганизмы, живущие только в условиях крайне низкого содержания кислорода - в почве, иле водоемов, кишечниках позвоночных и человека.

У теплокровных анаэробы составляют основную массу нормальной кишечной микрофлоры и определяют ряд важнейших функций организма.



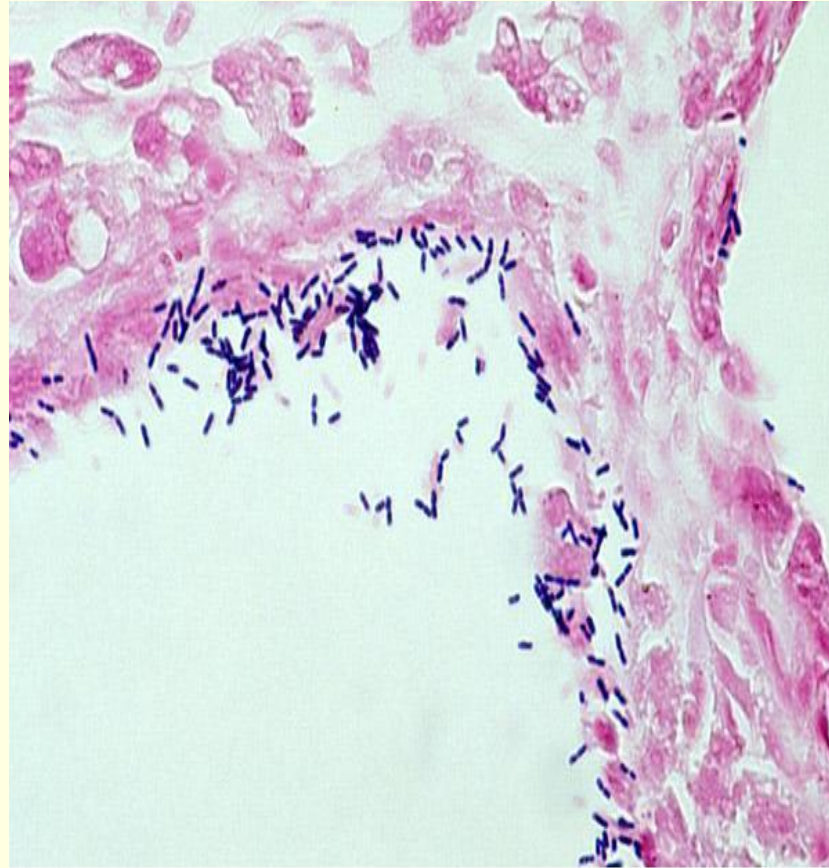
Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

По экологическим и патогенным свойствам можно выделить три группы клостридий:

- сапрофиты, вызывающие бродильные (сахаролитические) процессы;
- сапрофиты, вызывающие процессы гниения (протеолиза);
- патогенные виды - по биохимическим свойствам могут вызывать процессы гниения и брожения.



Возбудители газовой анаэробной инфекции

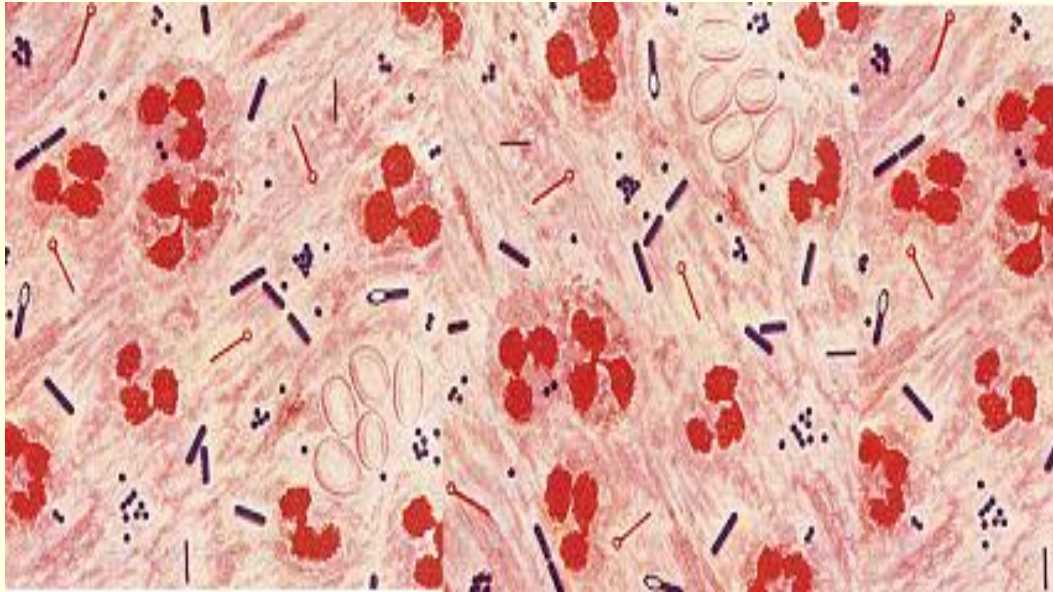


Clostridium perfringens в органе.

