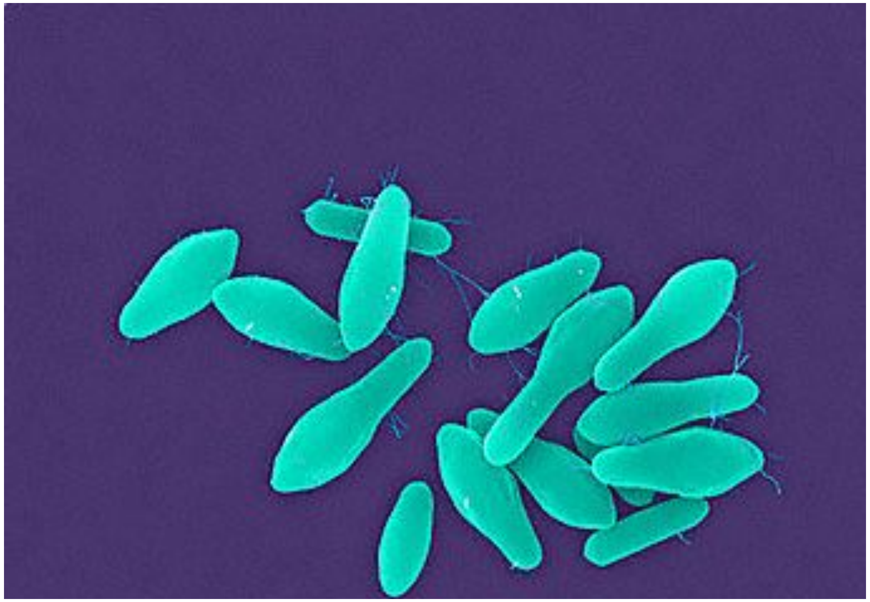
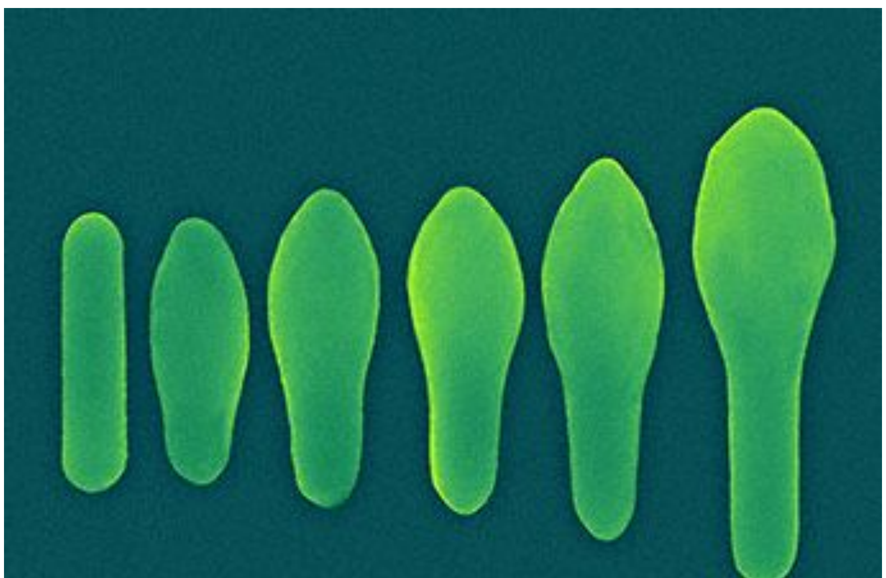




ПАТОГЕННЫЕ КЛОСТРИДИИ

Лектор-к.мед.н., доцент

Колычева

Наталья

Леонидовна

СУЩНОСТЬ АНАЭРОБИОЗА

- aer – воздух + bios – жизнь
- Пастер (1861): Clostridium butyricum – развивается в бескислородной среде
- акцептором водорода в оксилительно-восстановительных реакциях является не молекулярный кислород (как у аэробов), а:
  - нитрат (“нитратное дыхание”, возможно и у факультативных анаэробов),
  - сульфат (“сульфатное дыхание”)
  - или фумарат (“фумаратное дыхание”).
- если и донорами и акцепторами водорода выступают органические соединения = *брожение* (ферментативное расщепление преимущественно углеводов – в анаэробных условиях с образованием спирта, масляной, уксусной, молочной и др. органических кислот).

Чувствительные к кислороду и аэротолерантные бактерии

процессы метаболизма (окислительно-восстановительные реакции) в кислородной среде

⇩

$O^{\cdot}$

(супероксидный радикал)

⇩ супероксиддисмутаза

H_2O_2 (перекись водорода)

⇩ каталаза, пероксидаза

$H_2O + O_2$

- **нет супероксиддисмутазы** – ***строгие анаэробы***
- **есть супероксиддисмутаза, но нет каталазы и пероксидазы** – ***аэротолерантные анаэробы***

Анаэр-обы	Наличие ферментов, нейтрализующих токсические продукты O_2		При доступе кислорода воздуха	Без доступа кислорода воздуха
	Супероксид дисмутаза ($O^{\bullet} \rightarrow H_2O_2$)	Каталаза ($H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$)		
Аэро-толерант-ные	+	–	Не растут, но не погибают	Растут
Облигатные	–	–	Погибают	Растут
Факульта-тивные (б-во бактерий)	+	+	Растут	Растут

Механизмы внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности) фагоцитов

1.Кислороднезависимые механизмы (образование фаголизосомы и действие содержимого лизосом на фагосому)

Антимикробные пептиды

1. Лизоцим → расщепляет клеточную стенку (КС)
2. Катионные белки (дефензины, фагоцитин, и др.) → повреждают ЦПМ
3. Фосфолипаза A_2, С
4. Рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза
5. Лактоферрин → «отнимает» Fe
6. Low pH

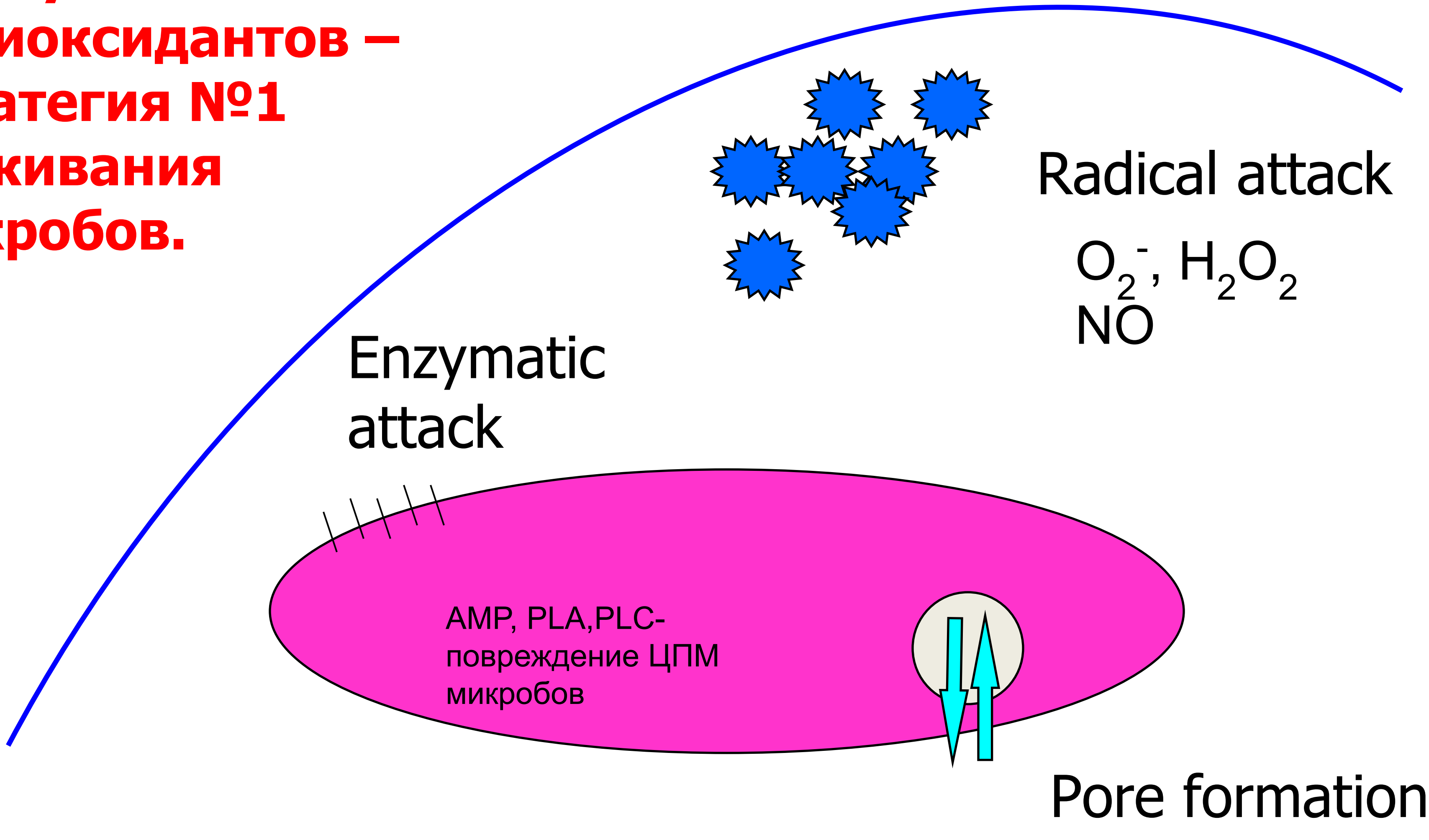
2.Кислородзависимые механизмы («респираторный взрыв»)

1. Супероксидный радикал
2. Перекись водорода
3. Гидроксильный радикал
4. NO, пероксинитрит
5. Синглетный кислород

ПОЛ, ОМБ, повреждение НК

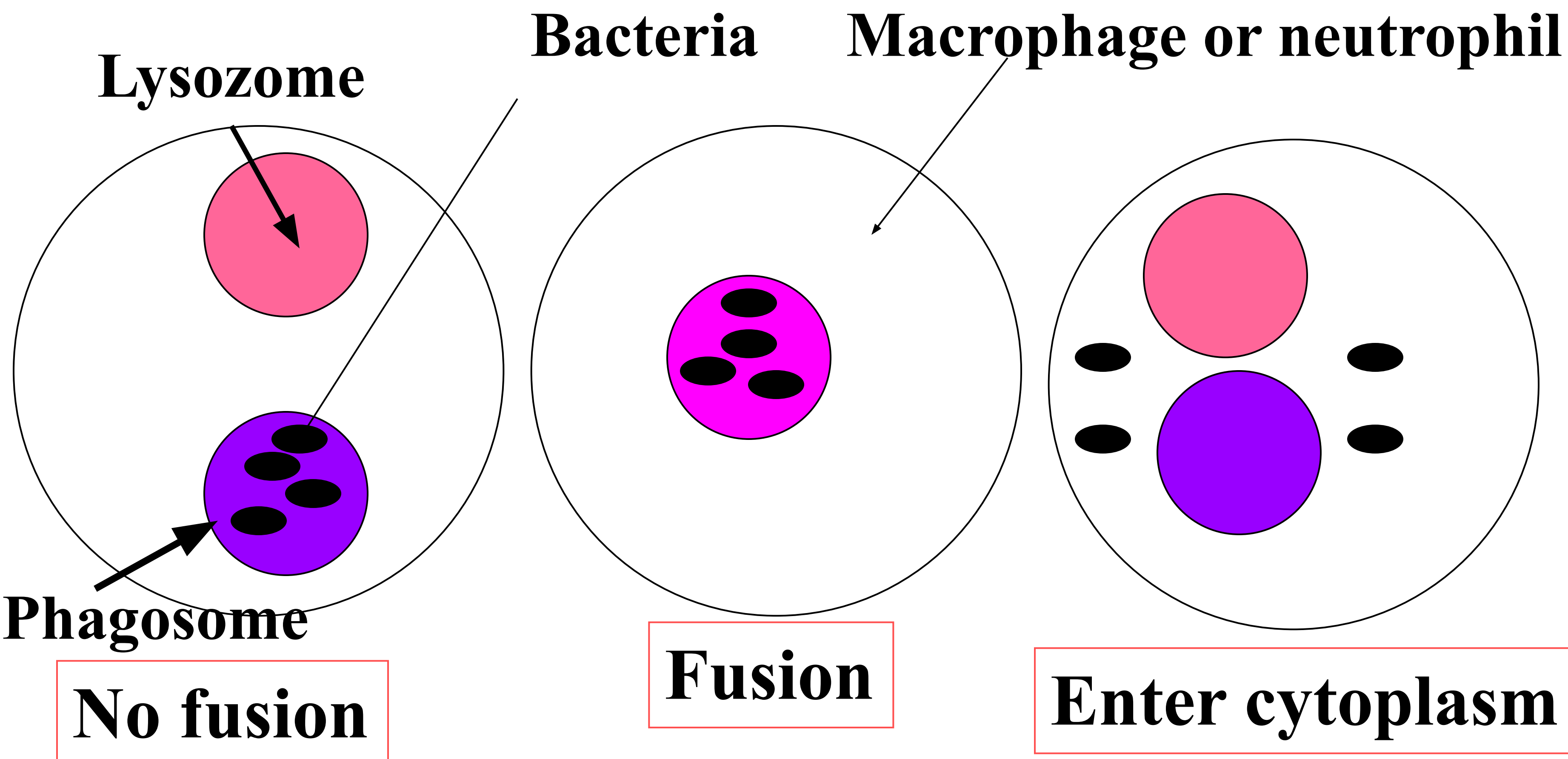
Phagocytic Killing Mechanisms

Продукция антиоксидантов – стратегия №1 выживания микробов.



Intracellular parasite

стратегии выживания бактерий



предотвращение слияния

продукция антиоксидантов

Бегство из фагосомы

принимаешь антиоксиданты?

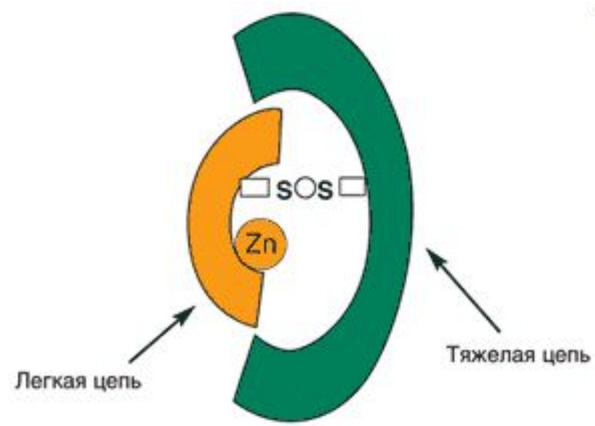
Рейнгард Гейдрих и операция «АНТРОПОИД»

- Наиболее очевидной биодиверсией многие специалисты считают ликвидацию в 1942 году британскими спецслужбами Рейнгарда Гейдриха – начальника Главного управления имперской безопасности (РСХА) и заместителя имперского протектора Богемии и Моравии.
- Исследования ботулинического токсина составляли важную часть программы по созданию биологического оружия Соединенного Королевства. В октябре 1941 года британская секретная служба попросила ее руководителя, Пауля Филдса, помочь в проведении операции «Антропоид», то есть в ликвидации Гейдриха. Группа Филдса изготовила специально модифицированную ручную противотанковую гранату № 73. Верхняя треть гранаты была обернута клейкой лентой, пропитанной веществом «ВТХ», то есть ботулиническим токсином.
- Чешские диверсанты действовали неумело. Ранения, полученные Гейдрихом в результате взрыва гранаты, оказались незначительными (осколки в области груди и селезенки), и он даже был в состоянии преследовать нападавших.
- Хирургическую операцию шефу РСХА провели хорошо даже по современным стандартам. Однако на седьмой послеоперационный день Гейдрих умер.

Ботулинический токсин

Подобно столбнячному токсину, продуцируется микробной клеткой в виде неактивного протоксина, переводимого в ядовитую форму

- или бактериальной протеазой
- или (у непротеолитических вариантов ботулинической палочки) протеазами желудочно-кишечного тракта.

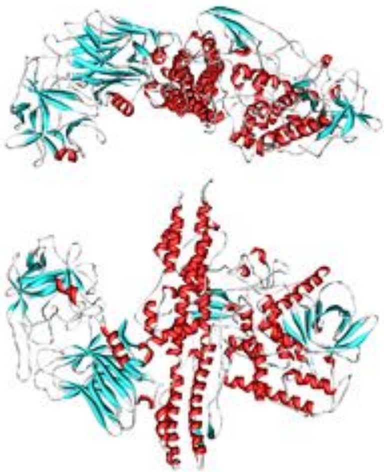


- Образующийся протоксин в результате протеолиза (например, трипсином) распадается на две субъединицы: тяжелую – взаимодействует с клеточным рецептором и легкую-токсический компонент

Нейротоксин C. botulinum - один из самых сильных биологических ядов.

Его смертельная доза для человека составляет 0,001 мг.

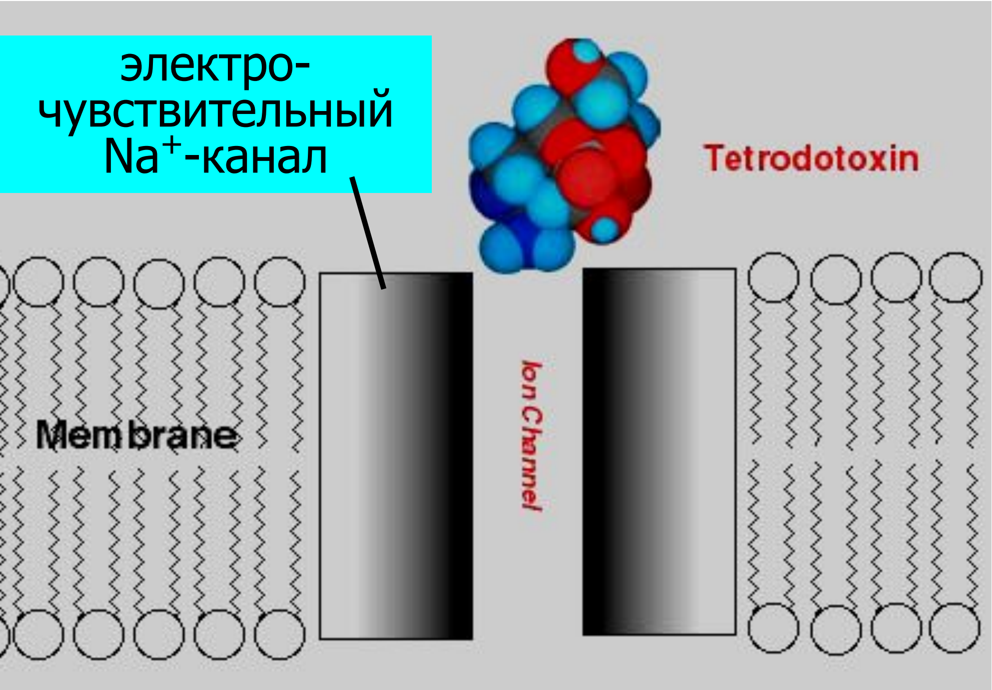
Ботулотоксин

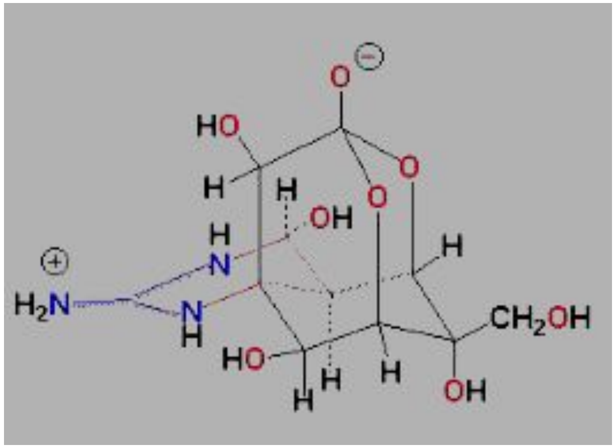


- Ботулотоксин является одним из самых сложных белков, синтезируемых живым организмом. Его масса составляет около 150 тысяч атомных единиц масс, что в три раза превосходит типичный размер белковой цепи, немногие белки превышают этот средний размер. Размер молекулы ботулотоксина приближается к верхнему пределу возможных масс белков.
- В природе нет вещества токсичнее ботулотоксина. Ботулотоксин в 70 тысяч раз более ядовит, чем самое токсичное искусственно синтезированное вещество, классический диоксин — 2,3,7,8 тетрахлородибензо-п-диоксин (TCDD).
- Наиболее близким к ботулотоксину ядом как по структуре, так и по силе является тетаноспазмин. Он вырабатывается другим видом клостридий — Clostridium tetani, возбудителем столбняка. Тем не менее он уступает ботулотоксину в ядовитости вследствие более низкой молекулярной массы — 140 тысяч а.е.м.

В результате действия токсина прекращается генерация и проведение ПД: сначала – по периферическим нервам («иллюзии» кожной чувствительности, параличи, нарушения зрения и слуха), позже – потеря сознания; смерть от остановки дыхания.

электро-чувствительный Na^+-канал



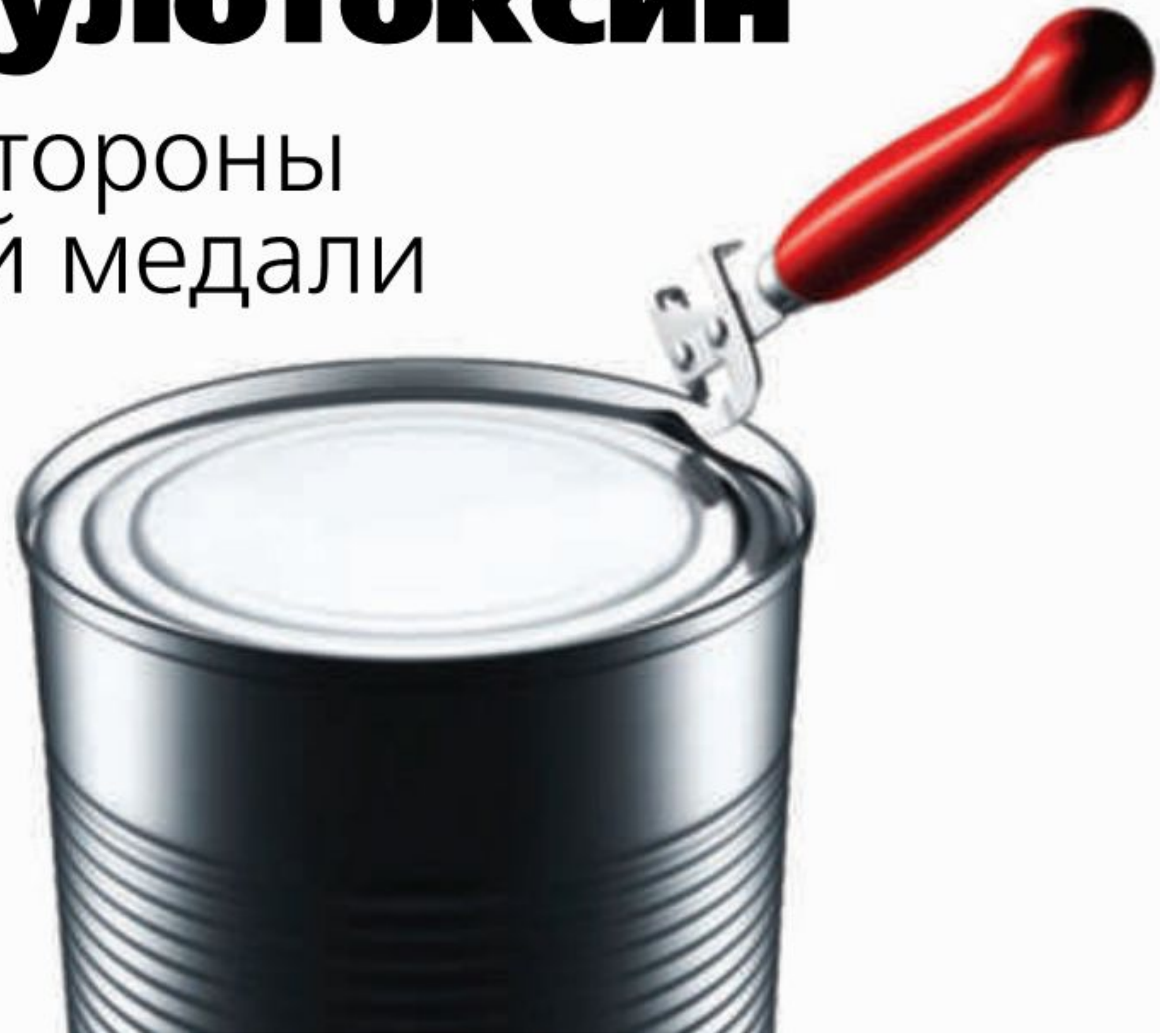


тетродотоксин – яд рыбы фугу

(аминогруппа работает как «пробка» для Na^+-канала)

Ботулотоксин

Две стороны одной медали



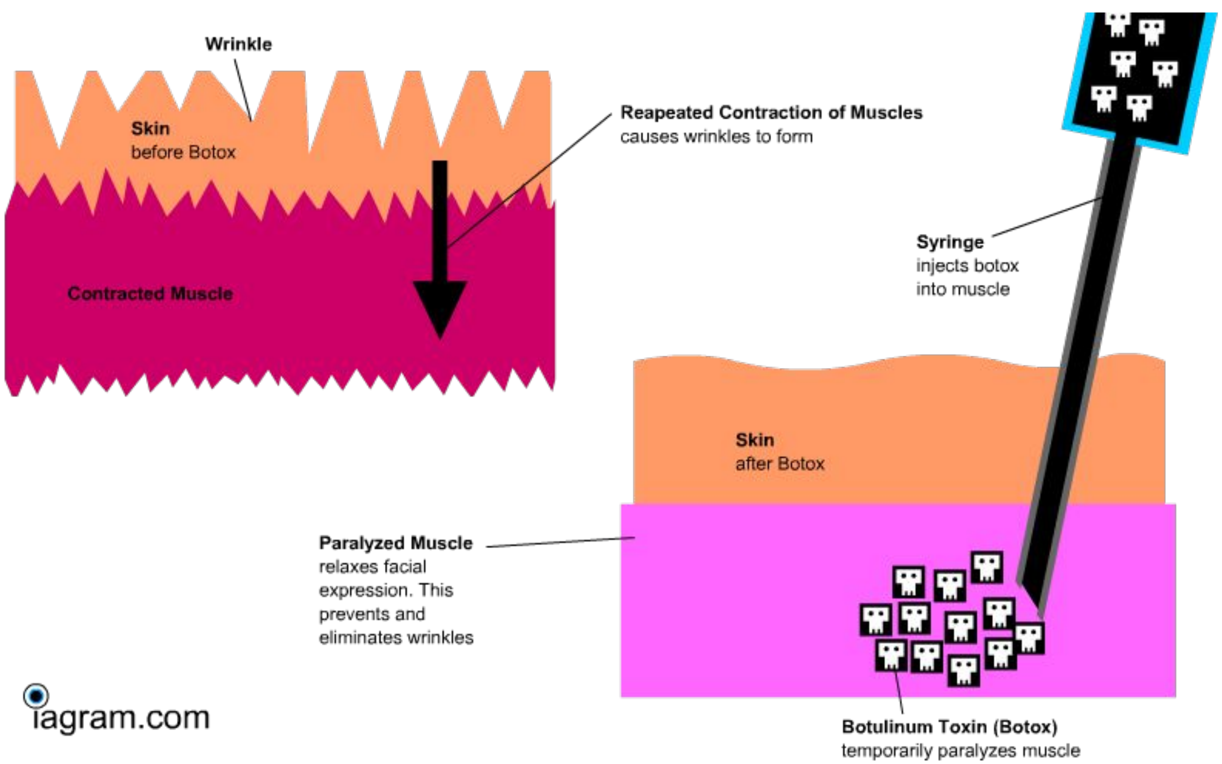
В настоящее время клиническое применение ботулотоксина А весьма широкое:

1. Гиперактивность поперечно-полосатой мускулатуры (гемифасциальный спазм, блефароспазм, спастическая кривошея, спастичность, детский церебральный паралич, ригидность, гиперфункциональные мимические морщины, тремор, тики и т.п.)
2. Гиперактивность мышц сфинктеров (нарушения мочеиспускания, спастический запор, геморрой и трещины прямой кишки, вагинизм)
3. Гиперфункция экзокринных желез (гипергидроз, гиперсаливация, слезотечение)
4. Различные болевые синдромы (головная боль напряжения, мигрень, лицевые боли).


Clostridium botulinum

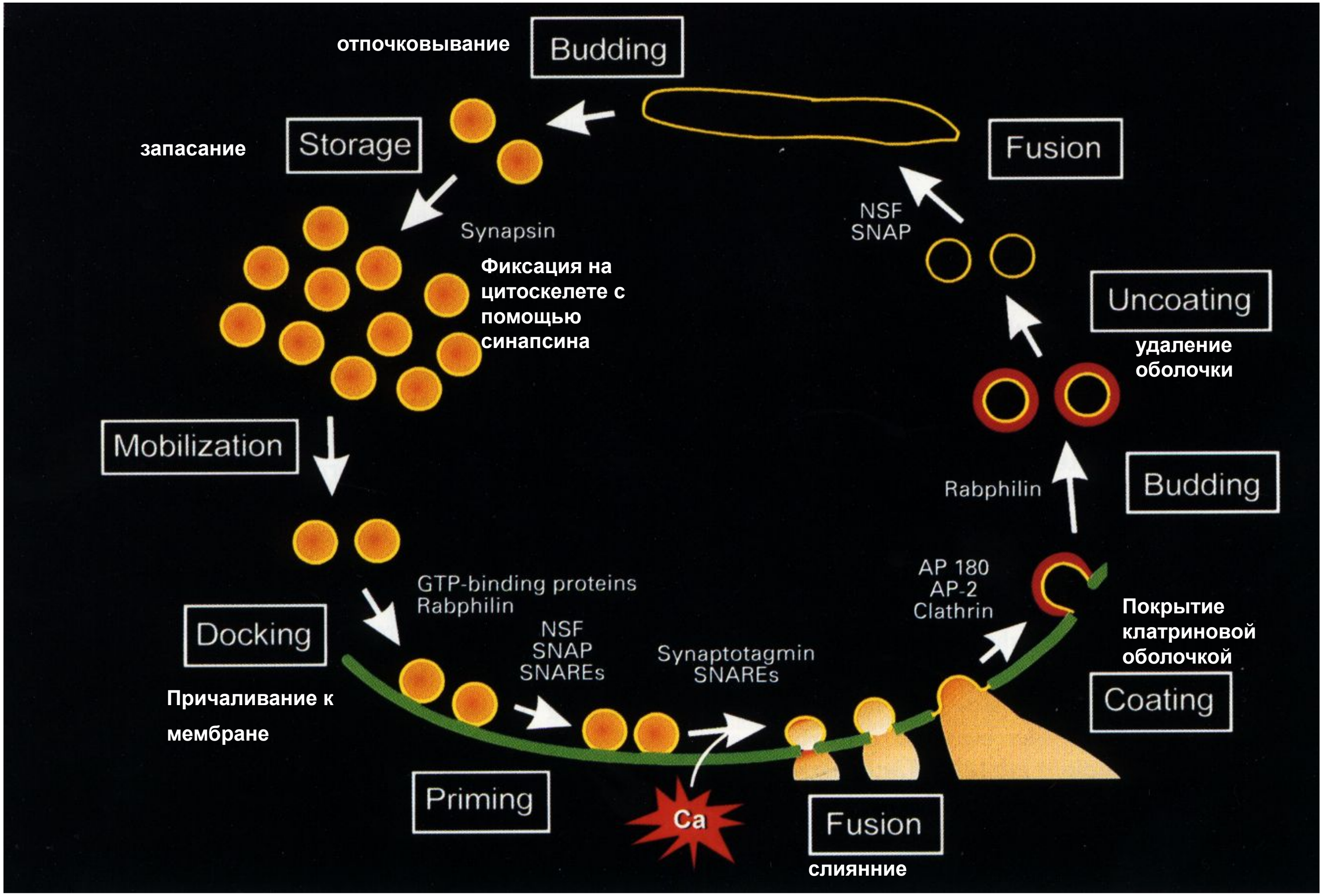
Botox

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

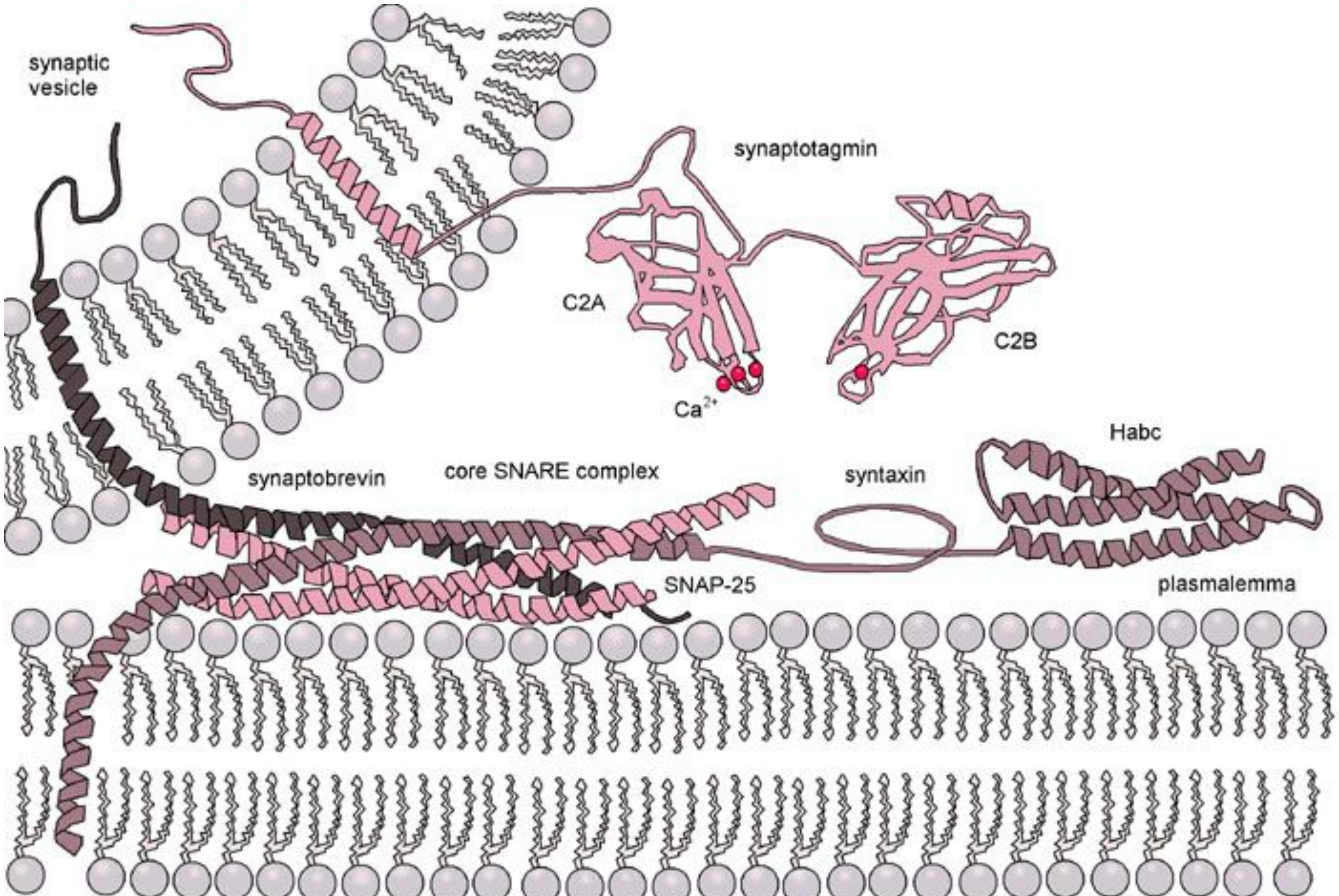


Токсины-протеазы – самые сильные биологические яды

Механизмы Ca^{2+}-зависимого экзоцитоза везикул

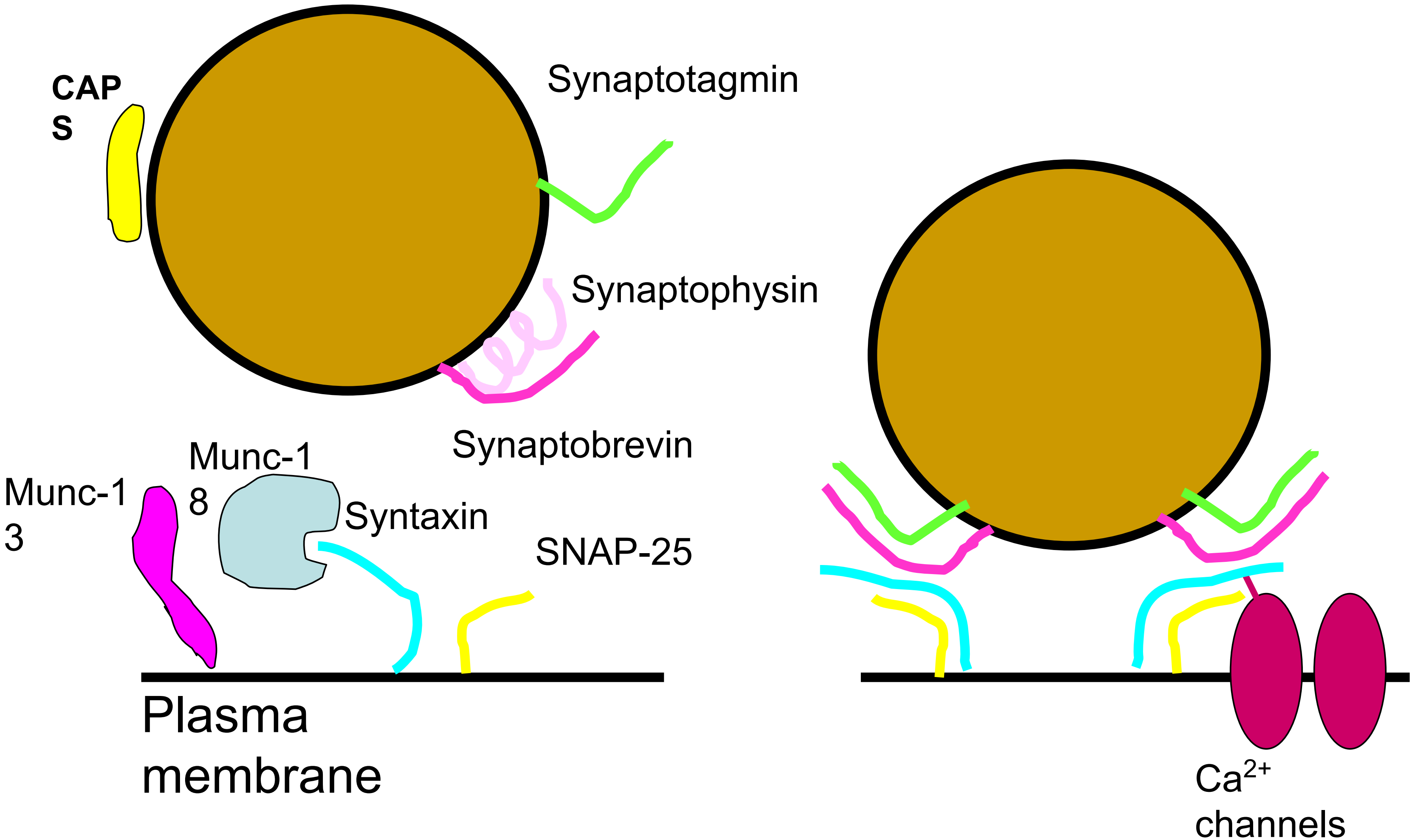


SNARE (от англ. *soluble NSF attachment receptor*) — большая группа белков, осуществляющих слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной (экзоцитоз) или органеллой-мишенью, такой как лизосома.