1. Таксономия

- Сем. **Bacillaceae**
- Род **Clostridium**
- Представители: **Cl. perfringens**
Cl. novyi
Cl. septicum
Cl. histoliticum
Cl. sordelli

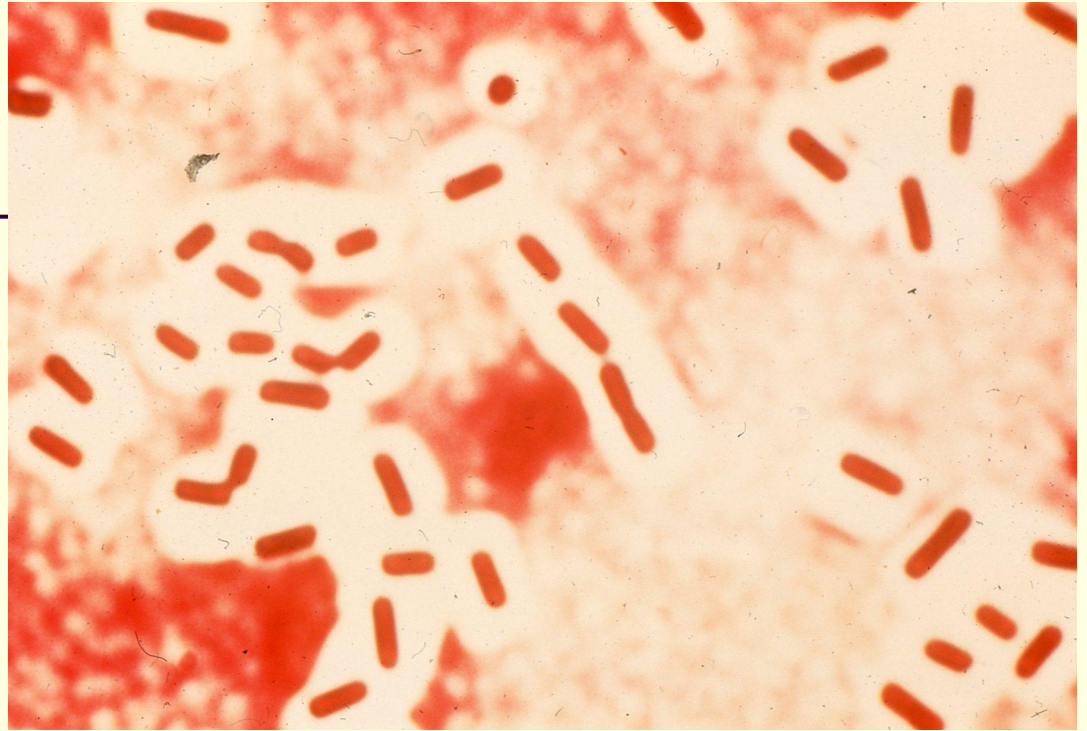
2. Морфология и культуральные свойства.



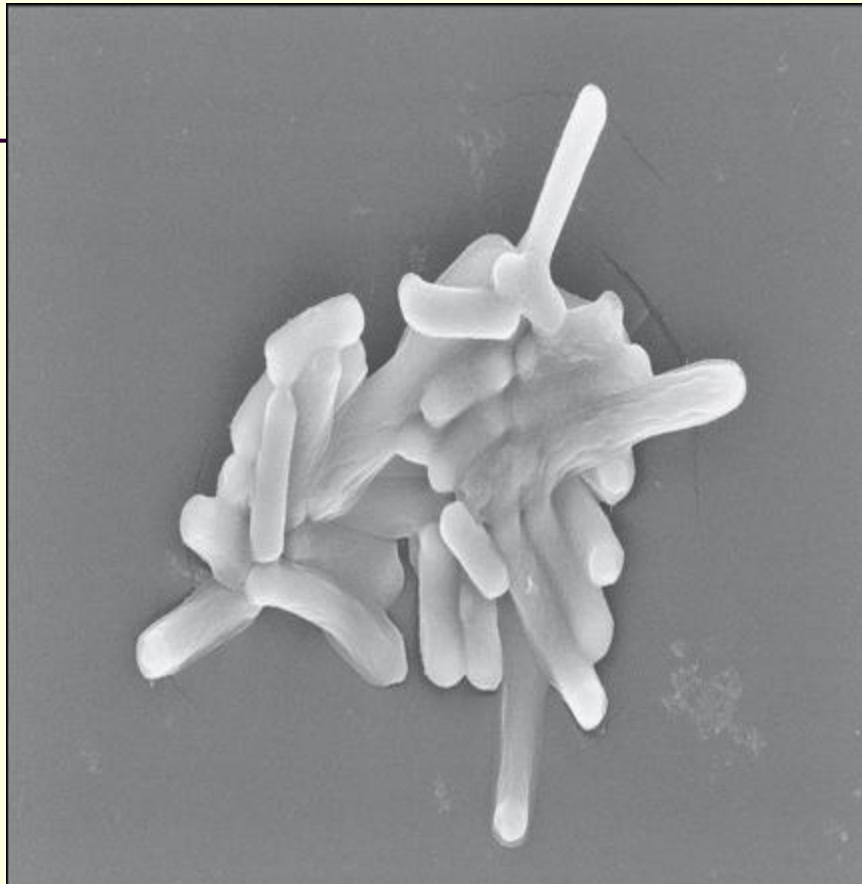
Подвижные крупные палочки (большинство видов), образуют овальные или круглые эндоспоры в диаметре больше диаметра (поперечника) вегетативной клетки, придающие кластридиям (греч. kloster - веретено) ветеренообразную форму. Грамположительны. Строгие анаэробы.



C. perfringens (чистая культура) окраска по Граму



C. perfringens – окраска по Бурри-Гинсу (вокруг красных палочек видна бесцветная капсула на фоне туши)



C.perfringens. Электронная микроскопия

Cl. perfringens культуральные свойства

■ Растут на средах с низким окислительно-восстановительным потенциалом:
клотридиум агар , среда Вильсон-Блэр , железосульфитное молоко



Рост на железо-сульфитном агаре

3. Антигенная структура и факторы вирулентности.