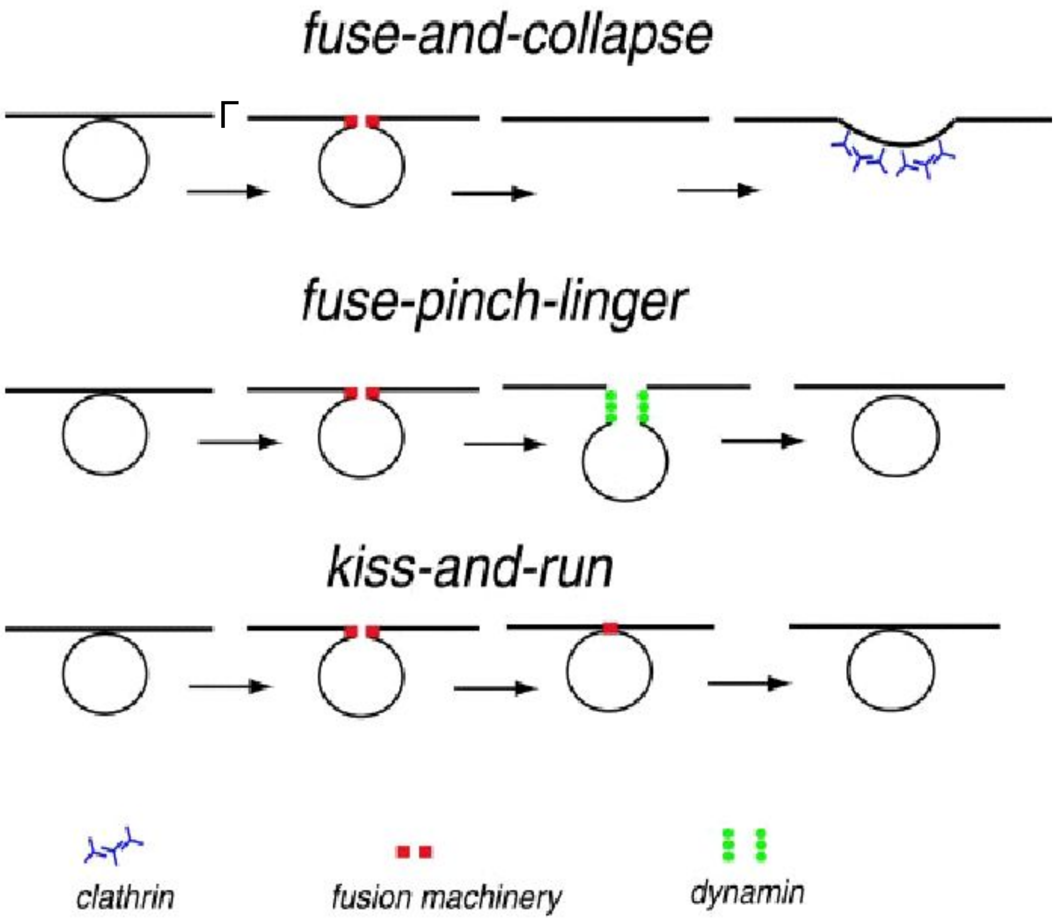
Насчитывается около 60 белков *SNARE*. Белки группы делятся на две функциональные категории: везикулярные белки (*v-SNARE*) и белки принимающей органеллы (*t-SNARE*).

Synaptic proteins of vesicular trafficking : *SNARE complex*

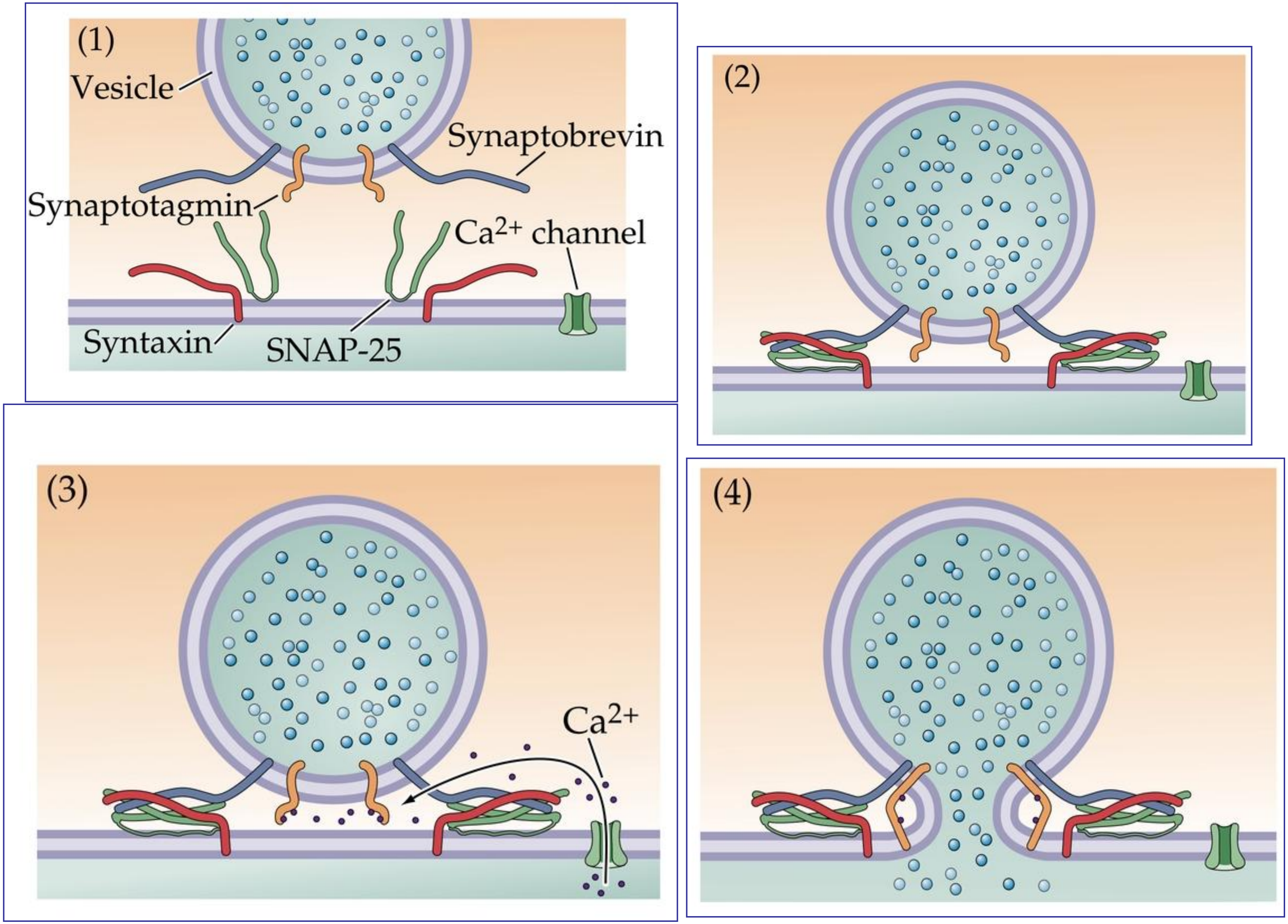


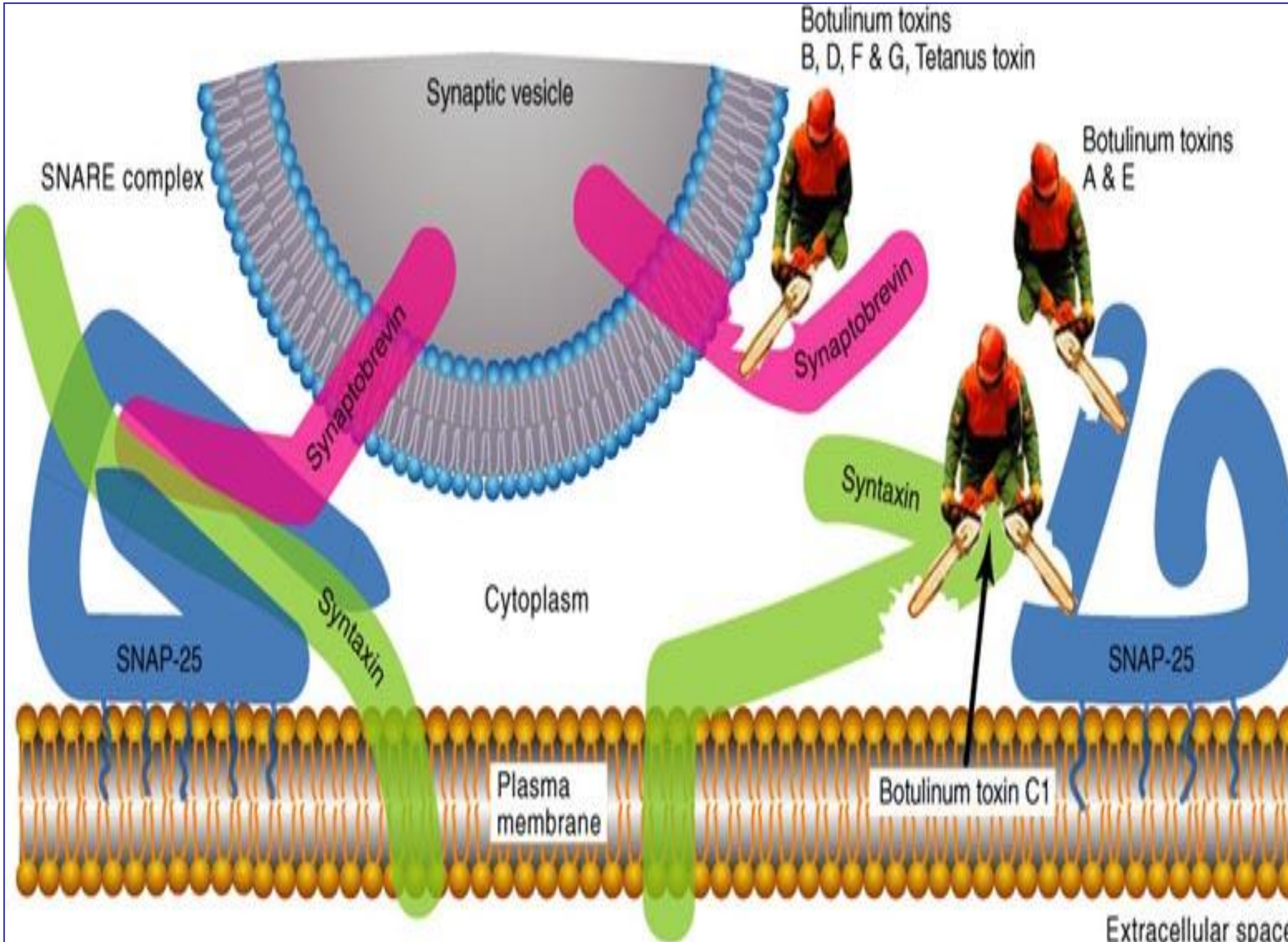
Механизмы освобождения медиатора из везикул

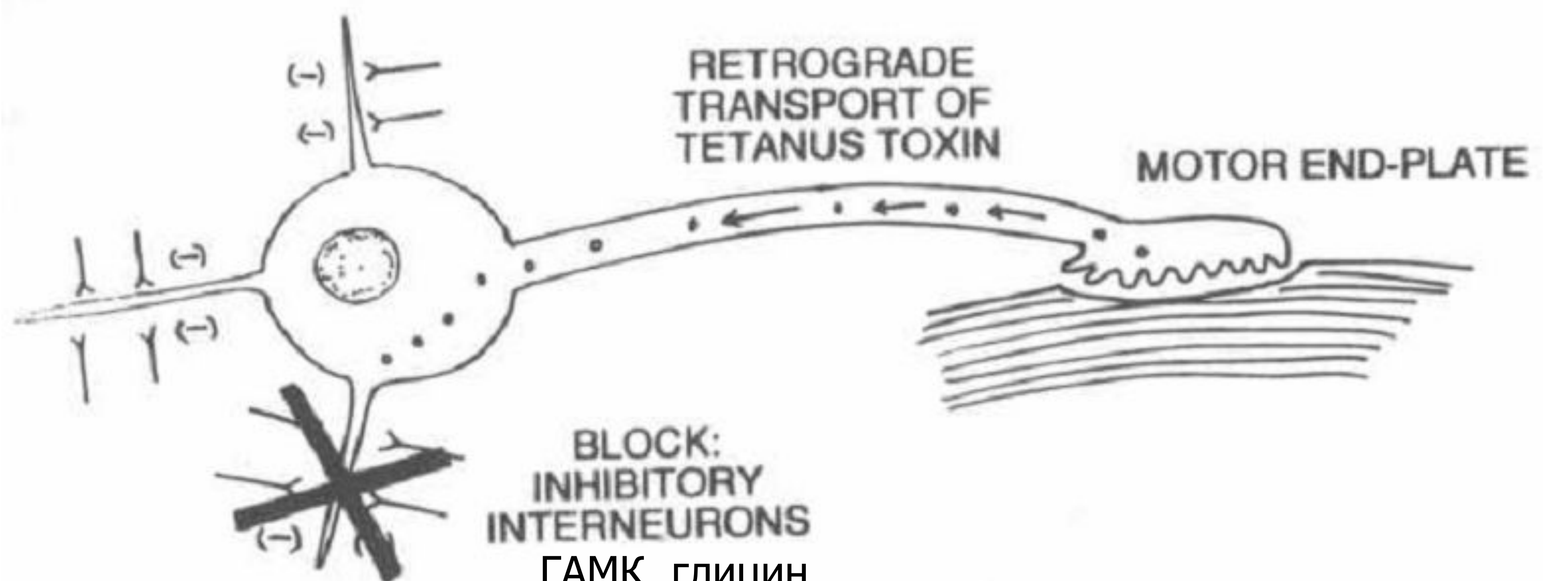
Есть два принципиальных механизма освобождения медиатора и всего содержимого везикулы в синаптическую щель. Первый механизм представляет собой классический экзоцитоз с полным слиянием и сопровождается встраиванием мембраны синаптической везикулы в пресинаптическую. В этом случае все содержимое везикулы оказывается в синаптической щели (**fuse**). Второй механизм – экзоцитоз без полного слияния, с частичным освобождением (**kiss and run**).

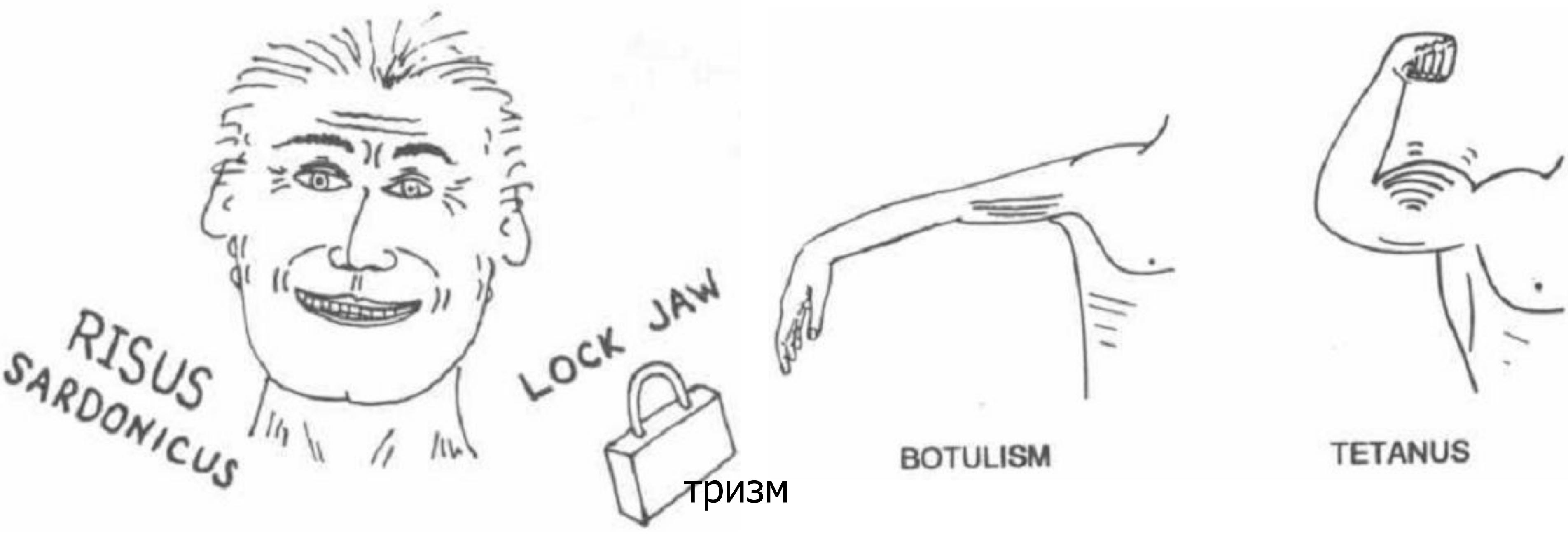


Этапы освобождения медиатора из везикул




Botulinum toxins
B, D, F & G, Tetanus toxin
Synaptic vesicle
SNARE complex
Botulinum toxins
A & E
Synaptobrevin
Synaptobrevin
Syntaxin
Syntaxin
Cytoplasm
SNAP-25
SNAP-25
Plasma
membrane
Botulinum toxin C1
Extracellular space

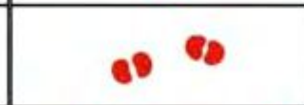
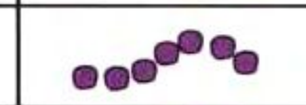
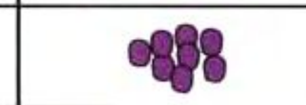
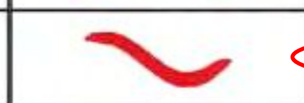
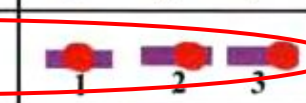
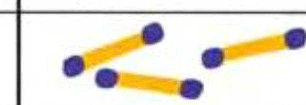
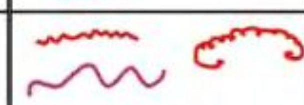
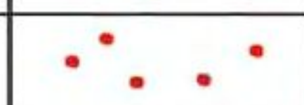

RETROGRADE TRANSPORT OF TETANUS TOXIN
MOTOR END-PLATE
(–)
BLOCK: INHIBITORY INTERNEURONS
ГАМК, глицин


RISUS SARDONICUS
LOCK JAW
тризм
BOTULISM
TETANUS

Классификация анаэробных бактерий

грамположительные		
кокки	**палочки**	
	спора +	спора –
Pepto-coccus Peptostreptococcus	**Clost-ridium**	Propionibacterium Eubacterium

грамотрицательные	
кокки	**палочки**
Veilonella	Bacteroides Porphyro-monas Prevotella Fusobacte-rium

ТОНКОСТЕННЫЕ, ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ		ТОЛСТОСТЕННЫЕ, ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ	
Менингококки		Пневмококки	
Гонококки		Стрептококки	
Вейлонеллы		Стафилококки	
Палочки		Палочки	
Вибрионы		Бациллы*	
Кампилобактерии, Хеликобактерии		Клостридии*	
Спириллы		Коринебактерии	
Спирохеты		Микобактерии	
Риккетсии		Бифидобактерии	
Хламидии		Актиномицеты	

*Расположение спор: 1 – центральное, 2 – субтерминальное, 3 – терминальное.

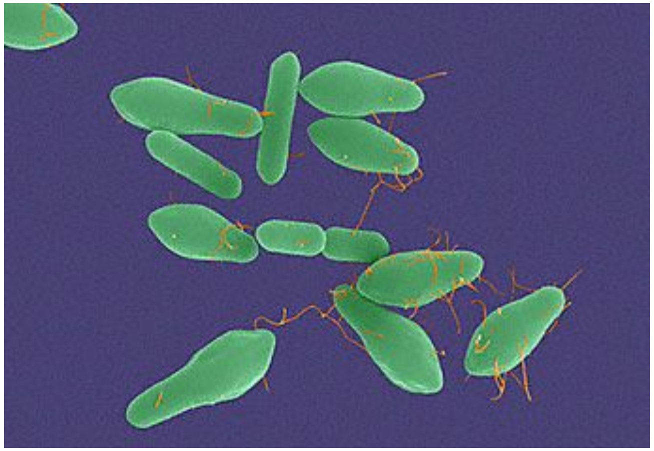
Рис. 3.2. Основные формы бактерий

КЛОСТРИДИИ

Таблица 3.31. Виды клостридий, имеющие наибольшее значение в патологии человека

Виды клостридий	Болезнь
C. botulinum, C. baratii, C. butyricum	Ботулизм
C. perfringens, C. novyi, C. ramosum, C. histolyticum, C. septicum	Газовая гангрена, пищевая токсикоинфекция, некротизирующий энтерит
C. tetani	Столбняк
C. difficile	Псевдомембранозный язвенный колит, антибиотико-ассоциированная диарея

Clostridium perfringens



Clostridium botulinum

Clostridium tetani

Общая характеристика клостридий

- Г+ палочки, имеющие спору, превышающую диаметр бактериальной клетки.
- Вызывают маслянокислое брожение.
- Патогенные для человека виды гидролизируют желатин.
- Вырабатывают экзотоксины - сильнейшие биологические яды.