- по антигенной специфичности продуцируемых токсинов выделяют 5 серотипов *C.perfringens* от А до Е; тип А чаще вызывает газовую гангрену, А,С, Д,Е вызывают пищевые токсикоинфекции

Факторы патогенности

Высокая инвазивность и токсигенность связана со способностью продуцировать 12 токсинов и ферментов

«Большие» токсины:

- **Альфа – токсин** (фосфолипаза С, лецитиназа) – разрушает фосфолипиды, что ведет к нарушению проницаемости и лизису клетки; массивный аутолиз мышечной ткани, миелина, эпителиальных клеток, форменных элементов крови; оказывает гепатотоксическое действие, приводит к дисфункции миокарда

Факторы патогенности

- **Бета – токсин** – обуславливает очаговый отек, геморрагии и сегментарный кишечный некроз (гангрена кишечника)
- **Эпсилон – токсин** – увеличивает сосудистую проницаемость слизистой кишечника
- **Иота – токсин** – летальный токсин, вызывает некроз и повышает проницаемость сосудов.
- **Энтеротоксин** – пищевые токсикоинфекции

Факторы патогенности

«Малые» токсины

- Дельта – токсин – гемолитическая активность
 - Тета – токсин – разрушает холестерин клеточных мембран, приводит к цитолизу
 - Каппа – токсин (коллагеназа, желатиназа) – некротическое действие
 - Лямбда - токсин – протеаза
 - Гиалуронидаза
 - ДНКаза
 - Нейраминидаза – модифицирует рецепторы на клетках
- «Малые» токсины усиливают действие альфа - токсина

4. Резистентность.

Вегетативные формы чувствительны к обычным дезинфицирующим веществам, температуре, присутствию кислорода в среде. Споры устойчивы к кипячению, воздействию кислорода и солнечного света.

5. Эпидемиология.

Анаэробная инфекция известна с глубокой древности. Классическое описание её клиники дано Н.И. Пироговым во время крымской кампании 1854-1855 годов. В мирное время встречаются спорадические случаи. Наиболее часто осложняет уличные травмы и ранения сельскохозяйственными орудиями, реже – операции, взятие крови, вливание различных лекарственных препаратов, криминальные аборты.

6. Патогенез и клиника вызываемых заболеваний.

- Газовая гангрена имеет короткий инкубационный период - почти всегда менее 3 сут и часто менее 24 ч..
- Первые симптомы – сильная боль и набухание тканей вокруг раны
- Отек и интоксикация быстро нарастают. Отделяемое становится обильным Отек и интоксикация быстро нарастают. Отделяемое становится обильным , приобретает характерный сладковатый запах .
- Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными из-за выраженного отека, однако они не сокращаются при пересечении скальпелем Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными из-за выраженного отека, однако они не сокращаются при пересечении скальпелем . На разрезе мышцы имеют вид вареного мяса и не кровоточат Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными из-за выраженного отека, однако они не сокращаются при пересечении скальпелем . На разрезе мышцы имеют вид вареного мяса и не кровоточат . В дальнейшем они становятся черными Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными из-за выраженного отека, однако они не

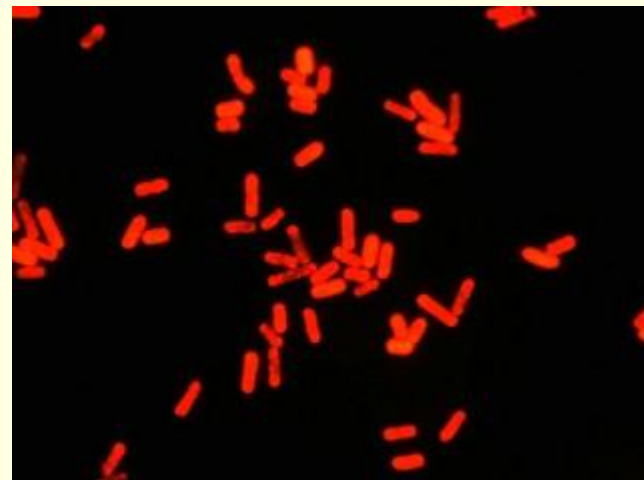


Лабораторная диагностика

Материалом для исследований служат биоптаты поражённых тканей (включая участки, примыкающие к очагам некроза, и отёчную жидкость), перевязочный и шовный материал, одежда, образцы почвы. Транспорт клинического экземпляра производится **строго в анаэробных условиях**

Методы:

1. **Быстрая диагностика:**
 - иммунофлуоресцентный;
 - клинический диагноз подтверждается при обнаружении грамположительных палочек в отсутствии лейкоцитов
 - Иммунофлуоресценция