Классификация клостридий

Возбудители бродильных процессов (преобладает сахаролитическая активность)	
Возбудители процессов гниения (преобладают протеолитические свойства)	
Патогенные виды (могут обладать и сахаролитическими и протеолитическими свойствами)	
возбудители травматических клостридиозов	**возбудители энтеральных клостридиозов**

- C. perfringens A
- C. novyi (oedematiens)
- C. histolyticum
- C. septicum
- C. sporogenes
- C. sordellii
- C. tetani

- C. perfringens A, C, D
- C. difficile
- C. botulinum

Таблица 16.27. Основные дифференциальные признаки патогенных для человека клостридий

Вид	Споры	Аэробный рост	Лецитин	Липаза	Гидролиз желатина	Индол	Основные продукты метаболизма
C. botulinum							
• I группа	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК, иМК, иВК
• II группа	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК
• III группа	ОС	–	+	+	+	–	УК, ПК, МК
• IV группа	КТ	–	–	–	+	-	УК, ПК, МК, иМК, ФУК
C. tetani	ОС	–	–	–	+	±	УК, МК, ПК
C. perfringens	С	–	+	–	+	–	УК, МК
C. difficile	ОС	–	–	–	±	–	УК, МК, иМК, ВК, иВК, иКК
C. sordellii	ОС	–	+	–	+	+	УК
C. novyi A	ОС	–	+	+	+	–	УК, ПК, МК
C. novyi B	ОС	–	+	–	+	–	УК, ПК, МК
C. histoliticum	ОС	±	–	–	+	–	УК
C. septicum	ОС	–	–	–	+	–	УК, МК
C. bifermentans	ОС	–	+	–	+	+	УК
C. sporogenes	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК, иВК
C. tertium	ОС	+	–	–	–	–	УК, МК
C. ramosum	К/ОС	–	–	–	–	–	УК
C. butiricum	ОС	–	–	–	–	–	УК, МК
C. bryantii	К/ОС/Т	–	+	–	–	–	УК, МК, МолК

Примечание. Споры: О — овальные; К — круглые; С — субтерминальные; Т — терминальные. Метаболиты: УК — уксусная кислота; МК (иМК) — масляная (изомасляная) кислота; ПК — пропионовая кислота; ВК (иВК) — валериановая (изовалериановая) кислота; иКК — изокапроевая кислота; МолК — молочная кислота. КА — кровяной агар.

Среда обитания клостридий

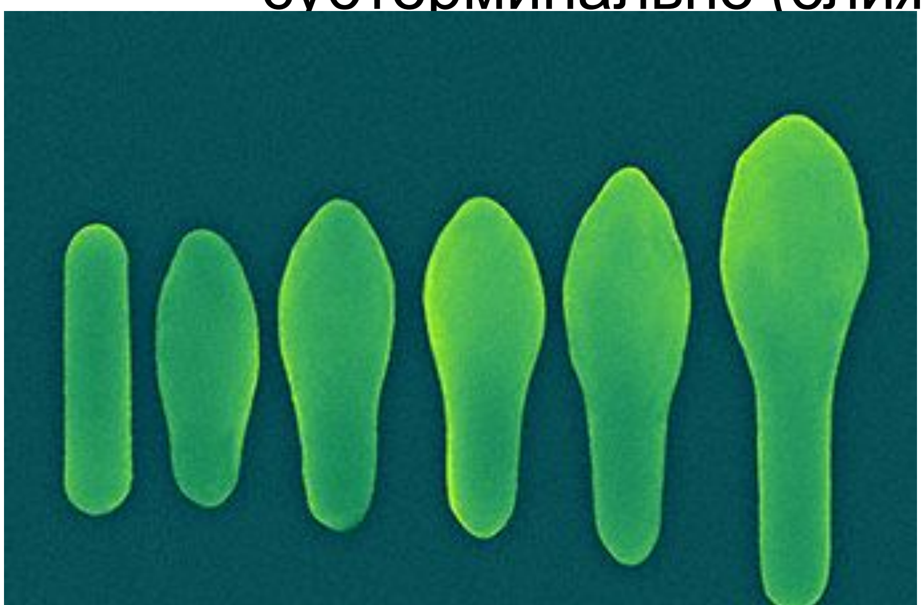
- Кишечник человека и животных.
- Почва (в неё попадают с испражнениями, но для многих клостридий именно почва является естественной средой обитания).
- Дно водоёмов.

Устойчивость клостридий к факторам внешней среды

- вегетативных форм - не отличается от других, неспорообразующих, бактерий
- спор - может быть очень высока
  - (у некоторых видов они выдерживают кипячение и сохраняются во внешней среде десятки и даже сотни лет)

Спорообразование у клостридий

- Происходит во внешней среде или в толстом кишечнике.
- Споры бывают круглые или овальные.
- В клетке споры могут находиться:
  - центрально,
  - терминально (на конце палочки)
  - субтерминально (ближе к одному из концов



Clostridium spore formation and developmental stages - vegetative cell (left) to mature spore forming cell with large spore (right).

Спора и спорообразование у бактерий: эндоспора

- Определение
  - Покоящаяся форма, позволяющая сохранить наследственную информацию бактериальной клетки в неблагоприятных условиях внешней среды
- Функция
  - Защита от:
    - неблагоприятных физико-химических факторов внешней среды
    - истощения питательной среды
- Строение
  - ДНК, окруженной многослойной оболочкой, в т.ч. пептидогликановой (кортекс)
- Место образования
  - внешняя среда (не в организме человека)
  - искусственная питательная среда

Спора и спорообразование у клостридий

- Факторы, обусловливающие термоустойчивость
  - практически полное отсутствие свободной воды
  - повышенная концентрация кальция
  - наличие дипиколиновой кислоты
  - особое строение белка
  - особое строение пептидогликана кортекса

Спора и спорообразование у клостридий

- **Стадии образования**

1. формирование спорогенной зоны (уплотненный участок цитоплазмы вокруг нуклеоида)
2. образование проспоры (изолирование спорогенной зоны от остальной части цитоплазмы врастающей внутрь клетки ЦПМ)
3. образование кортекса
4. образование внешней оболочки, содержащей дипиколиновую кислоту
5. отмирание вегетативной части клетки

- **Стадии прорастания**

1. набухание (увеличение количества свободной воды)
2. активация ферментов
3. разрушение плотных оболочек
4. выход ростовой трубки (бактериальной клетки)
5. синтез клеточной стенки

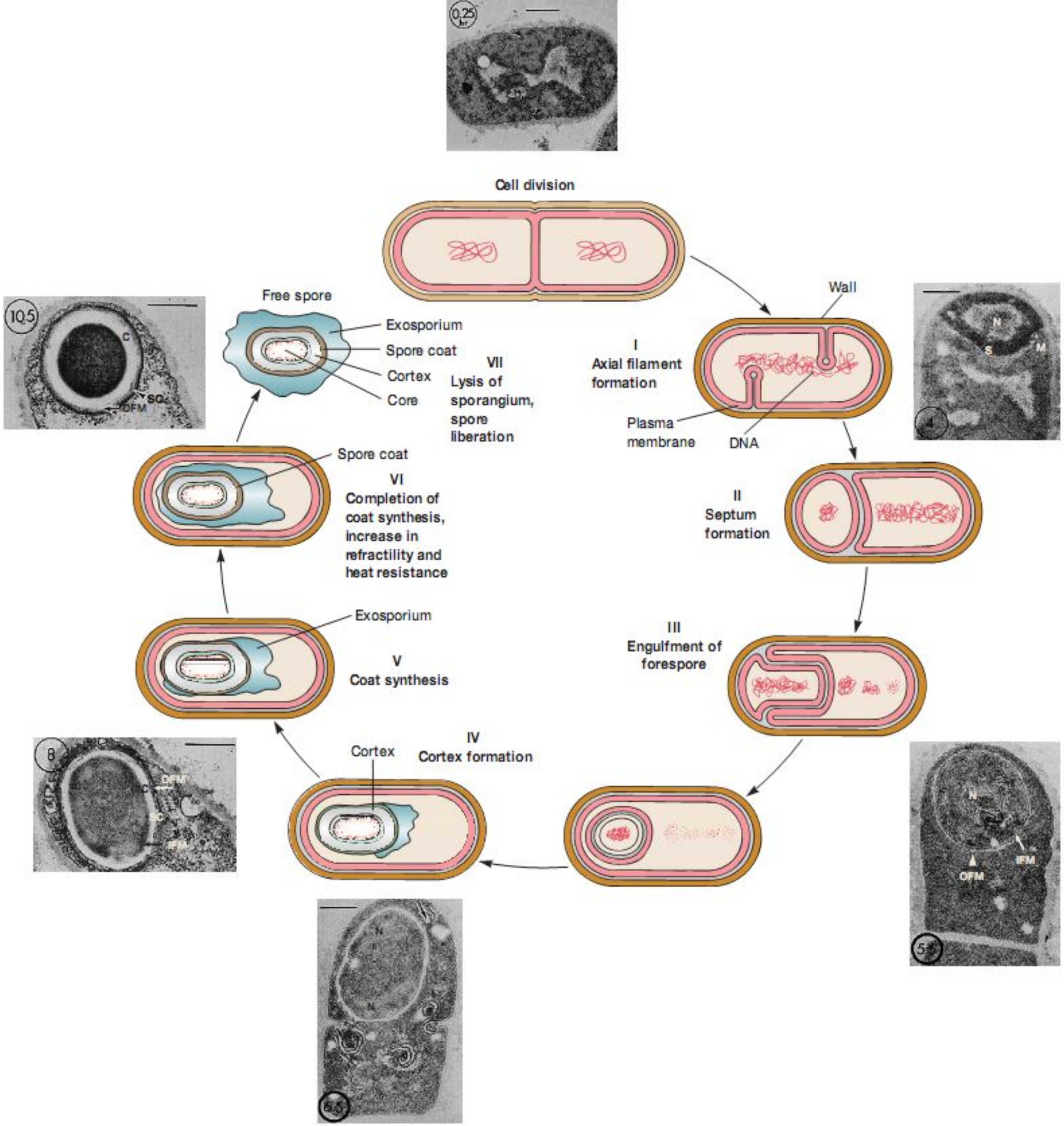
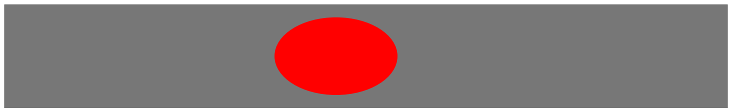


Figure 3.43 Endospore Formation: Life cycle of *Bacillus megaterium*. The stages are indicated by Roman

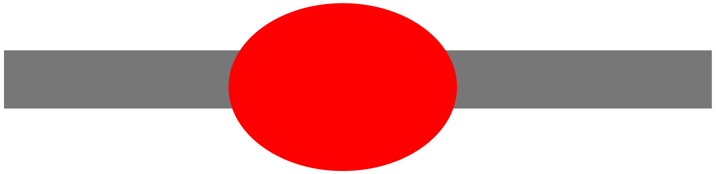
Спора и спорообразование у клостридий

- Выявление
  – окраска по Цилю-Нильсену

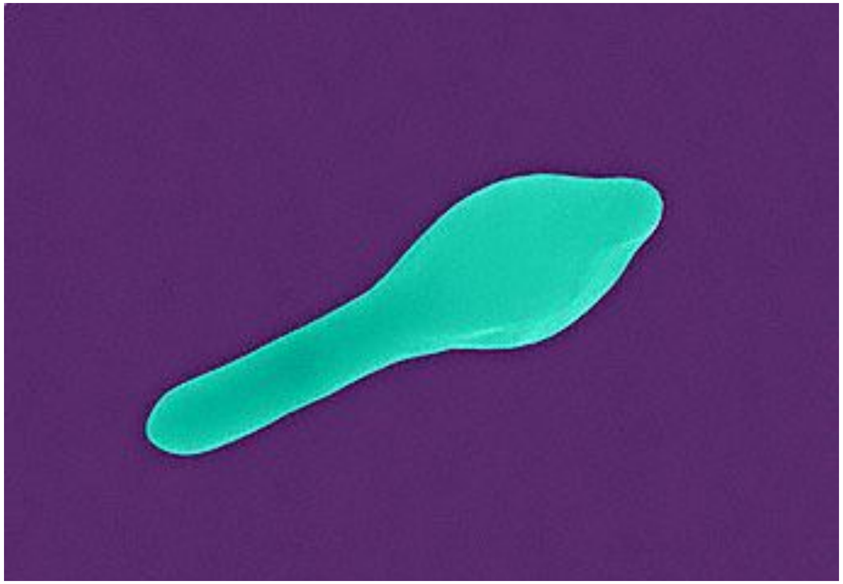
бацилла

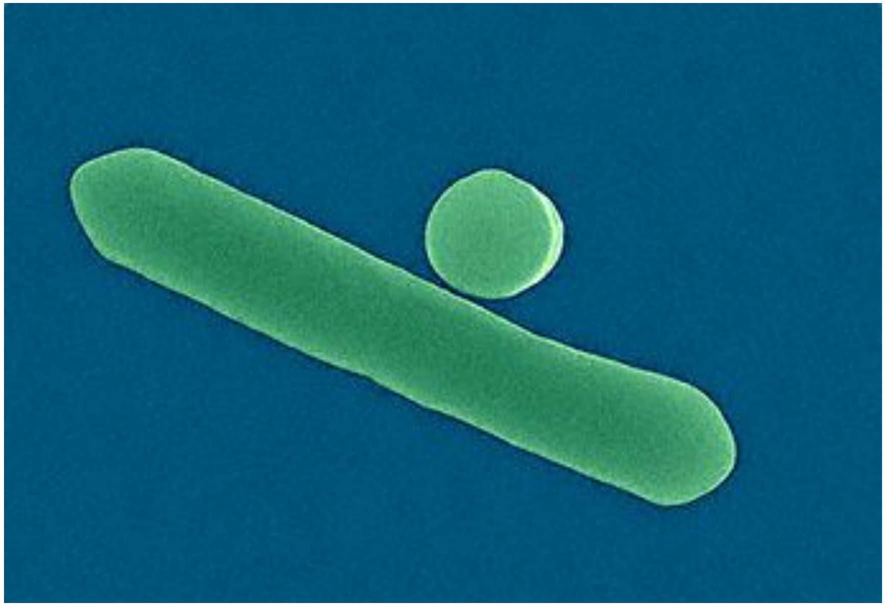


клостридия



ВОЗБУДИТЕЛЬ БОТУЛИЗМА

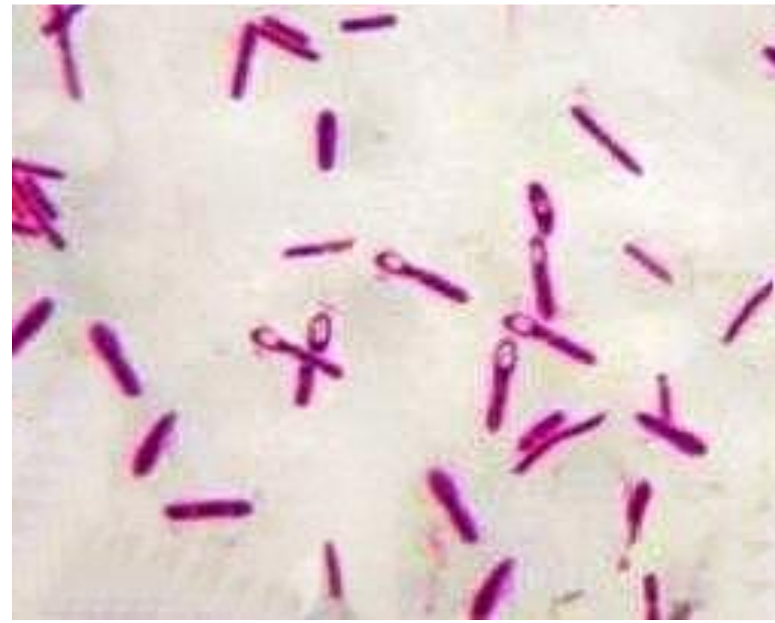




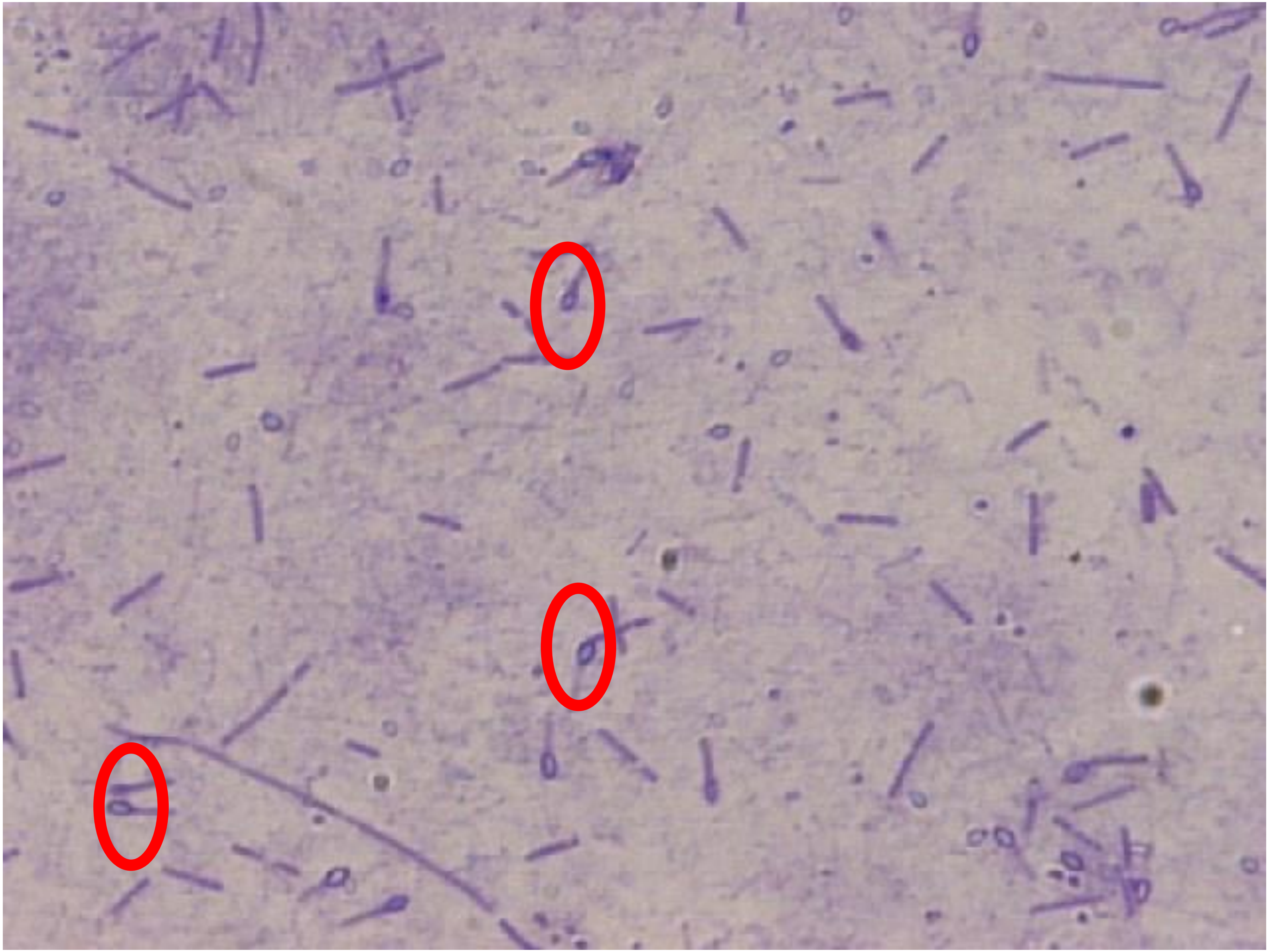
Clostridium botulinum

Свойства *Clostridium botulinum*

- Гр+ палочка с овальной, субтерминально расположенной, спорой. Похожа на теннисную ракетку. Подвижны(перитрихи)
- Строгий анаэроб. На плотных средах растет в виде R-форм колоний, на кровяных - с зоной гемолиза. Не размножается в продуктах с кислой реакцией (pH 3,0-4,0) и при концентрации NaCl выше 10%.
- Ферментативная активность непостоянна и в идентификации не

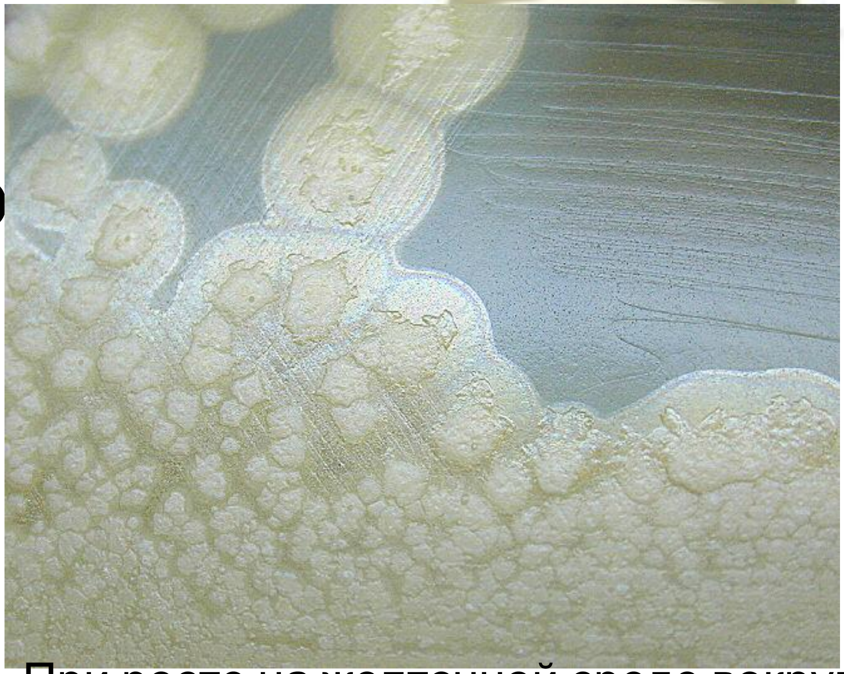


Мазок из чистой культуры Cl.botulinum
окраска по Граму (видны неокрашенные субтерминальные споры



Культуральные свойства

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



При росте на желточной среде вокруг колоний виден лецитиназный венчик

По антигенной структуре образуемых токсинов возбудитель ботулизма подразделяется на 8 сероваров - A, B, C1, C2, D, E, F, G.

Каждый из этих токсинов может быть нейтрализован только гомологичной сывороткой.

Для человека патогенны серовары A, B, E и F, но самым сильнодействующим является тип A.

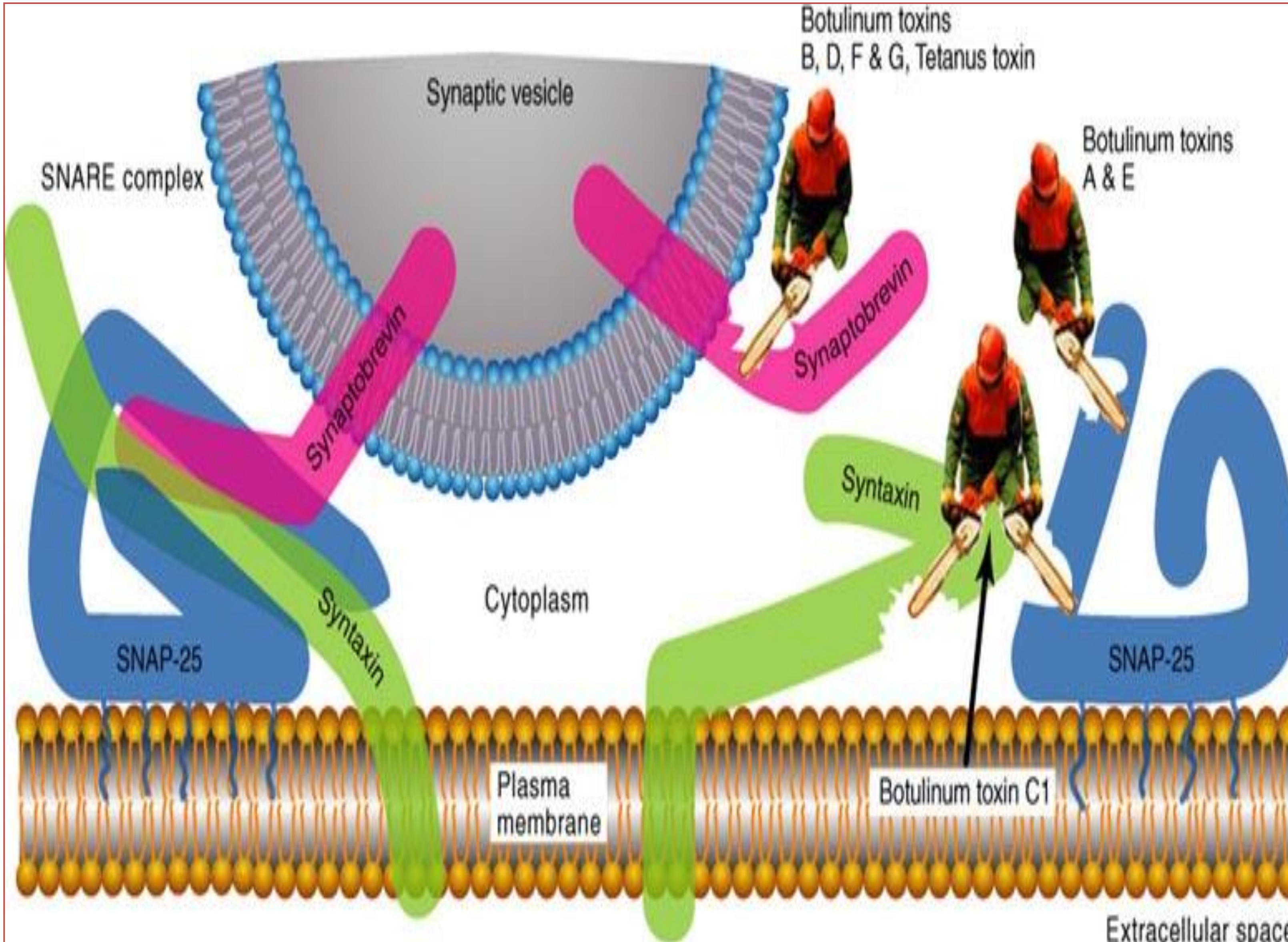
В Европе наиболее распространены серовары A, B, E.

Ботулинический токсин термоустойчив – при кипячении разрушается через 10 минут,
не инактивируется пищеварительными ферментами и кислым содержимым желудка.

Мишенью действия ботулинического токсина являются интегральные синаптические белки.

Механизм действия заключается в блокировании процесса холинергической передачи процесса возбуждения в синапсах (в результате блокирования слияния синаптических пузырьков с мембраной).

При этом избирательно поражаются α-моторные нейроны передних рогов спинного мозга, что обуславливает характерные параличи мышц.


Botulinum toxins
B, D, F & G, Tetanus toxin
Synaptic vesicle
Botulinum toxins
A & E
SNARE complex
Synaptobrevin
Synaptobrevin
Syntaxin
Cytoplasm
Syntaxin
SNAP-25
SNAP-25
Plasma
membrane
Botulinum toxin C1
Extracellular space

Патогенез ботулизма

Ботулизм - тяжелое, часто (до 60% случаев) смертельное пищевое отравление:

попадание в желудочно-кишечный тракт:

- **возбудитель ⇨ продукция токсина**
- **только токсин**

⇩

токсинемия

⇩

проникновение в нейроны (эндоцитоз)

⇩

блокада передачи сигнала через нервно-мышечные синапсы

⇩

паралич мышц (глазодвигательных, гортани, глотки, дыхательных)

⇩

Смерть (паралич сердца, остановка дыхания)

Связь с приемом пищи

Клинические симптомы проявляются спустя короткий инкубационный период (обычно 2-12 часов) после приема, как правило, консервов домашнего приготовления (овощных, грибных, рыбных, мясных).

Признаки отравления

- Развиваются явления общей интоксикации и первые признаки поражения органов зрения - расстройство аккомодации, двоение в глазах, поражение глазных мышц, расширение зрачков (вследствие первоочередного поражение токсином бульбарных нервных центров).
- Вместе с этим затрудняется глотание, появляются афония, головная боль, головокружение, иногда рвота

Микробиологическая диагностика ботулизма

патологический материал

токсин

- выявление
- типирование

выделение чистой культуры

serum

выявление антитоксичес-ких антител

Выявление токсина и определение его типа в крови, промывных водах желудка, остатках пищи, секционном материале (печени, кишечнике, желудке):

- биопроба(с РН на лаб. животных)
- серологич. методы (ИФА, РНГА, ИЭФ)

Выделение культуры (по общему для клостридий алгоритму) из того же патологического материала (кроме крови).

Антитоксические антитела в крови пациента можно выявлять с помощью РНГА.

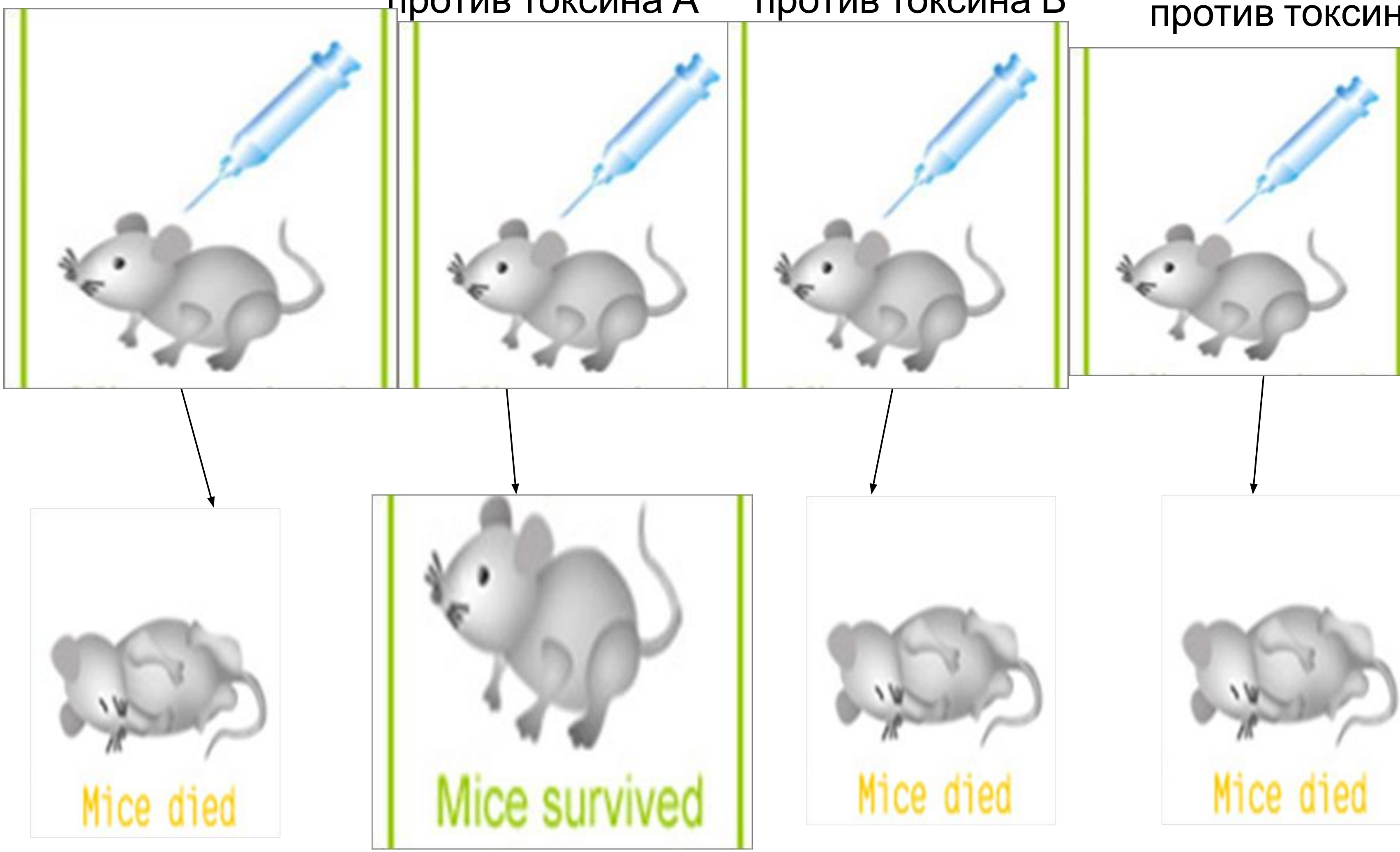
Биологический метод (реакция нейтрализации токсина *in vivo)*

Контрольная группа (Вводят исслед.материал)

Исслед. материал+ ат против токсина А

Исслед. материал+ ат против токсина В

Исслед. материал+ ат против токсина Е



Серотерапия ботулизма

При первых же признаках ботулизма необходимо ввести противоботулиническую сыворотку.

Чем раньше это сделать, тем больше шансов спасти больного (смертность при ботулизме достигает 60%).

До установления серотипа токсина вводят поливалентную сыворотку (против токсинов A, B, E; в странах с превалированием иных биоваров возбудителя применяют иной набор).

Количество вводимой сыворотки и необходимость её повторного введения, в том числе - после определения типа токсина - моновалентной сыворотки, определяет клиницист.

Та же антитоксическая сыворотка может вводиться с профилактической целью лицам, употреблявшим пищу, явившуюся источником ботулизма, но еще не заболевшим.

ВОЗБУДИТЕЛЬ СТОЛБНЯКА

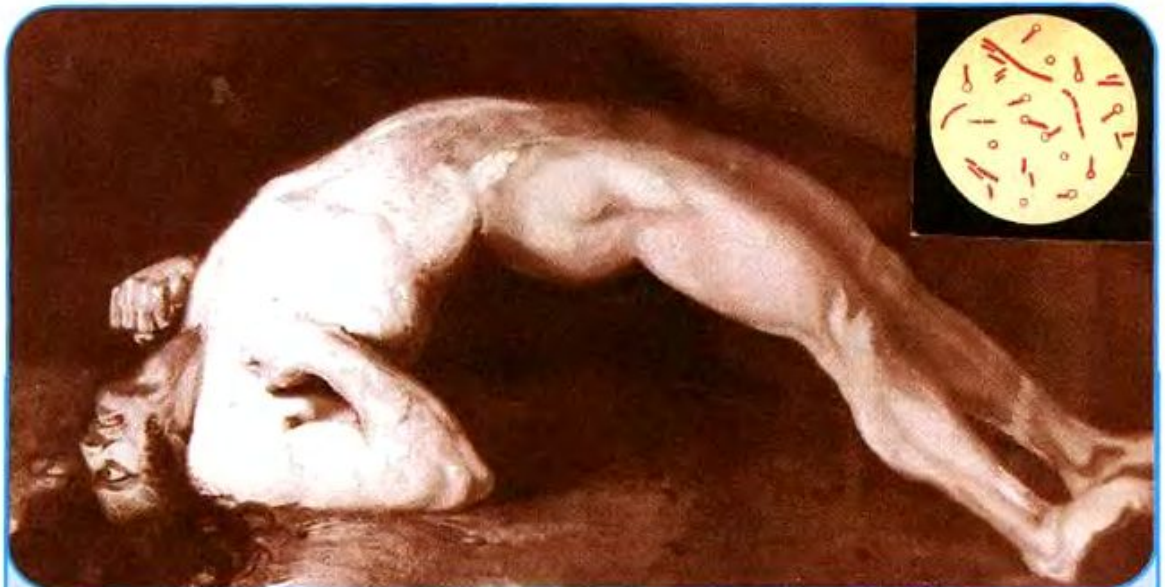


Рис. 3.79. Опистотонус

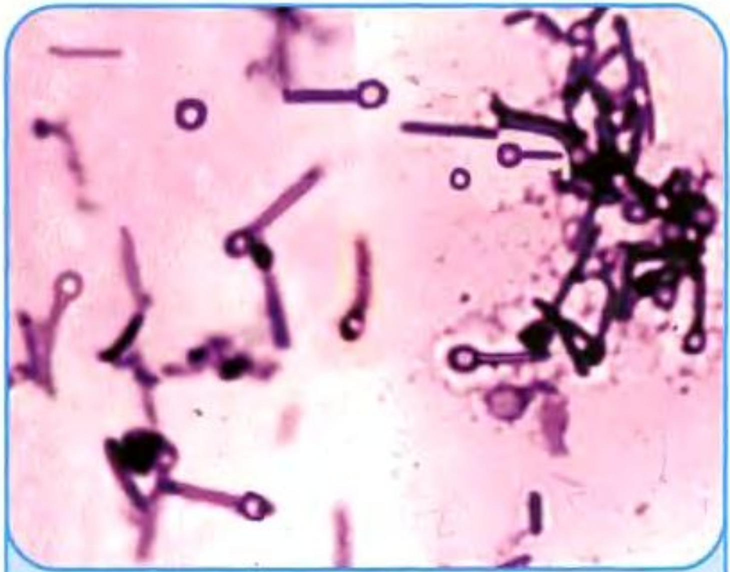
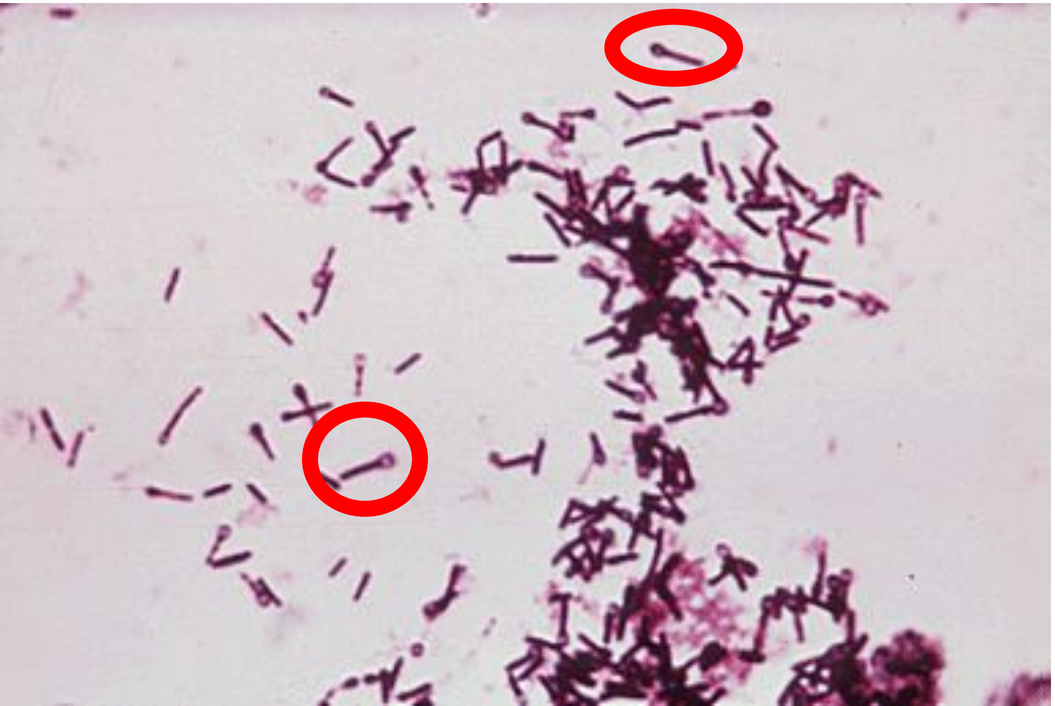