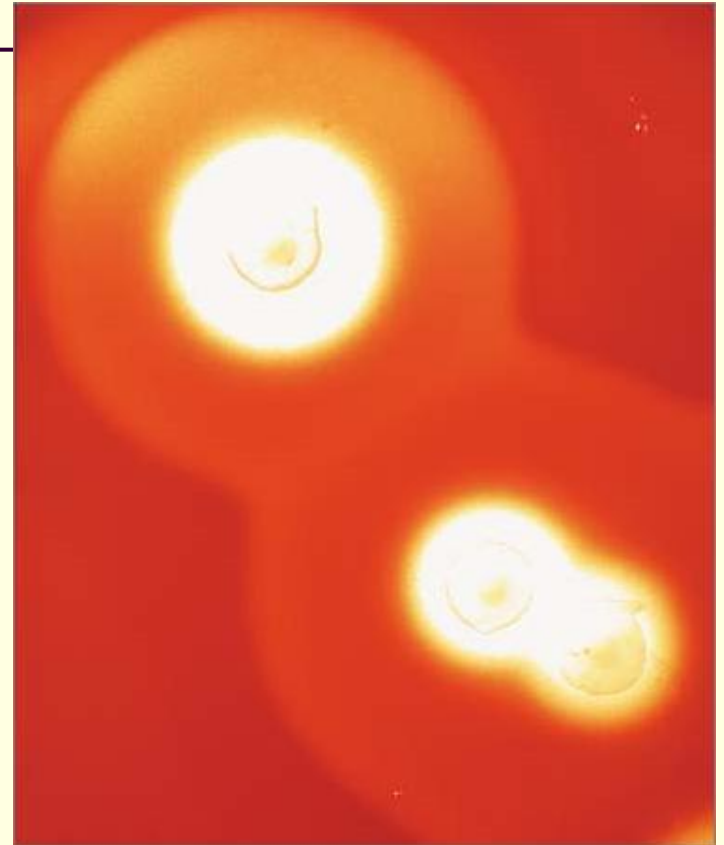


Лабораторная диагностика

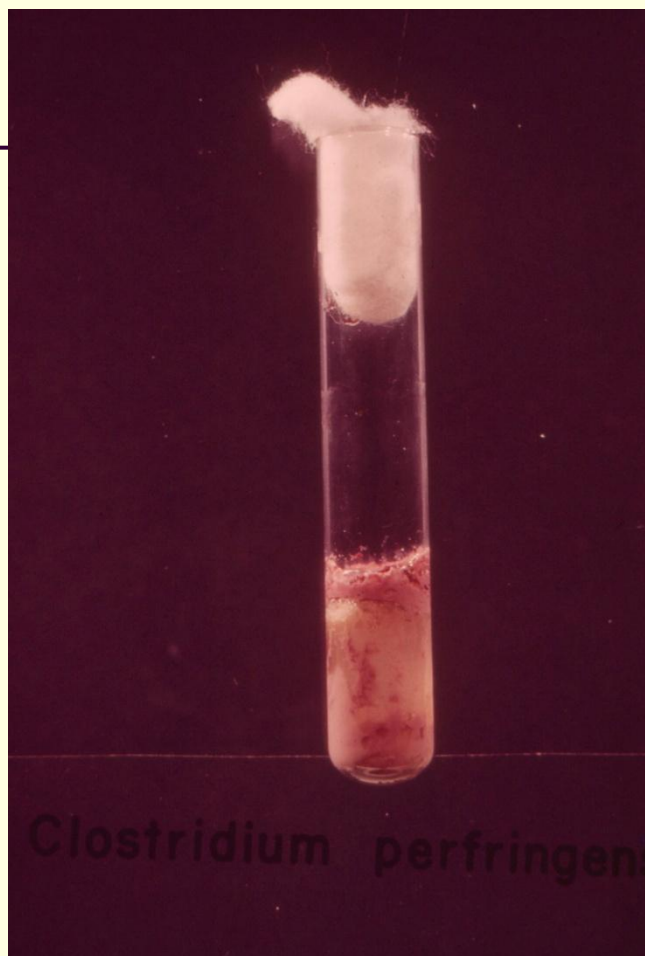
Бактериологический метод

1 этап. Посев на элективные питательные среды (предварительное прогревание уничтожит неспоровые бактерии)

2 этап. Макро- и микроскопическое изучение колоний.