Рис. 3.80. Мазок из чистой культуры C. tetani. Окраска по Граму

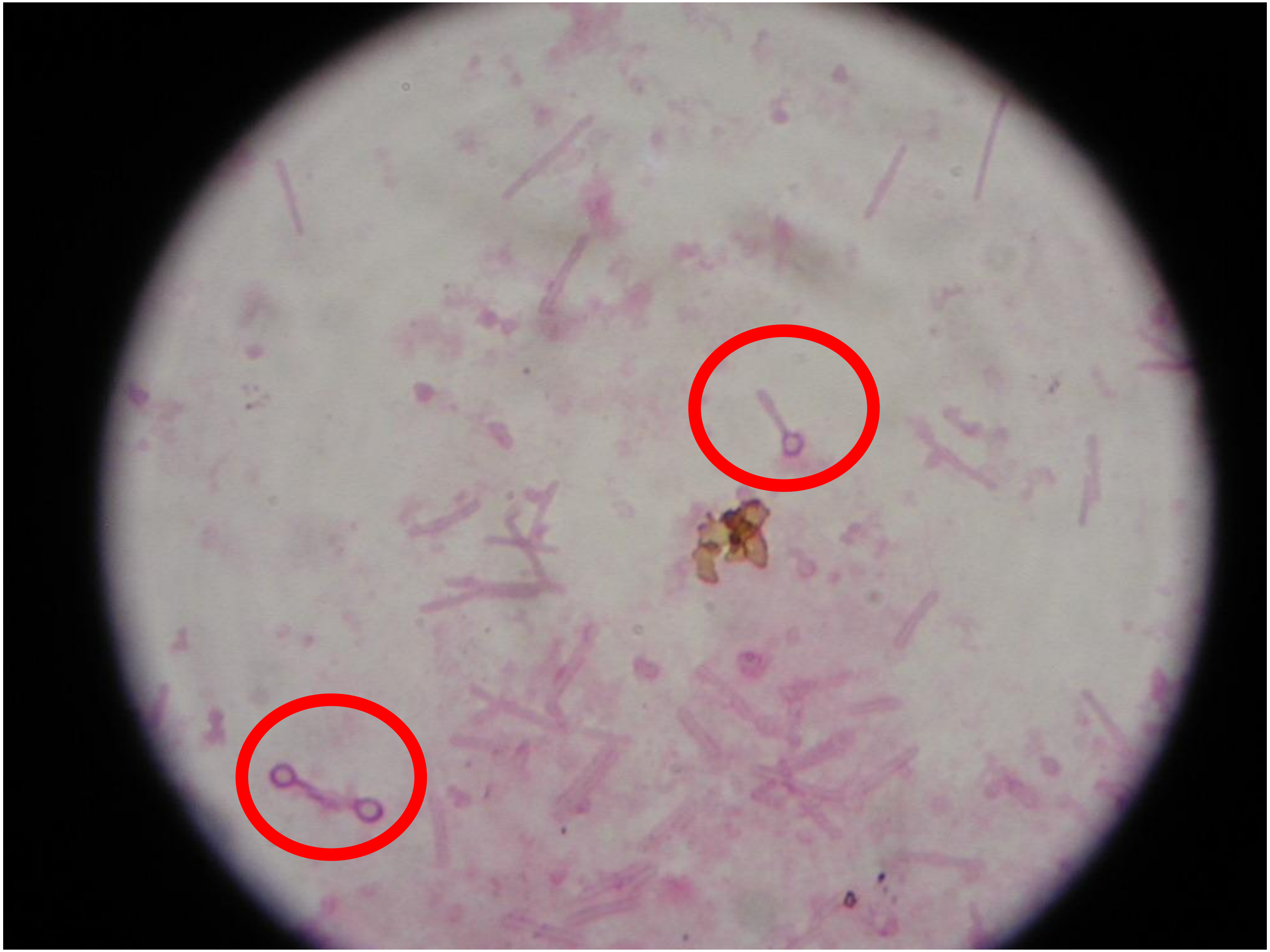
Общая характеристика

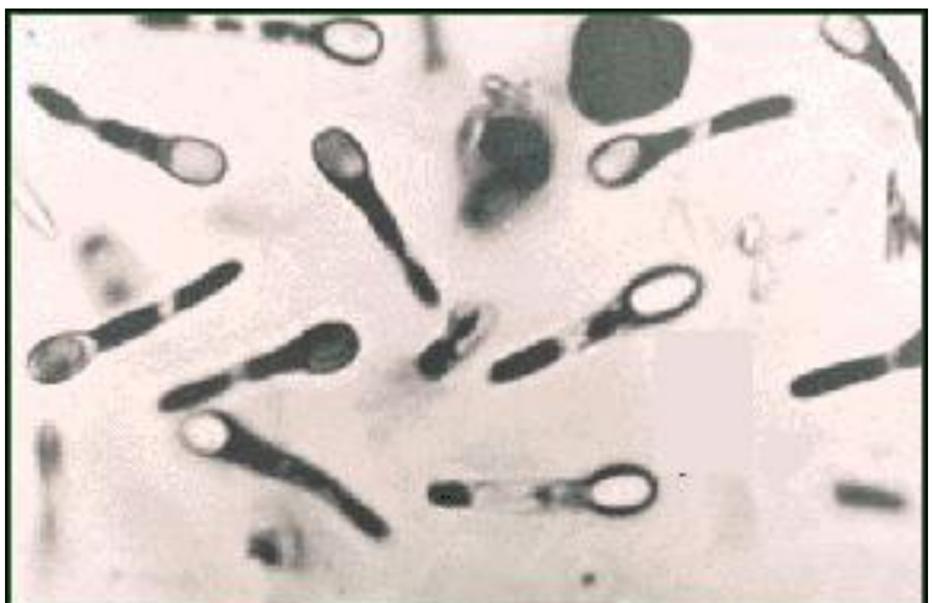
- Из-за круглой, терминально расположенной споры имеют вид барабанной палочки
- Очень подвижны (перитрихи)



- Строгие анаэробы.
- Скорость роста: 2 - 4 дня.
- Образуют R-формы колоний, часто с отростками, напоминающими паучков, на кровяном агаре - как правило, с зоной гемолиза.
- Культура издает неприятный запах выгребной ямы.
- Биохимически инертны.

Рост на железо-сульфитном агаре





Споры столбнячной палочки отличает высокая устойчивость к факторам внешней среды - они выживают до 10 часов в 1% растворе сулемы и 5% растворе фенола, а также выдерживают кипячение до 1 часа

Столбнячный экзотоксин

Белок, состоящий из двух фракций:

- Освобождающейся при аутолизе бактерий (тетаноспазмин) - вызывает поражение нервной ткани
- Продуцируемой клеткой во внешнюю среду (тетанолизин) - лизирует эритроциты, обладает кардиотоксическим и летальным свойствами

Столбняк вызывает тетаноспазмин

Патогенез столбняка

- Столбняк повсеместно вызывает спорадическую заболеваемость.
- Возбудитель проникает в организм через поврежденные кожу и слизистые оболочки при ранениях (боевых, производственных, бытовых), ожогах, отморожениях, через операционные раны или травмированные родовые пути. Иногда рана бывает настолько ничтожна, что остается необнаруженной (криптогенный столбняк).
- Столбнячные палочки размножаются в ране и выделяют токсины. Токсины всасываются в кровь, достигают нервной ткани и вызывают её поражение.
- У человека, вне зависимости от места проникновения и размножения микроорганизма, первыми симптомами являются тонические сокращения жевательных и мимических мышц, а затем - тоническое напряжение и спазм мышц затылка, спины. В тяжелых случаях тело человека во время приступа принимает вид выгнутой назад дуги («эпистотонус»).

Тетаноспазмин действует дистанционно
(т.е. бактерии редко покидают пределы раны)

⇩

фиксируется на поверхности отростков нервных клеток
(в области нервно-мышечных синапсов)

⇩

проникает в них
(путем эндоцитоза)

⇩

попадает в ЦНС
(посредством ретроградного аксонного транспорта)

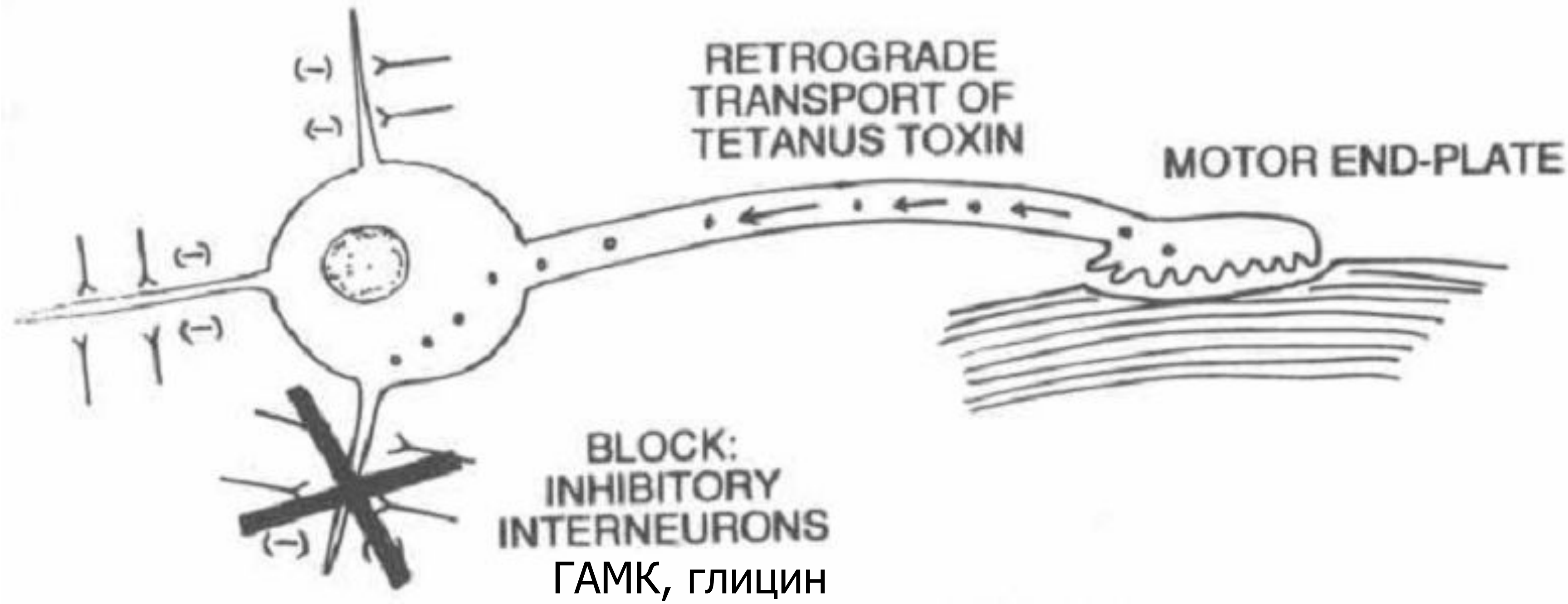
⇩

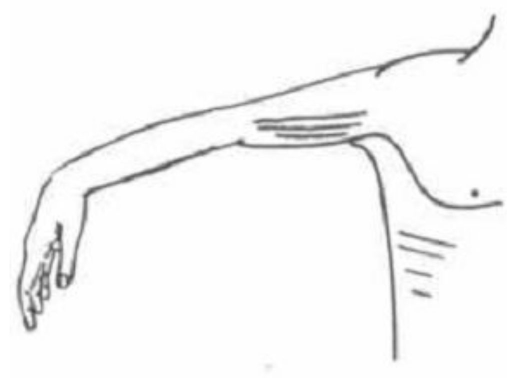
накапливается в основном в двигательных зонах спинного и головного мозга
(за исключением переднего мозга и мозжечка)

⇩

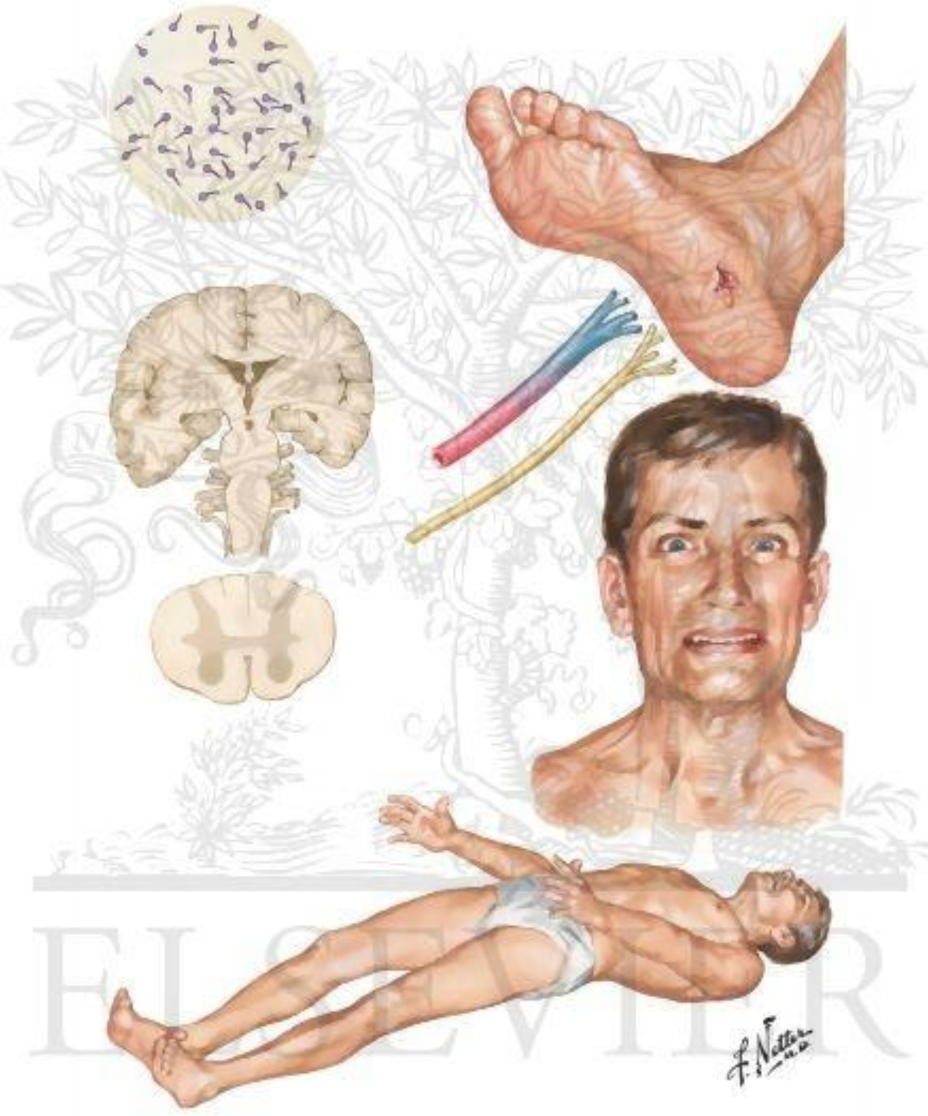
подавляет высвобождение тормозных медиаторов в синапсах

Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные судорожно-спастические сокращения мышц

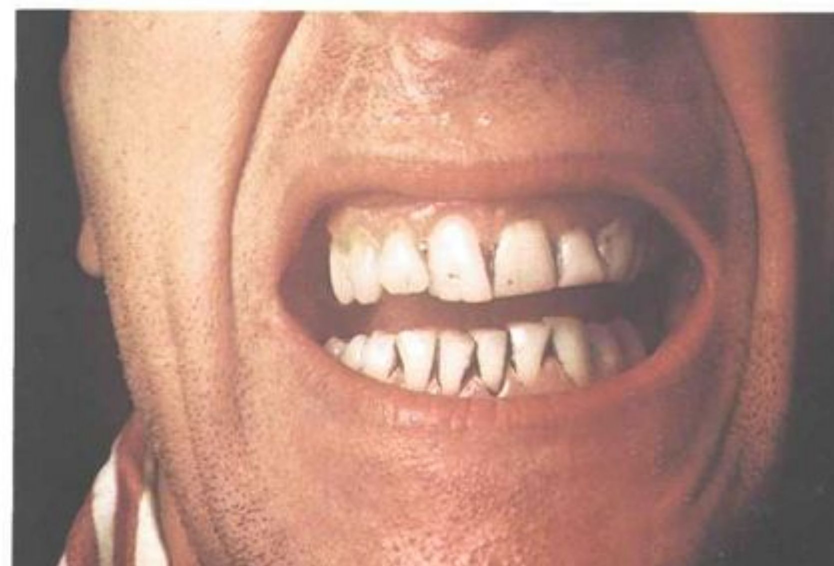



BOTULISM


TETANUS



163



Тризм – сокращение жевательных мышц, трудно открыть рот

165. Сардоническая улыбка. При тонических судорогах мимических мышц углы рта опускаются, открывая плотно сжатые зубы, что придает лицу характерное выражение.
166. Опистотонус у ребенка. Столбнячный токсин обуславливает непрерывную двигательную стимуляцию мышц. Ригидность мышц — типичный симптом, сохраняющийся на всем протяжении болезни. При легкой форме заболевания ригидность мышц не переходит в судороги.

Если болезнь прогрессирует, появляются тонические судороги нарастающей силы и частоты. Приступы характеризуются внезапным развитием полной скованности туловища и конечностей в результате сокращения всех групп мышц (опистотонус). При этом челюсти плотно сжаты, спина выгнута, конечности, как правило, вытянуты. Судороги крайне мучительны, больной остается в полном сознании и со страхом ждет следующего приступа.
167. Столбняк новорожденных. При использовании нестерильных инструментов и перевязочного материала может произойти заражение через пупочную ранку. К ранним признакам болезни относится затрудненное сосание, в дальнейшем появляются ригидность мышц и тонические судороги. Летальность превышает 50%.

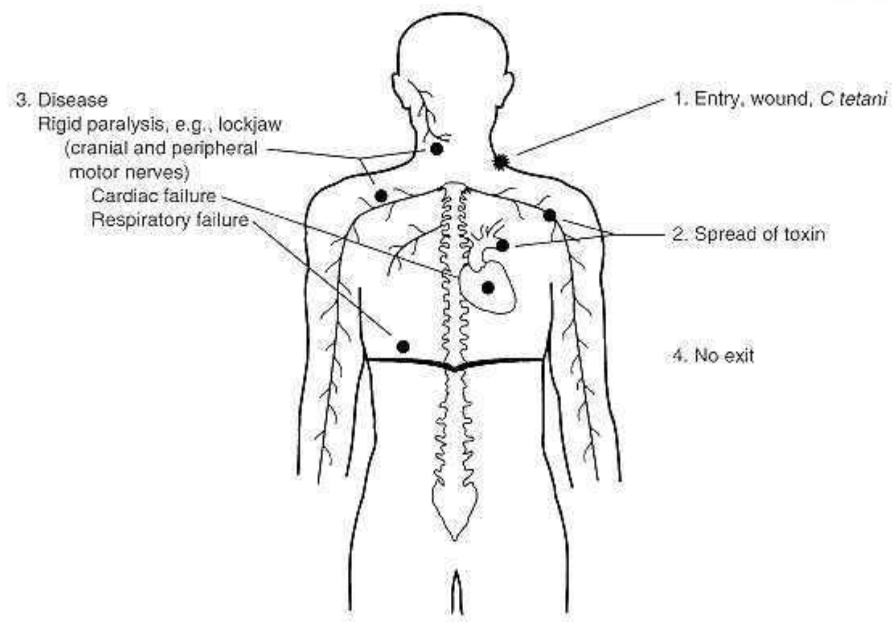
165

166

167

Смерть наступает от асфиксии и сердечной недостаточности при полном сохранении сознания

Летальность при столбняке высокая - ежегодно в мире погибают от него свыше 100 000 человек. Особенно опасен послеоперационный, послеродовый и послеабортный столбняк, так как при этих формах нередко наблюдается молниеносное течение заболевания, при котором смерть наступает от паралича дыхательного центра или сердечной недостаточности раньше, чем успевают развиться характерные симптомы болезни. Летальность при этих формах столбняка достигает



Столбняк новорожденных

- Возникает вследствие заражение через пупочный канатик.
- Ребенок из-за спазма жевательной мускулатуры, отказывается от груди, потом у него развивается характерная «поза лягушонка».
- Летальность при этой форме столбняка составляет 90% (наиболее часто дети гибнут на 6-8 день жизни).
- В 80-х годах XX века от столбняка новорожденных ежегодно умирало более 1 000 000 детей.

Иммунитет

- Видовой иммунитет к столбняку у человека отсутствует.
- Данные о постинфекционном иммунитете противоречивы (токсигенная доза ниже иммуногенной).
- Поствакцинальный антитоксический иммунитет длительный (до 10 лет) и напряженный.

Микробиологическая диагностика

- **Лишь подтверждает диагноз, выставленный на основании клинической симптоматики. Исследование на наличие столбнячной палочки проводят:**
  - при проверке стерильности перевязочного, шовного материала и препаратов, предназначенных для парентерального введения
  - в почве – в рамках мер по противоэпидемическому надзору.
- Патологический материал используют одновременно:
  - для выделения культуры (аналогично другим клостридиям)
  - и для биопробы: введения белой мыши, чаще всего – в корень хвоста.
- При наличии в патологическом материале столбнячных палочек у мыши развивается «восходящий» столбняк (судороги начинаются с мышц хвоста и задних лап). Животное, которому был введен патологический материал в смеси с антистолбнячной сывороткой, остается здоровым.

Иммунопрофилактика

Пассивная

осуществляется гетерологичной противостолбнячной сывороткой (очень анафилактогенна) или гомологичным гаммаглобулином.