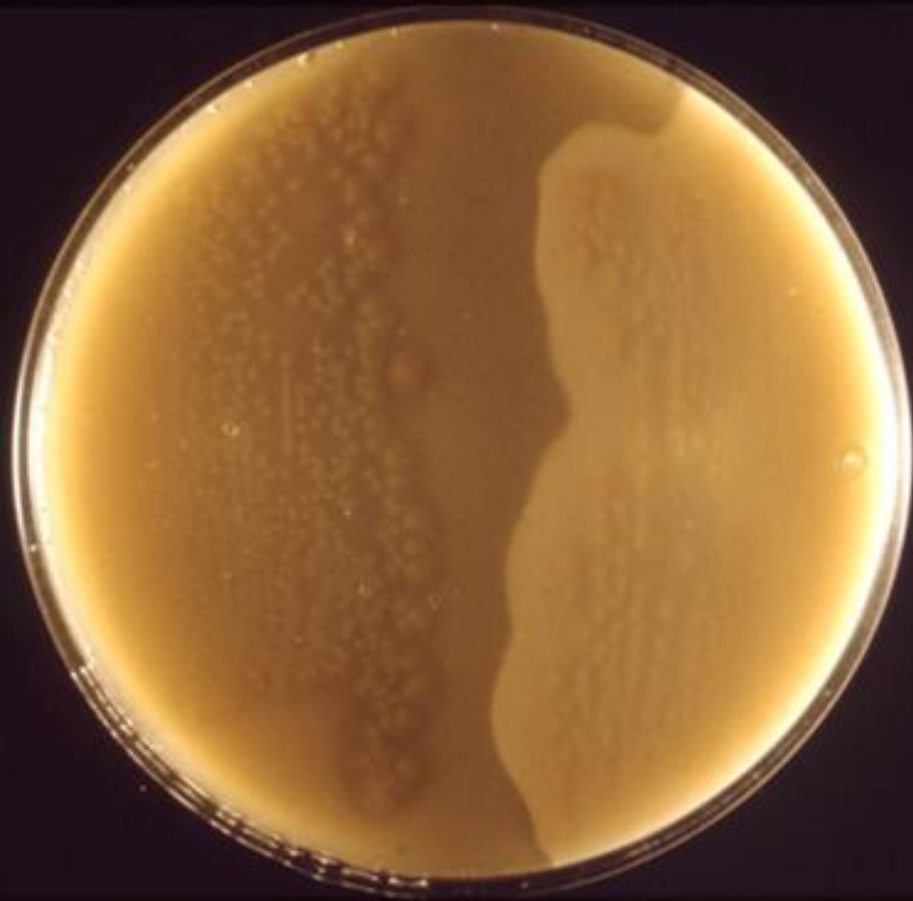


Двойная зона гемолиза при росте Clostridium perfringens на Columbia agar



*Клостридии створаживают
молоко*

*Виден разрыв столбика агара
за счет образования
большого количества газа*



Определение лецитиназной активности у *Clostridium perfringens*.

Лабораторная диагностика

2. Бактериологический метод

3 этап. Биохимическая идентификация на системах API-20A

3. Биопроба на мышах – реакция нейтрализации токсина антитоксином

Профилактика и лечение

- Для специфической профилактики при осложненных травмах и лечения газовой гангрены назначают поливалентную противогангренозную лошадиную сыворотку, содержащую антитела против токсинов *C.perfringens*, *C.novyi*, *C.septicum*
- Комплексные меры включают хирургическую обработку ран, гипербарическую оксигенацию, антибиотики и противогангренозную сыворотку.

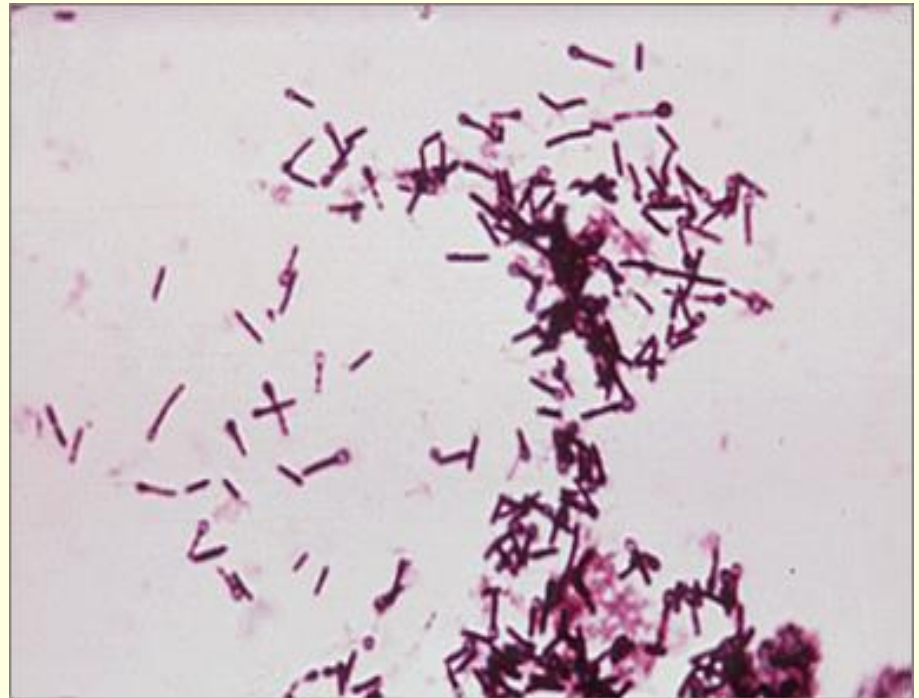
Clostridium tetani

Возбудитель столбняка



Cl. tetani

- Гр+ палочки с закруглёнными концами
- Подвижны, имеют жгутики (перитрихи)
- В неблагоприятных условиях образуют терминально расположенные споры



Cl.tetani

- *Тип дыхания:*
облигатные
анаэробы, более
строгие, чем
возбудители газовой
гангрены
- *Биохимическая
активность* низкая
не расщепляет
углеводы, слабая
протеолитическая
активность



Cl. tetani

культуральные свойства

- Растут на средах с НИЗКИМ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ: клостридиум агар, среда Вильсона-Блэра, железосульфитное МОЛОКО



Рост на железосульфитном агаре

Антигены.

Факторы патогенности.

- термостабильный О-аг – общий для вида, по Н-аг выделяют 10 сероваров, все продуцируют идентичный экзотоксин (нейтрализуется антитоксической противостолбнячной сывороткой одного типа)
- Возбудитель не инвазивен, выражена токсигенность
- Тетаноспазмин- играет основную роль в патогенезе столбняка
- Тетанолизин – сходен с гемолизинами других клостридий, роль не изучена

Резистентность.

Бактерии относительно неустойчивы к факторам окружающей среды, а споры способны выдерживать нагревание, солнечный свет, небольшие концентрации дезинфицирующих веществ.