Активная

осуществляется столбнячным анатоксином - 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

При столбняке осуществляются:

- плановая профилактическая иммунизация
- экстренная иммунизация.

у привитых: поддерживающая доза анатоксина

у не привитых: полная доза анатоксина + человеческий противостолбнячный гаммаглобулин (при его отсутствии заменяется гетерологичной противостолбнячной сывороткой, введение которой предваряется внутрикожной пробой)

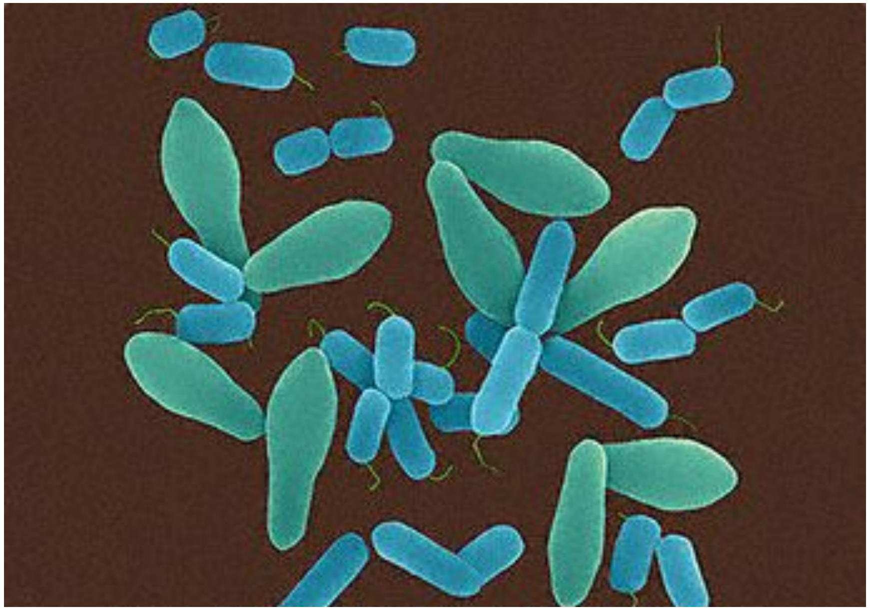
проводится вакцинами

- АКДС
- АДС

Терапия столбняка

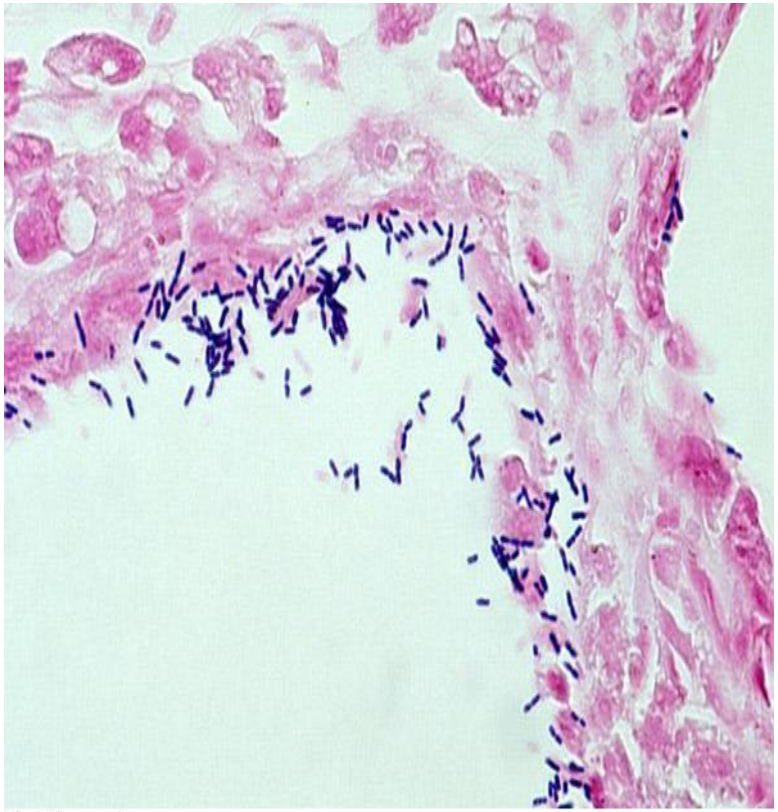
- серотерапия (антитоксическая сыворотка или гаммаглобулин)
- антибиотикотерапия (пенициллины, цефалоспорины)

Общая характеристика возбудителей анаэробной газовой инфекции
(анаэробной раневой инфекции, газовой гангрены)

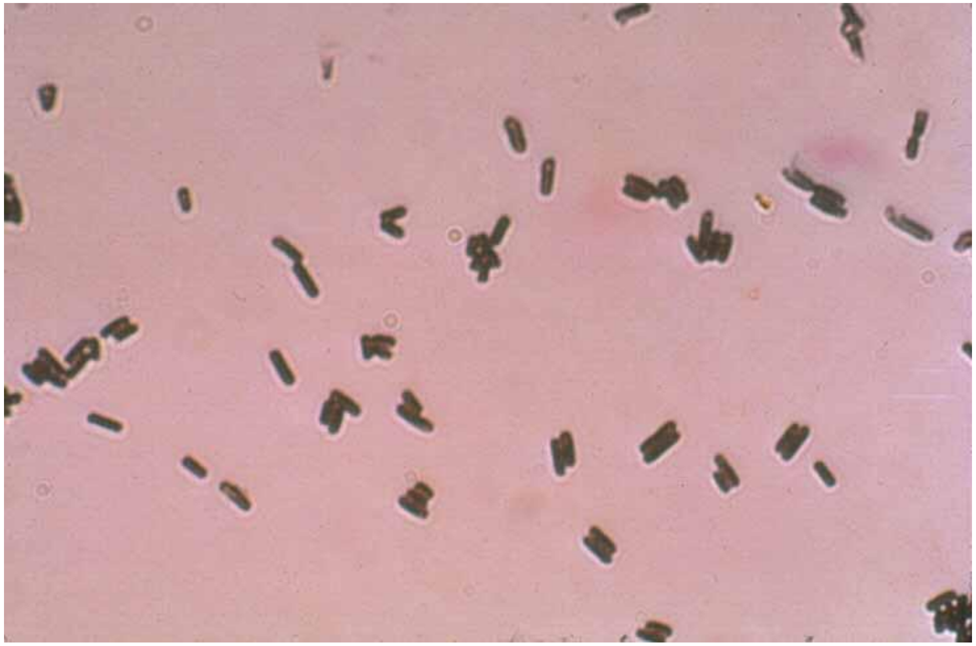


- C. perfringens A
- C. novyi (oedematiens)
- C. histolyticum
- C. septicum

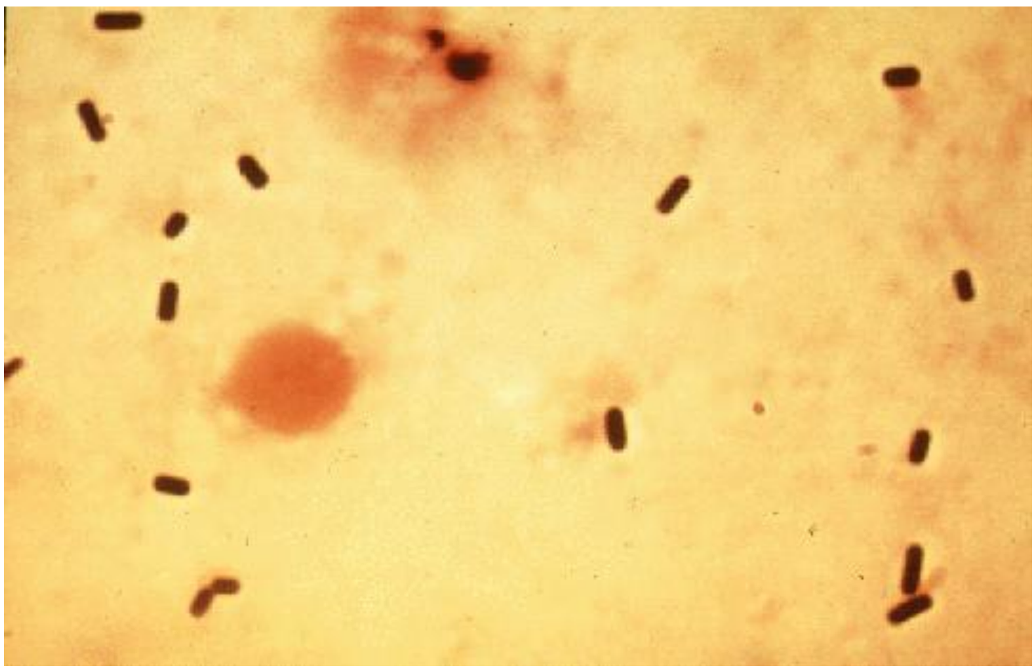
Крупные палочки с субтерминально расположенными спорами. Перитрихи (только C. perfringens неподвижна, она же – единственная капсульная клостридия)

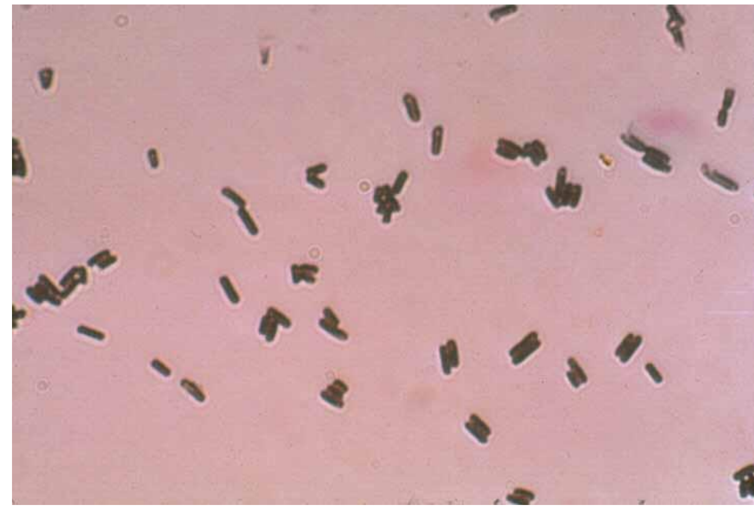


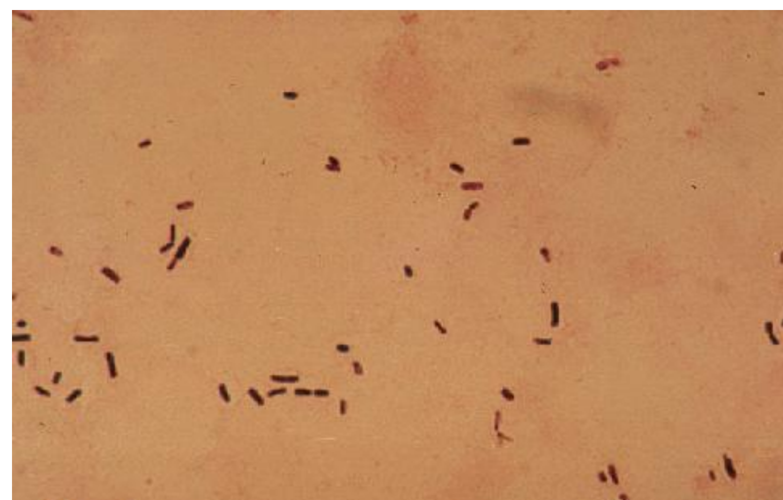
Clostridium perfringens в органе.



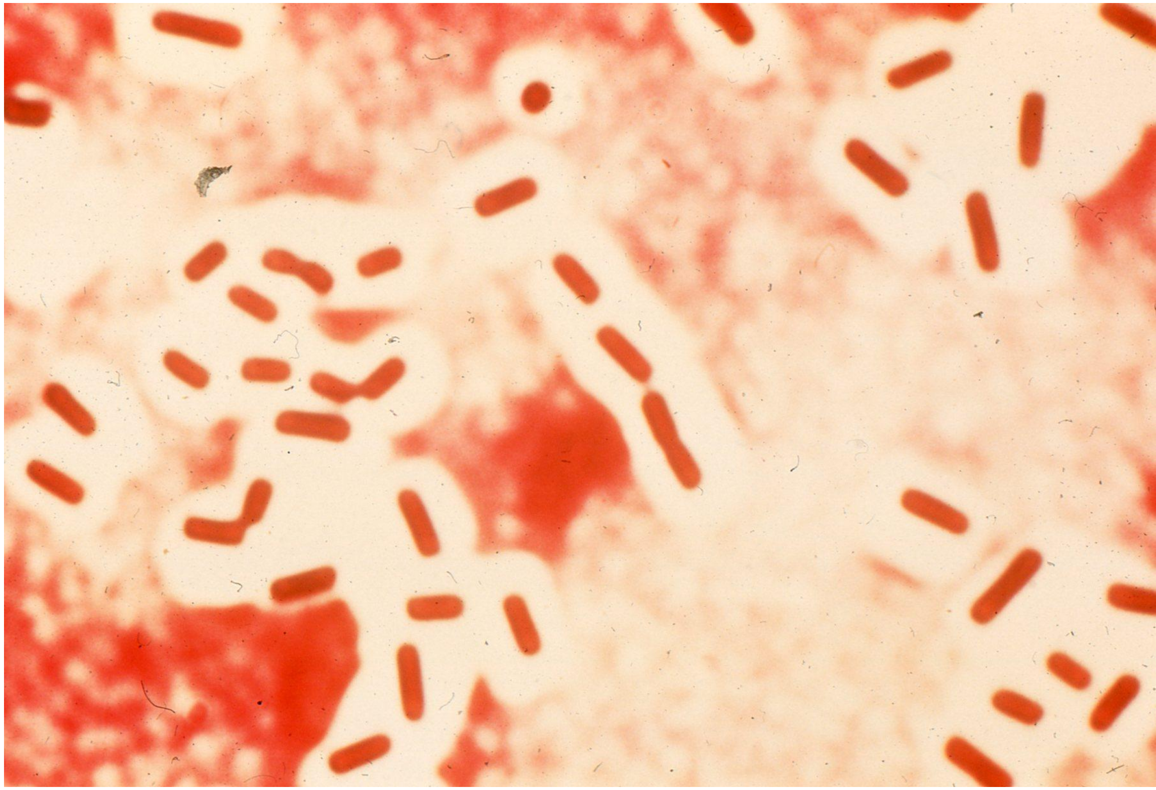
C.perfringens
не имеет жгутиков и образует капсулу







C.perfringens (чистая культура) окраска по Граму



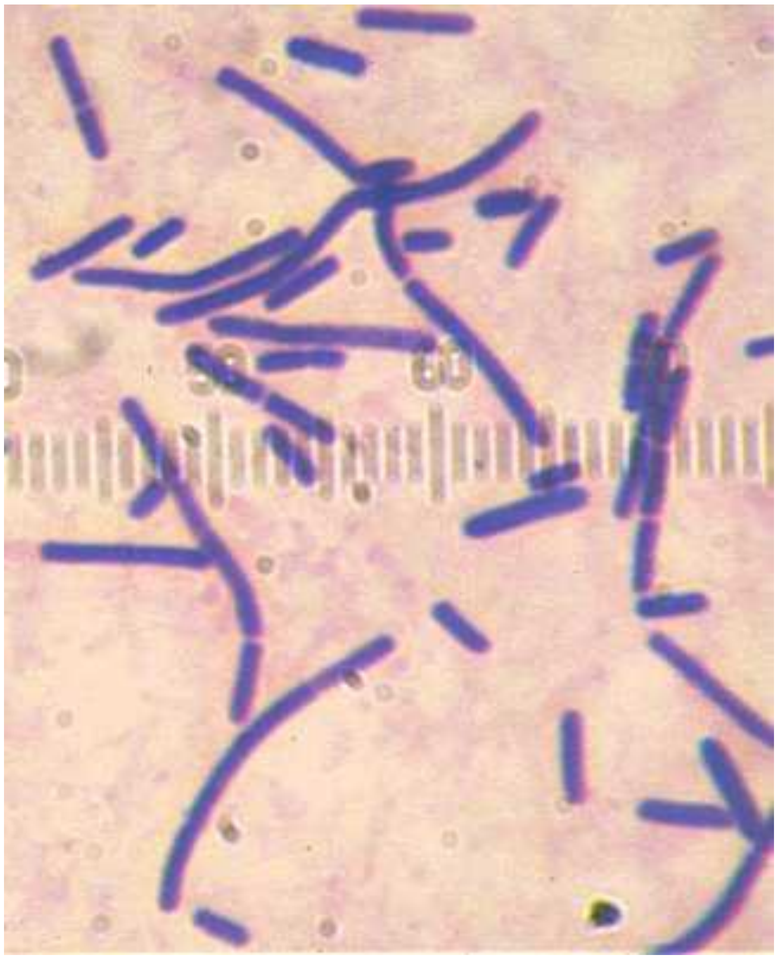
C.perfringens – окраска по Бурри-Гинсу (вокруг красных палочек видна бесцветная капсула на фоне туши)

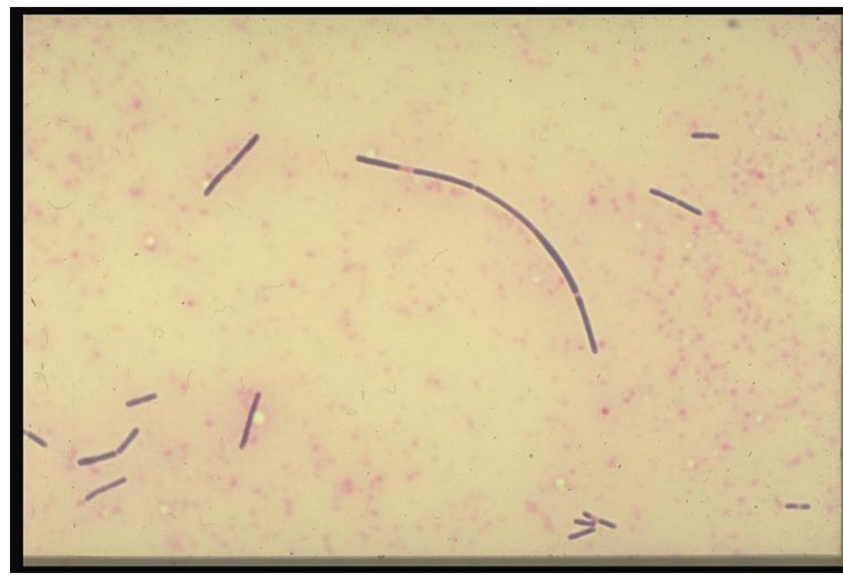
C.novyi

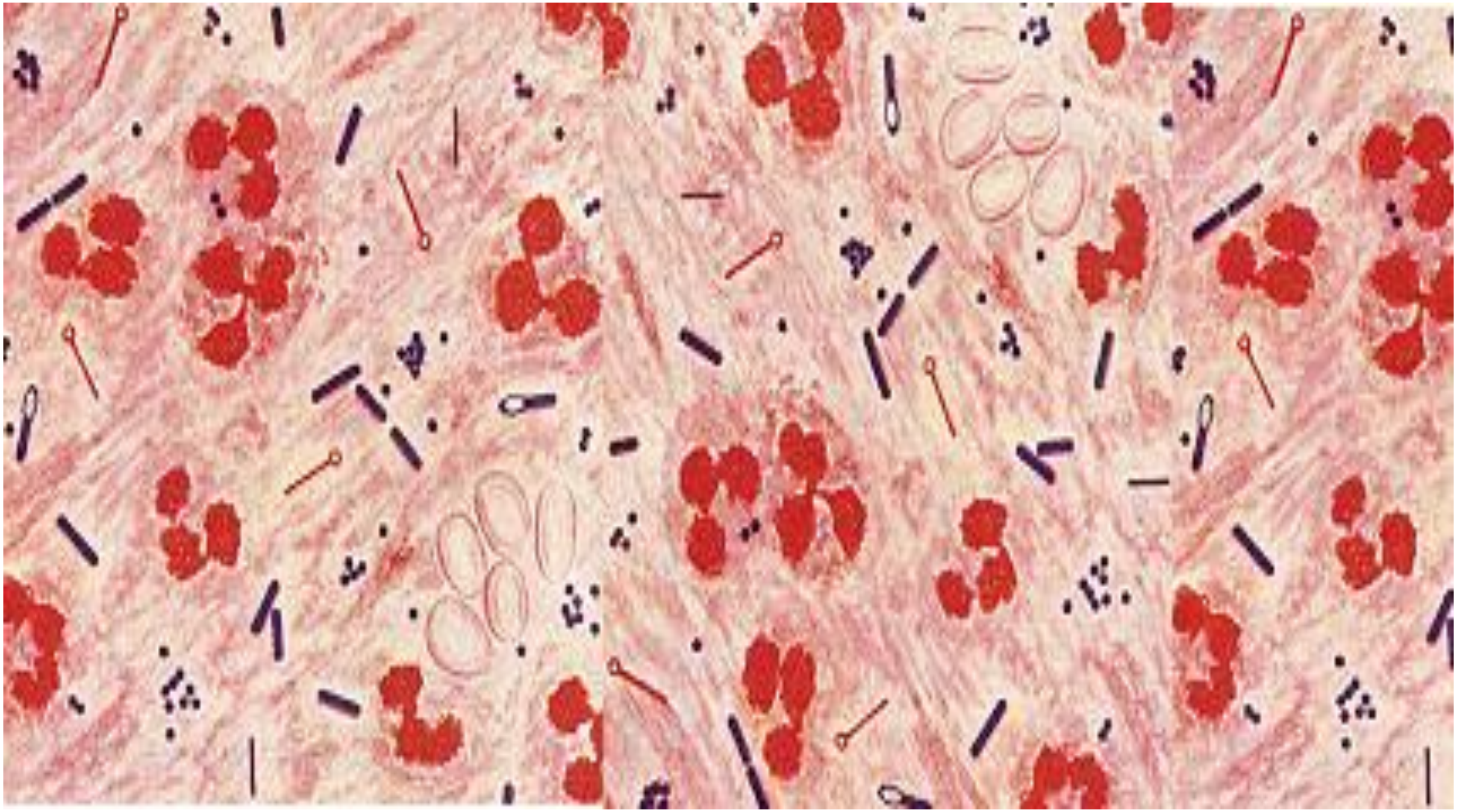
самые крупные, прямые или слегка изогнутые палочки

C.septicum

полиморфные палочки, могут образовывать нити







Мазок изгноя при смешанной анаэробной инфекции. Видны как минимум 3 разные клостридии.