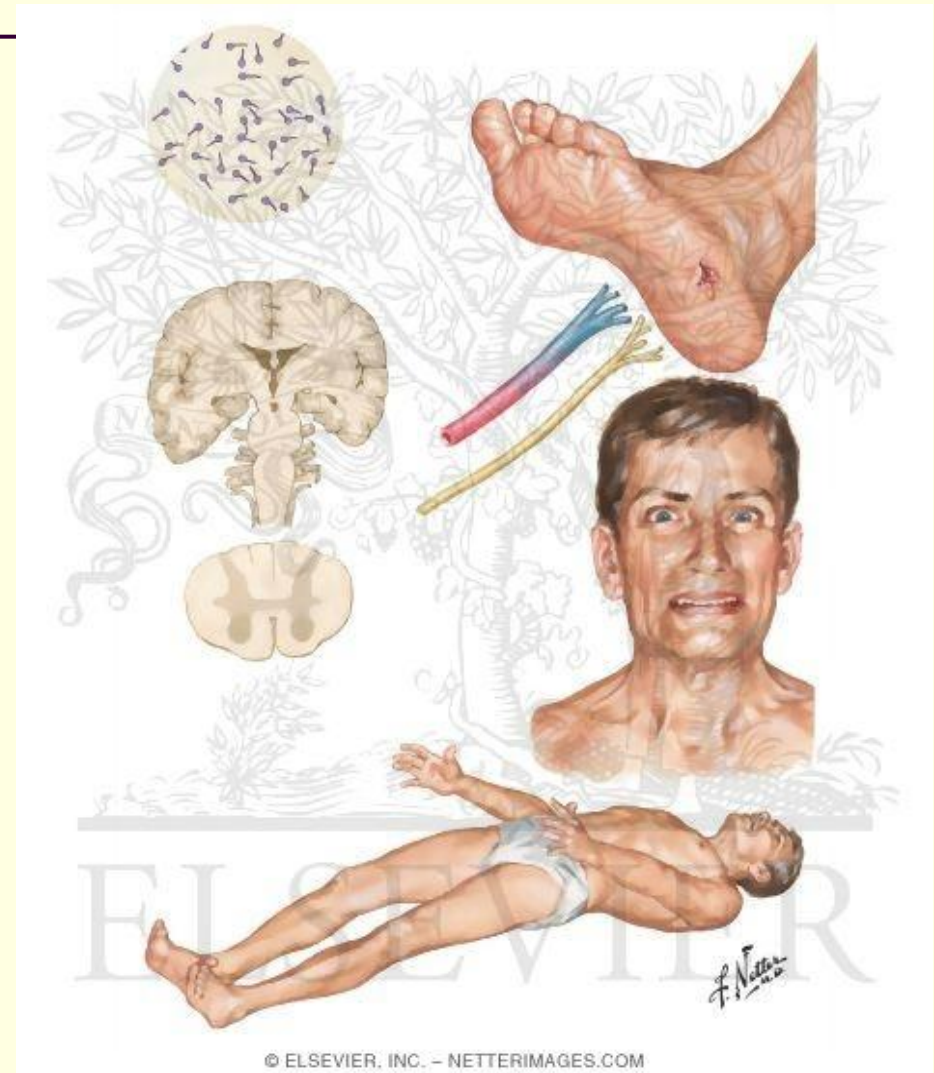
Эпидемиология.

Столбняк встречается во всем мире как осложнение бытовых и производственных травм, в также в военное время

Патогенез столбняка

- **Входные ворота** – поврежденные кожа и слизистые
- Прорастание спор и размножение вегетативных клеток; развитию анаэробных условий способствуют: нарушение кровоснабжения, развитие некротических процессов, наличие микробов - ассоциантов с аэробным дыханием
- Нейротоксин в центральную нервную систему проникает в области миелиновых синапсов, передается от нейрона к нейрону в области синапсов, накапливается в двигательных зонах спинного и головного мозга, блокирует синаптическую передачу.
- Неконтролируемые импульсы приводят к длительному тоническому сокращению скелетных мышц

- Независимо от локализации первичного очага инфекция всегда нисходящая
- Длительные мышечные сокращения ведут к развитию тканевого ацидоза
- Поражается не только нервная, но и сердечно-сосудистая, дыхательная системы.
- *Иммунитет* не стойкий, возможны повторные заражения





MedUniver.com
ВСЕ ПО МЕДИЦИНЕ.....

Рис. 3.79. Опистотонус

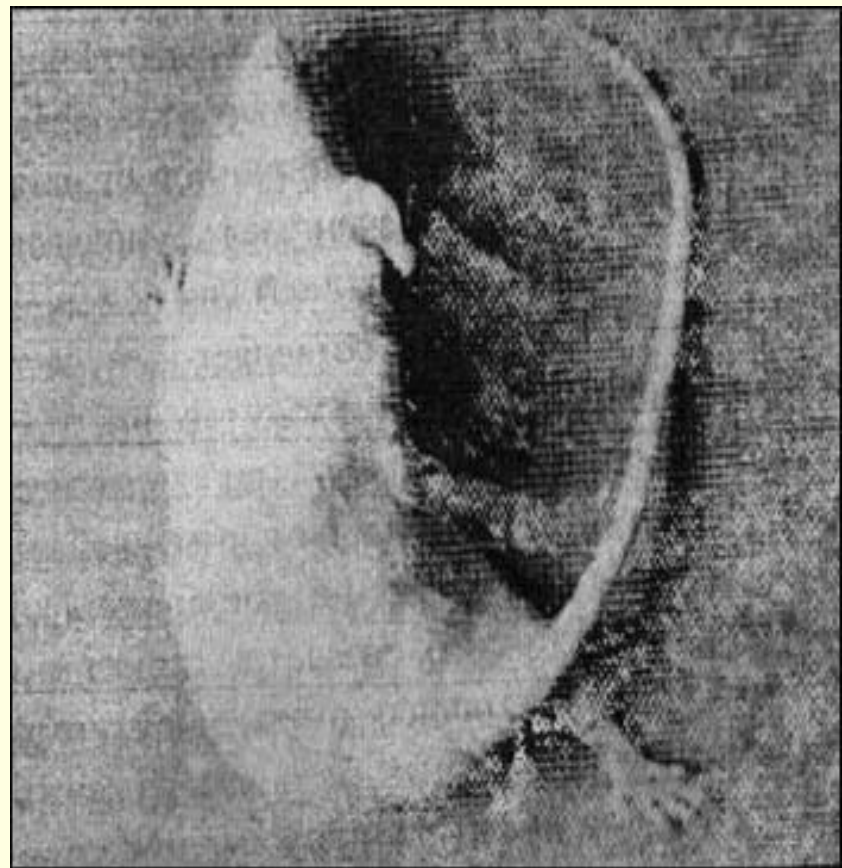
Лабораторная диагностика столбняка

Методы:

1. **Экспресс – методы:** обнаружение токсина в исследуемом материале с помощью серологических реакций – ИФА, РНГА, иммунофлуоресценции.
2. **Бактериологический** – проводят для проверки стерильности шовного, перевязочного материалов, растворов, наличия спор на на объектах

Лабораторная диагностика столбняка

3. Биологическая проба на мышцах: из отделяемого раны, кусочков ткани, крови выделяют «токсин». Одну порцию вводят группе мышей, вторую предварительно выдерживают с противостолбнячной сывороткой и после этого вводят мышам. Нейтрализация действия токсина у второй группы свидетельствует о наличии столбнячного токсина



Специфическая профилактика столбняка

- Плановая: для создания активного искусственного антитоксического иммунитета вводится столбнячный анатоксин; получают из экзотоксина путем его обработки формалином при 37-40 С в течение 3 недель; входит в состав вакцин АДС, АДС-М, АКДС, АКДС-М

Специфическая профилактика столбняка

Экстренная:

- **Пассивная иммунизация:** (введение готовых антител против столбнячного токсина): вводят противостолбнячный человеческий иммуноглобулин или противостолбнячную сыворотку лошадиную по Безредко (после введения малой дозы необходимо более получаса для выявления ГЗТ); получают сыворотку гипериммунизацией лошадей столбнячным анатоксином с последующей очисткой методом «Диаферм»
- **Активная иммунизация:** введение анатоксина в другой участок тела

Возбудитель пищевых интоксикаций

Семейство **Bacillaceae**

Род **Clostridium**

Вид **Cl.botulinum**



Cl.botulinum

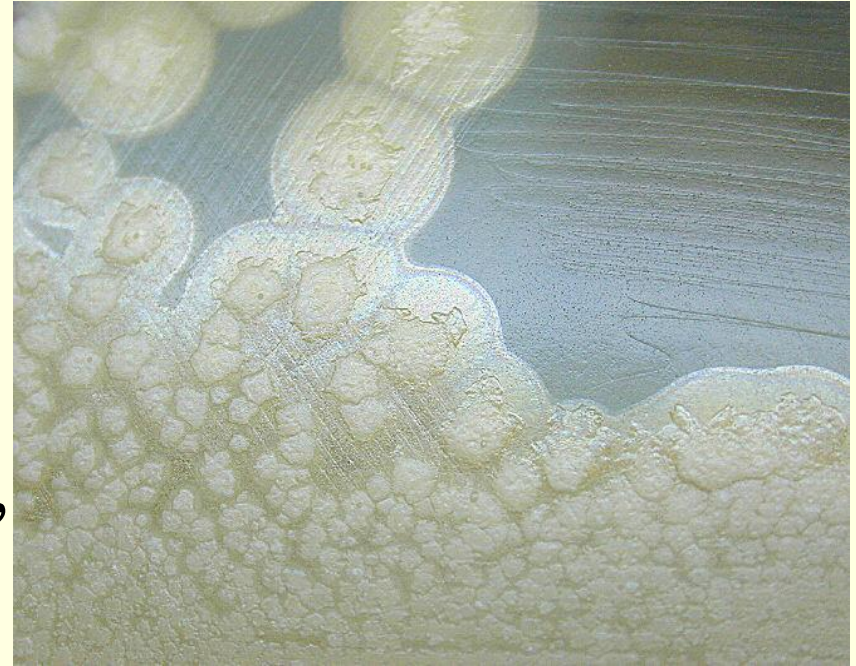
- Гр+ палочки с закруглёнными концами,
- Подвижны(перитрихи)
- Образуют овальные субтерминальные споры
- Строгие анаэробы



Мазок из чистой культуры *Cl.botulinum* окраска по Граму (видны неокрашенные субтерминальные споры)

Культуральные свойства

- Растут на средах с низким окислительно-восстановительным потенциалом: клостридиум агар, среда Вильсона-Блэра, железосульфитное МОЛОКО



При росте на желточной среде вокруг колоний виден лецитиназный венчик

Факторы патогенности

Cl. Botulinum образует экзотоксины, различающиеся по антигенным свойствам, и поэтому признаку подразделяется на серотипы;

- В настоящее время известны 8 серологических подтипов ботулинического токсина: А, В, С1, С2, D, Е, F, G;
- Ботулизм у человека могут вызывают серотипы А, В, Е, F, G, но самым сильнодействующим является тип А.

Резистентность.

Вегетативные формы малоустойчивы во внешней среде. А споры очень устойчивы – к высокой температуре (100°C 3-5 часов). Ботулинистический токсин устойчив к действию солнечного света, высушиванию, замораживанию, разрушается после кипячения в течение 20 минут.

Эпидемиология. Возбудители ботулизма обнаруживаются в почве и воде в виде спор, попадая туда с фекалиями животных рыб, моллюсков, кишечник которых является естественной для них средой обитания. В организм человека споры попадают с загрязненными продуктами, не прошедшими достаточную кулинарную обработку.

Патогенез и клиника вызываемых заболеваний.