C.histolyticum - более мелкие палочки

- C.perfringens и C.histolyticum – аэротолерантные анаэробы
- C.novyi и C.septicum - строгие анаэробы
- Ферментативная активность различна и используется для дифференциации видов
- Наибольшей биохимической активностью и выраженным газообразованием обладает C.perfringens

Таблица 16.30. Дифференциальные признаки клостридий газовой гангрены

Признак	Clostridium perfringens	Clostridium novyi	Clostridium septicum	Clostridium histolyticum	Clostridium sporogenes	Clostridium bifermentans	Clostridium sordellii	Clostridium fallax
Подвижность	–	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация:								
• Глюкоза	+	+	+	±	+	+	+	+
• Левулеза	+	±	+	±	–	–	+	+
• Лактоза	+	±	+	±	–	–	–	±
• Сахароза	+	±	±	±	–	–	+	+
• Галактоза	+	±	+	±	+	–	–	±
• Мальтоза	+	±	+	±	+	–	+	+
• Инулин	–	–	–	±	–	–	–	±
• Маннит	±	±	±	±	–	–	±	–
• Дульцит	–	–	–	–	–	–	–	–
• Салицин	–	±	+	±	–	+	–	±
• Глицерин	±	+	±	±	–	–	+	–
• Крахмал	+	–	–	–	–	–	–	–
Свернутая сыворотка	±	–	–	+	+	+	+	–
Гемолиз	±	+	+	+	+	+	+	±
Лакмусовое молоко	КГ, сгусток через 3–16 ч	Свертывание через несколько суток	То же	Пептонизация	То же	То же	То же	Медленная пептонизация
Агар с бензидином	–	Почернение	–	–	–	–	–	–

Cl.perfringens культуральные свойства

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

Рост на железо-сульфитном агаре

ТОКСИНЫ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АНАЭРОБНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ

НА ПРИМЕРЕ ОСНОВНЫХ БЕЛКОВЫХ ТОКСИНОВ, ВЫРАБАТЫВАЕМЫХ

C. PERFRINGENS

Таблица 3.33. Факторы вирулентности **Clostridium perfringens**

Состояние и факторы вирулентности		Биологический эффект
Токсины (главные)	альфа-токсин (лецитиназа)	Расщепляет лецитин мембран; увеличивает сосудистую проницаемость, разрушает эритроциты; некротизирущая активность
	бета-токсин	Некротизирующая активность; индукция артериальной гипертензии в результате образования катехоламинов
	эпсилон-токсин	Усиливает сосудистую проницаемость ЖКТ
	йота-токсин	Некротизирующая активность и усиление сосудистой проницаемости
	энтеротоксин	Нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника
Токсины (минорные)	дельта-токсин	Гемолиз
	тэта-токсин	Гемолиз, цитолиз
	каппа-токсин	Коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	лямбда-токсин	Протеаза
	мю-токсин	Гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	ни-токсин	Дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность
	нейраминидаза	Повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах

α-токсин (лецитиназа С)

основной продуцент – тип А

- оказывает дермонекротическое действие (как результат вызываемого им гидролиза мембранных фосфолипидов)
- является гемолизином
- оказывает летальное действие (т.е. вызывает гибель лабораторного животного при внутривенном ему введении)

β-токсин

продуцируется типом С

- вызывает некроз тканей (и как следствие – развитие некротического энтерита)

κ-токсин (коллагеназа и желатиназа)

продуцируется типами А и С

- разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани
- летальное действие
- некротизирующее действие

μ-токсин (гиалуронидаза)

- повышает проницаемость тканей

ν-токсин (ДНК-аза)

- нарушает синтез белка

Энтеротоксин

продуцируется типами А и С при споруляции в толстой кишке

- вызывает диарею (вследствие дилатации и повышения проницаемости капилляров)
- вызывает рвоту
- оказывает летальное действие

АНАЭРОБНАЯ РАНЕВАЯ ИНФЕКЦИЯ

ГАЗОВАЯ ГАНГРЕНА

ПАТОГЕНЕЗ

клостридии в ране

⇩

размножение

⇩

выделение экзотоксинов

⇩

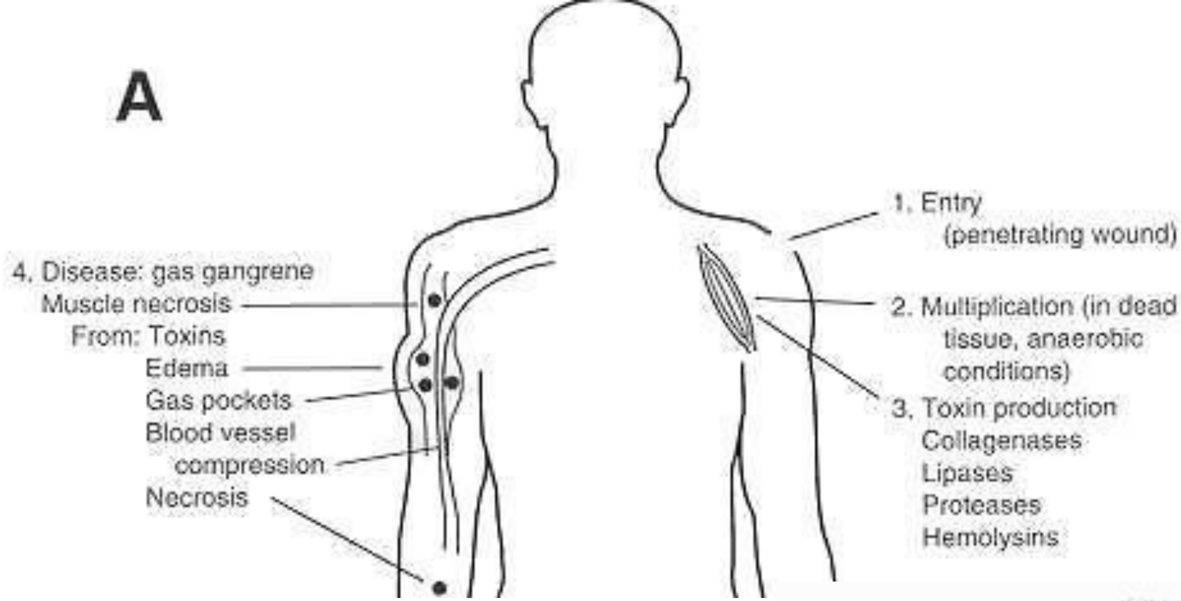
некроз+распад
/+отёк+газ/
(без воспаления)

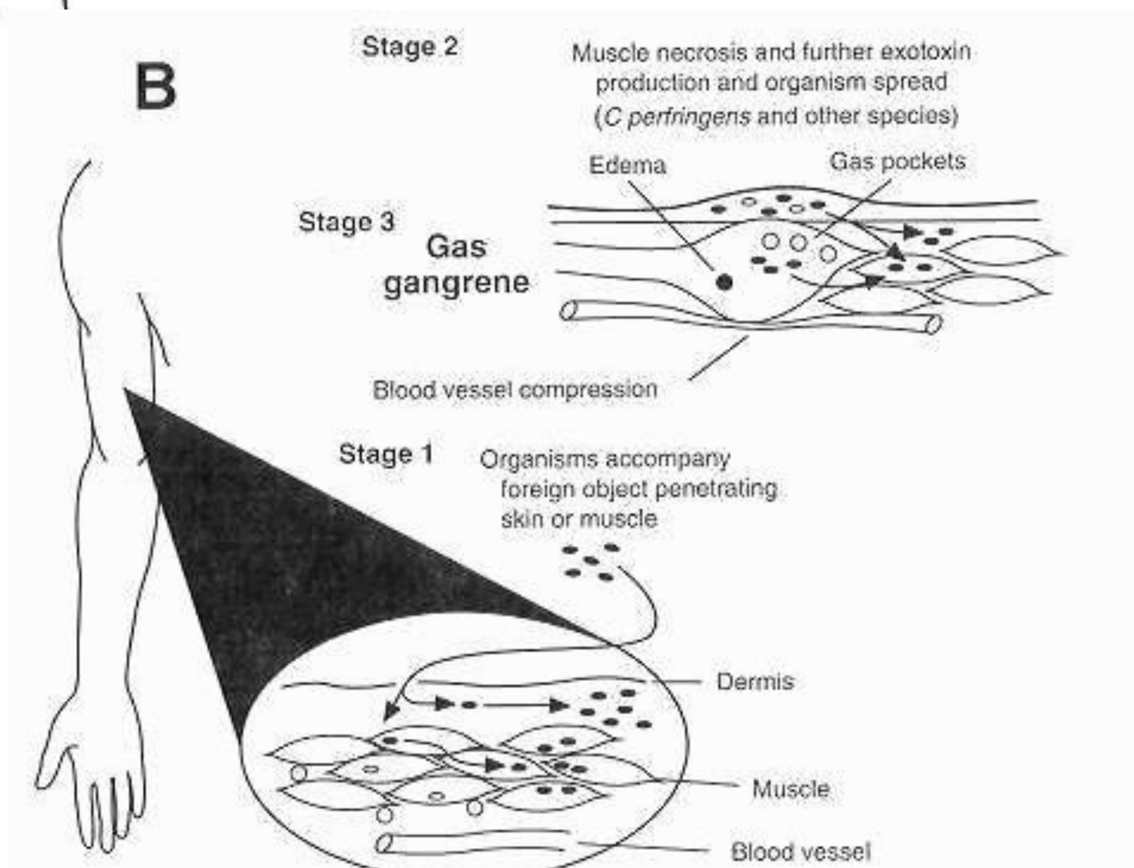
⇩

интоксикация

Клиника

- 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 , приобретает характерный сладковатый запах .
- 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 и рыхлыми
- Крепитация (похрустывание при пальпации – результат обильного газообразования) нередко определяется по всей поверхности тела.
- Сознание длительное время остается ясным, несмотря на артериальную гипотонию и почечную недостаточность . Спутанность сознания и кома наступают только перед





Течение болезни усугубляет сопутствующая, в том числе гноеродная, микрофлора (стафилококки, протеи, кишечная палочка, бактероиды и др.)

Клинические проявления газовой гангрены


Микробиологическая диагностика газовой гангрены

патологический материал
(ткань раны, экссудат раны, кровь)

чистая культура

- среда Цейсслера
- среда Вильсона-Блера
- сах. МПА

идентифика-ция

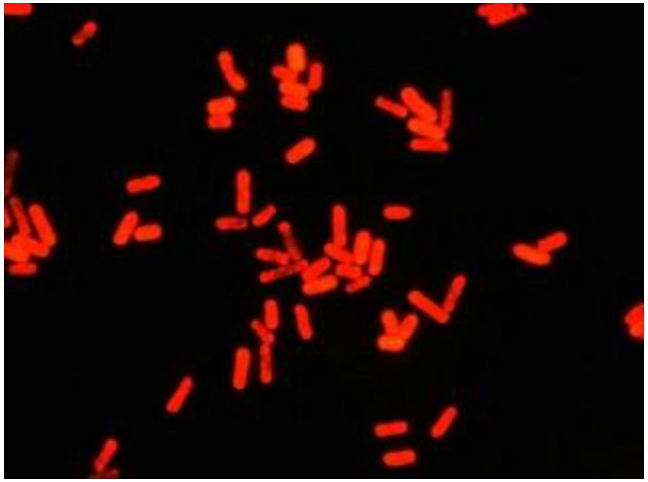
- биологические св-ва
- РН на лаб. животных

токсин
(выявление и идентфикация)

- РН на лабораторных животных

специфический антиген

- РИФ



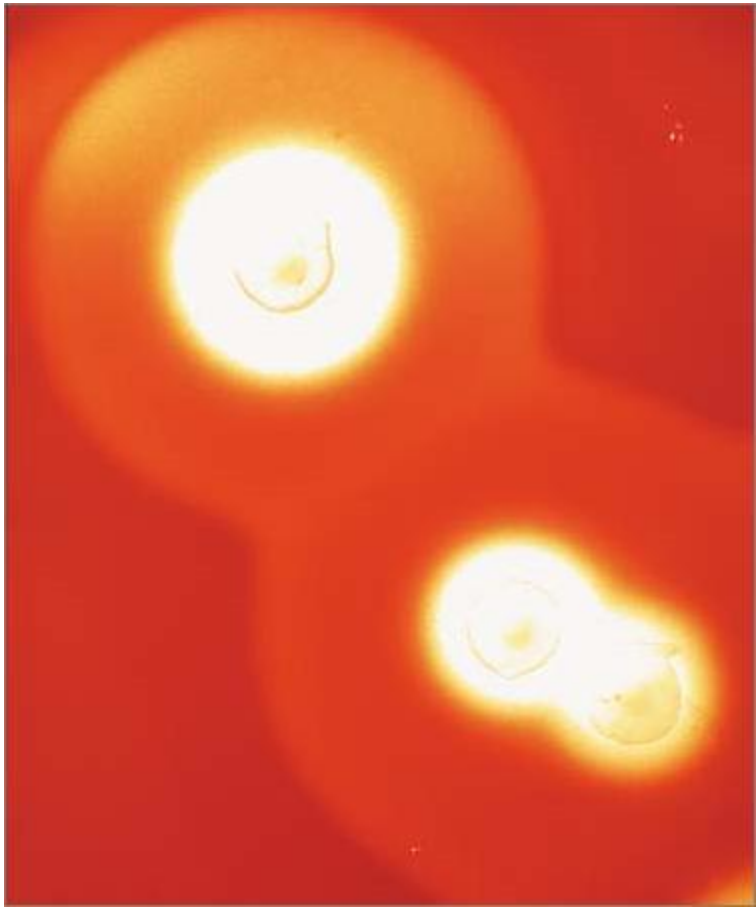
Лабораторная диагностика

2. Бактериологический метод

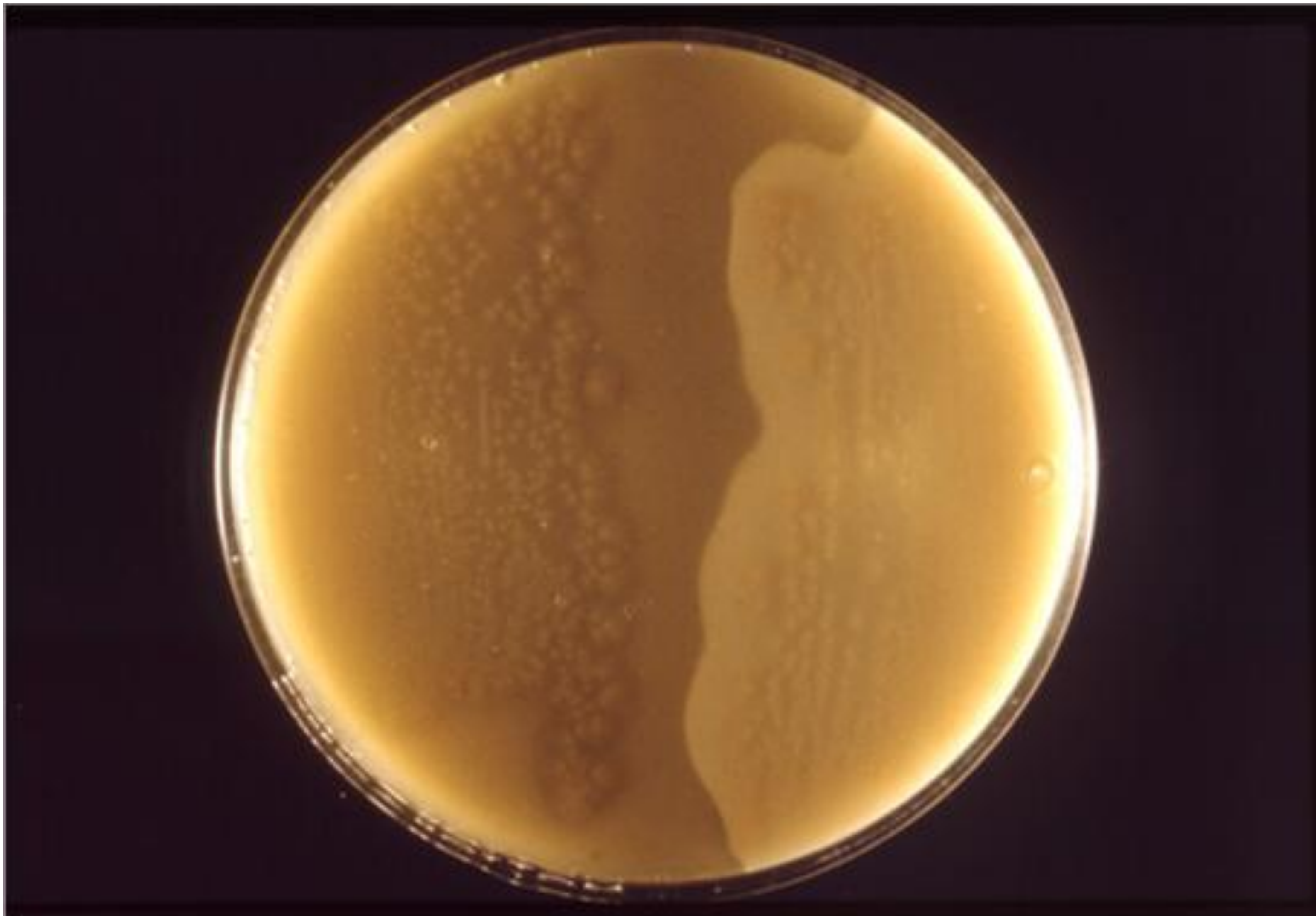
1 этап. Посев на элективные питательные среды (предварительное прогревание уничтожит неспоровые бактерии)

2 этап. Макро- и микроскопическое изучение колоний.

3 этап. Биохимическая идентификация на системах API-20A



Двойная зона гемолиза при росте Clostridium perfringens на Columbia agar



Определение лецитиназной активности у Clostridium perfringens.

Иммунопрофилактика и серотерапия газовой гангрены

Анатоксины

- перфрингенс
- эдематиенс

Лечебно-профилактические антитоксические сыворотки

- антиперфрингенс
- антиэдематиенс
- антисептикум

Clostridium difficile

Нормальный обитатель кишечника

Отличается множественной устойчивостью к антибиотикам, поэтому усиленно размножается при дисбактериозе, вызванном их назначением.

В результате действия двух токсинов - энтеротоксина (токсин А) и цитотоксина (токсин В) - развивается тяжелый псевдомембранозный колит (госпитальная инфекция, доминирующая среди прочих госпитальных кишечных инфекций).