Ботулизм представляет собой интоксикацию, возникающую в результате употребления в пищу продуктов, в которых росли и продуцировали токсин клостридии ботулизма

Токсин оказывает нейротоксическое действие. Токсин попадает в организм с пищей, хотя вероятно может накапливаться при размножении возбудителя в тканях организма. Токсин быстро всасывается в желудочно - кишечном тракте, проникает в кровь, избирательно действует на ядра продолговатого мозга и ганглиозные клетки спинного мозга.

Ботулотоксин

По химической природе он является белком, самым сильным из биологических ядов. В 1 мг токсина содержится до 100 млн. смертельных доз для белой мыши, а для человека летальная доза составляет не более 1 МКГ.

Клиника

Ботулизм новорожденных: от развернутой симптоматики до наступления смерти, неотличимой от синдрома внезапной смерти

Связан с попаданием и прорастанием спор в ЖКТ. Последнее обусловлено недостаточной сформированностью нормальной микрофлоры

Часто источником спор является мед, поэтому его не рекомендуют детям первого года жизни.



Клиника

Пищевой ботулизм:

- первые симптомы через 3-12 часов до нескольких дней (чем раньше, тем тяжелее протекает заболевание)
- Наиболее частые симптомы – диплопия, дисфония, дизартрия, дисфагия;
- В результате распространения нервно-мышечной блокады появляются вялые парезы;
- Больной в сознании, ориентирован, температура тела не повышается;
- Смерть наступает от паралича дыхательной мускулатуры

Клиника

- Раневой ботулизм:
 - редкая форма, может встречаться у больных наркоманией
 - Обусловлен действием токсина, вырабатываемого ботулинической палочкой, которая проросла из споры, попавшей в рану;
 - Инкубационный период чаще 10-14 дней;
 - Может быть повышена температура тела, остальные симптомы типичны



Лабораторная диагностика

Материалом для исследований служат: рвотные массы, промывные воды желудка, кровь, остатки пищи.

Методы диагностики:

1. **Серологический метод** (РОНГА – реакция обратной непрямой гемагглютинации с диагностическим поливалентной или моновалентными (А, В, Е) ботулиническим сыворотками; ИФА, реакция преципитации в геле.
2. **Биологический метод** (реакция нейтрализации токсина *in vivo* (обычно на мышах) с диагностическим моновалентными ботулиническими сыворотками.
3. **Бактериологический метод** – выделение и идентификация *C.botulinum* аналогично другим клостридиальным инфекциям.

При обнаружении ботулинического токсина в клиническом материале бактериологическое исследование не проводится

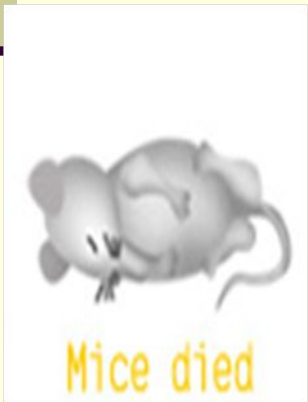
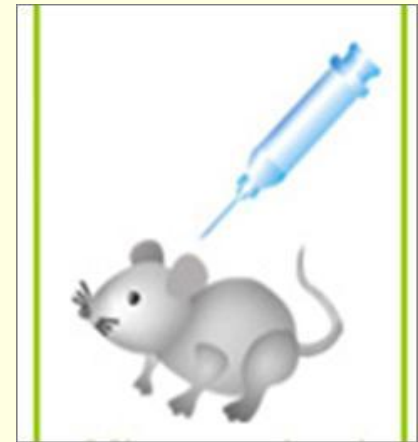
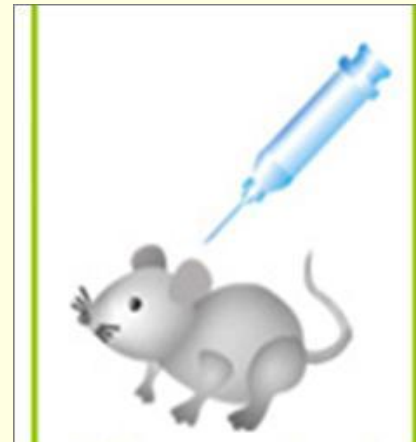
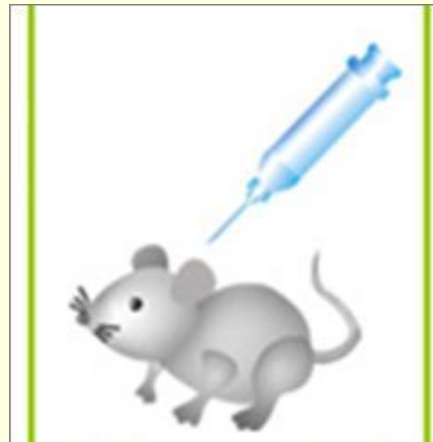
Биологический метод (реакция нейтрализации токсина *in vivo*)

Контрольная
группа (Вводят
исслед.материал)

Исслед.
материал+ ат
против токсина А

Исслед.
материал+ ат
против токсина В

Исслед.
материал+ ат
против токсина
Е



Лечение

Используют поливалентную противоботулиническую сыворотку лошадиную

- *Содержит антитела против ботулинических токсинов серотипа А, В и Е*
- *Получают гипериммунизацией лошадей соответствующим анатоксином последующей очисткой*

Применение ботулотоксина

Ботулотоксин в виде препаратов, содержащих мизерные дозы токсина, например, ботокс, нашел применение в терапии и косметологии



СРС №5

Некlostридиальные анаэробные бактерии: