



САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ СРЕДНЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ № 3»

## ЛЕКЦИЯ

# « Анаэробные инфекции. Клостридии. Клостридиозы »

Выполнена:  
преподаватель  
микробиологии  
Саенко Т.П.

Санкт-Петербург  
2019 г.

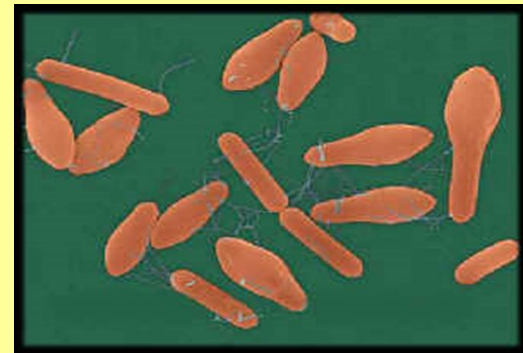
# Анаэробные инфекции- это

инфекции, вызываемые  
бактериями рода *Clostridium*:

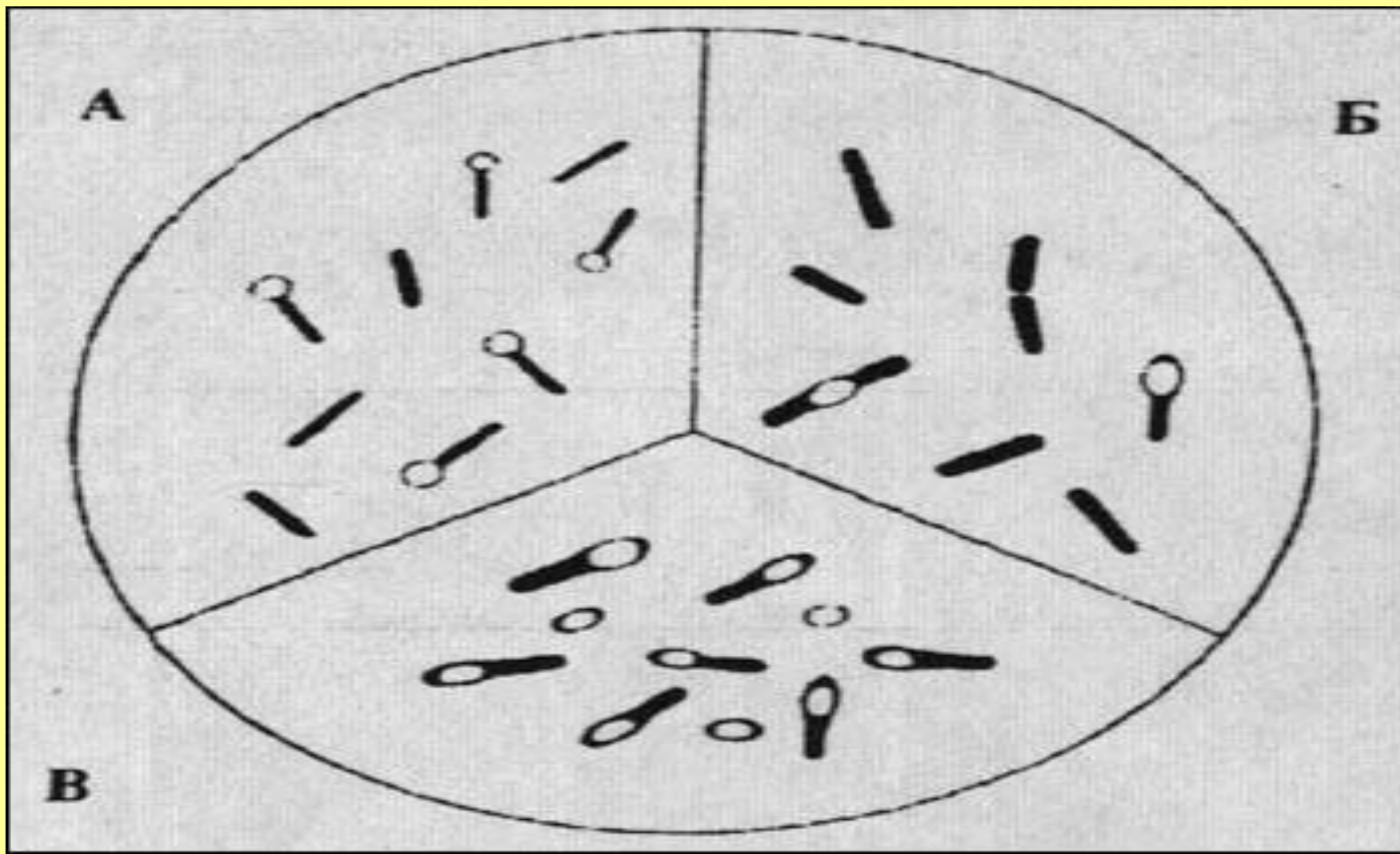
**газовая гангрена** (*C. perfringens*  
и другие "гистотоксические"  
кlostридии)

**столбняк** (*C. tetani*)

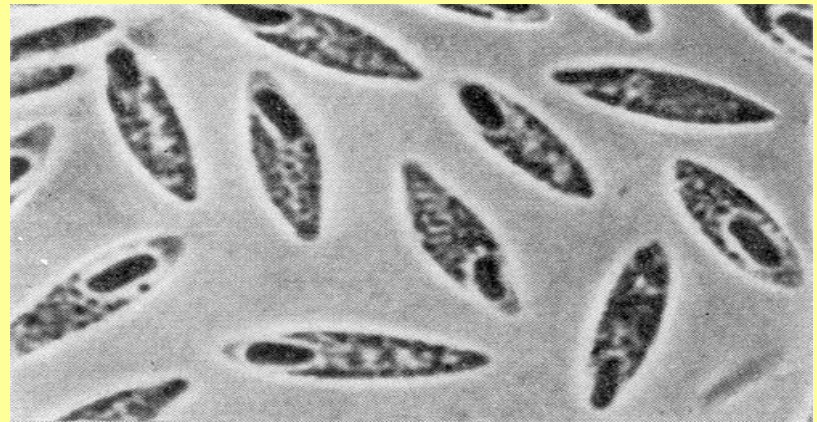
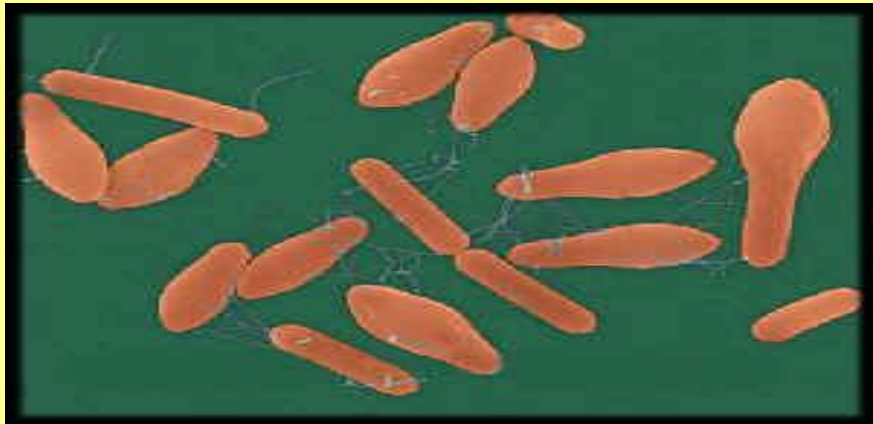
**ботулизм** (*C. botulinum*).



**Клостридии. А -- *C. tetani* ("барабанные палочки").**  
**Б - *C. perfringens* .**  
**В - *C. botulinum* ("теннисные ракетки").**



- К роду **Clostridium** – это около 120 видов, относятся Гр +, подвижные палочки (реже неподвижные), величиной 1,5-20,0 мкм, с закругленными, иногда с заостренными концами,
- часто расположенные в парах или короткими цепочками.
- Образуют овальные или круглые эндоспores, придающие клеткам веретенообразную форму (от гр. *kloster* — *веретено*).



- Наиболее **характерные признаки клостридий** способность вызывать маслянокислое брожение:
- анаэробный распад углеводов с образованием **масляной кислоты и газов** (CO<sub>2</sub>, водород, иногда метан).
- Восстанавливают (редуцируют) **сульфиты до сульфидов**.
- Обычно каталазоотрицательные.
- Большинство видов — **строгие анаэробы**;

## **Клостридии вызывают 3 смертельно опасных заболевания:**

- **газовую гангрену (*C. perfringens* и другие "гистотоксические" клостридии)**
- **столбняк (*C. tetani*)**
- **ботулизм (*C. botulinum*).**
- **патологии пищеварительного тракта, включая относительно доброкачественные энтероколиты и деструктивные процессы, требующие активного врачевания (*C. perfringens*, *C. difficile*).**

Возбудитель столбняка.  
Столбняк - токсико-инфекционное  
заболевание с нервно-судорожным  
синдромом. Летальность при  
посттравматическом столбняке – 45-50 %



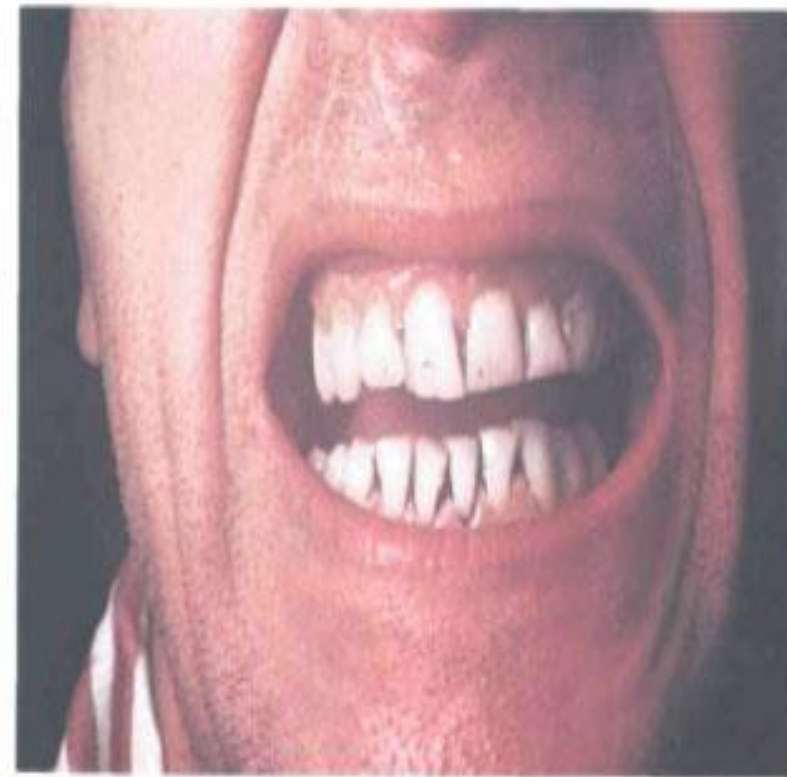


**Токсикоинфекция, вызываемая *Clostridium tetani*, опосредованное нейротоксическим действием бактериального экзотоксина (тетаноспазмина).**

**Ведущее проявление — судорожный синдром, включающий болезненные сокращения мышц (тетанус) и длительное напряжение мышц (мышечная ригидность).**

**опистотонус**  
(тетанический спазм,  
при котором позвоноч-  
ник и конечности согну-  
ты, больной лежит на  
спине и опирается на  
затылок и пятки)

- **risus sardonicus** (risus caninus) — подобие оскала, вызванного спазмом мышц головы (сардоническая улыбка).



- Возбудитель столбняка практически одновременно **открыли** **Монастырский (1883) и Николайер (1884),**
- в чистой культуре впервые выделен **Китазато (1889).**



Монастырский



Китазато

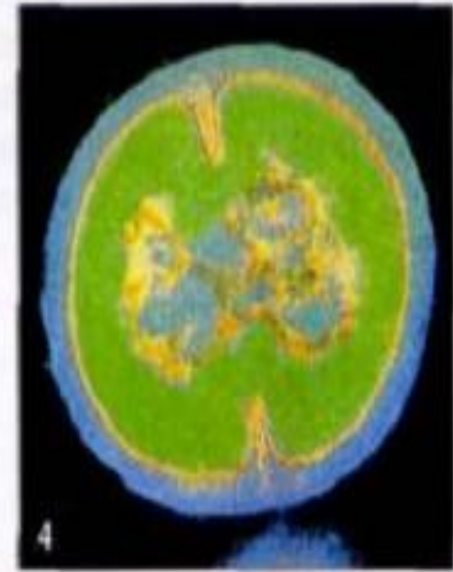
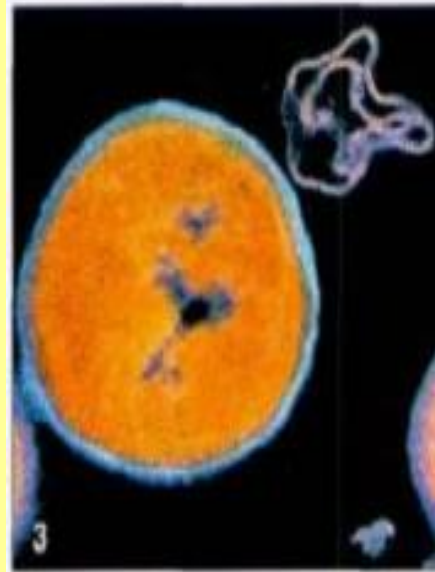
# Распространение

- Микроорганизмы встречаются **повсеместно**,
- ежегодная **смертность от столбняка в мире превышает 100 000 человек**.
- **Естественный резервуар и источник инфекции — почва.**
- **Входные ворота инфекции — бытовые и производственные травмы**, причем наиболее часто **поверхностные**, когда больной не обращается за медицинской помощью.
- **Заболеваемость значительно возрастает во время военных действий** у раненых;
- **основная группа риска в мирное время — работники сельского хозяйства** (составляют 80-86% заболевших).

# Морфология возбудителя

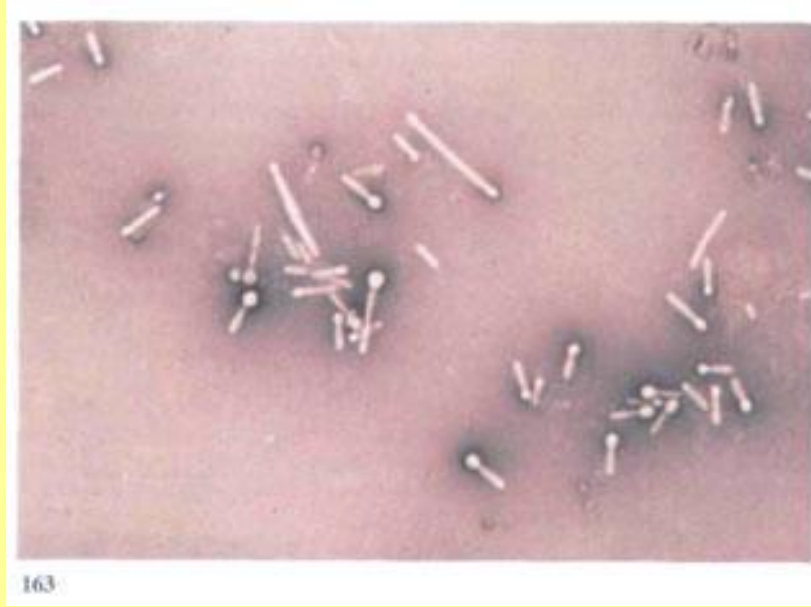
## Вегетативные клетки.

- Гр + палочки с закругленными концами длиной 4-8 мкм и толщиной 0,3-0,8 мкм,
- располагаются **одиночно или цепочками**,
- подвижны (перетрихи), но в старых культурах (30 сут. и более) преобладают **неподвижные** формы.
- **Облигатные (строгие) анаэробы**, отличаются **высокой чувствительностью к O<sub>2</sub>**;



# Споры

- **круглые**, реже овальные,
  - расположены **терминаль**  
**но**, их диаметр в 2-3 раза  
**превышает толщину бакте-**  
**рий**, вследствие чего споран-
- гий имеет форму **барабанной палочки**.
- Их отличает **высокая устойчивость** к химическим и физическим воздействиям, в частности, они выживают в течение **8-10 ч в 1% растворе сулемы** и **5% растворе фенола**,
  - выдерживают **кипячение** в течение **0,5-1 ч**.



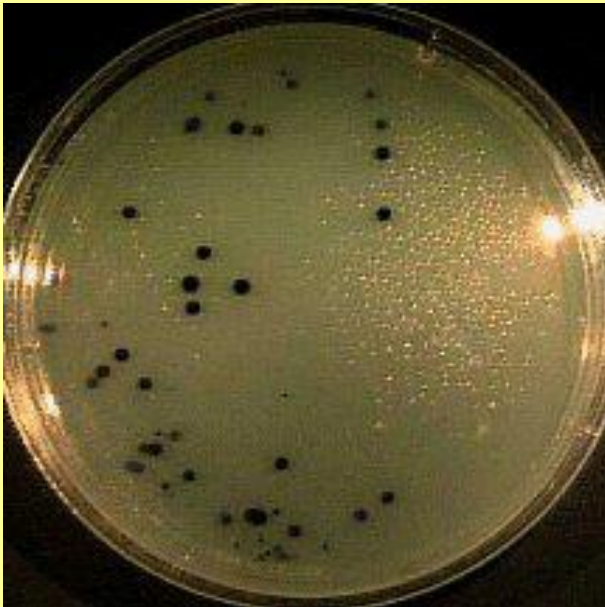


# Питательные среды для анаэробов

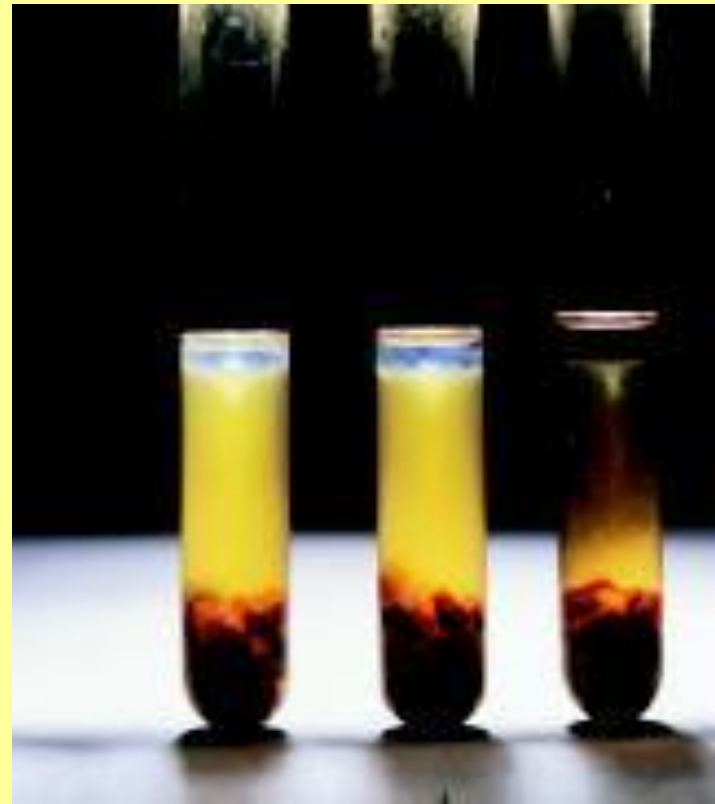


# СРЕДА ВИЛЬСОНА-БЛЕРА

**(ЖЕЛЕЗО-СУЛЬФИТНЫЙ АГАР)** используется для выделения анаэробных бактерий. Готовится из питательного агара, к которому добавляют 1% глюкозы, **хлорид железа** и **сульфит натрия**. Анаэробные клостридии (*Clostridium perfringens*) образуют на среде **колонии черного цвета** за счет образования **соединений железа с серой**.



- **СРЕДА КИТТА-ТАРОЦЦИ**  
используют для культивирования и хранения **клостридий**.  
Состоит из питательного **бульона**, 2% глюкозы и **кусочков печени** или мясного фарша для адсорбции кислорода.
- **После посева** среду заливают небольшим слоем **вазелинового масла**.  
Выросшие анаэробы вызывают **помутнение** питательной среды.



# Метод Перетца

в расплавленный и охлажденный сахарный агар вносят культуру бактерий и заливают под стекло, помещённое на пробковых палочках(или фрагментах спичек) в чашку Петри.

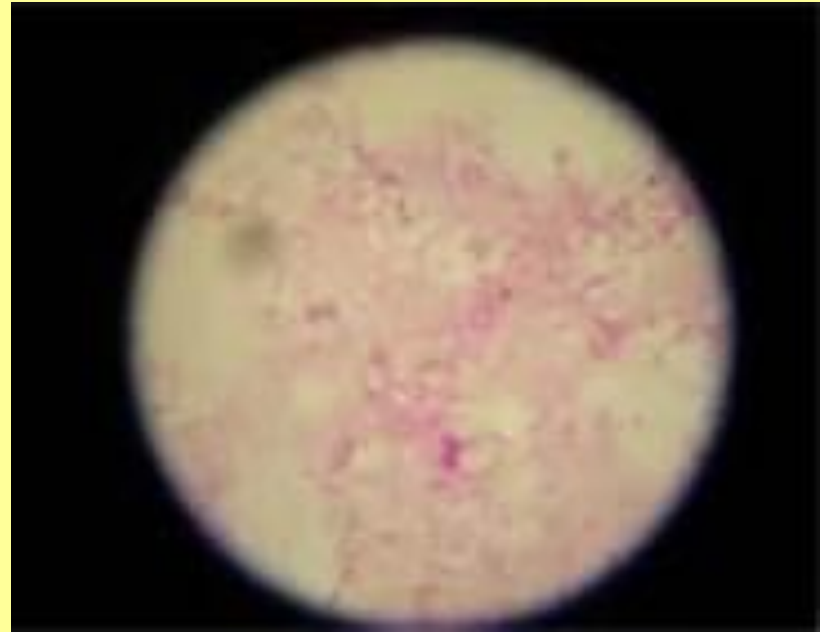
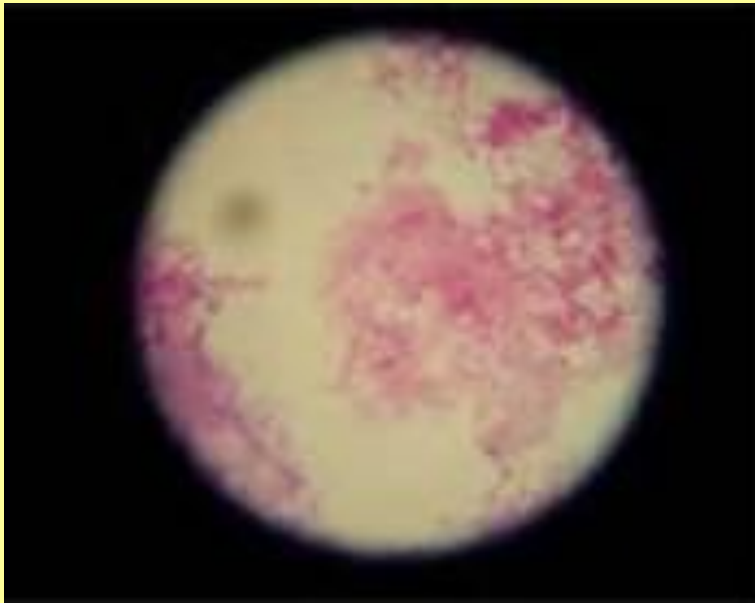
Метод **наименее надежен** из всех, но **достаточно прост** в применении.



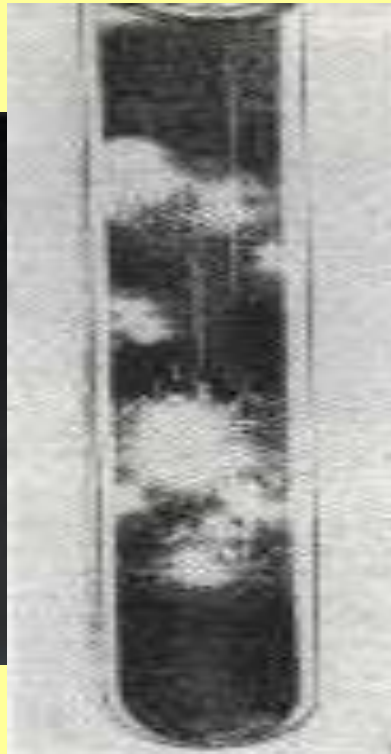
# Морфология колоний.

На МПА и желатине:

- возбудитель **растет медленно**
- образует **тонкие прозрачные колонии с ровными или шероховатыми краями**
- рост колоний характерный — **сначала на поверхности среды появляется сеточка, образованная сливающимися колониями с отростками.**



- Растет в виде прозрачных или серовато-желтых шероховатых (R) и гладких (S) колоний. На КА – зона гемолиза.
- При посеве уколом в полужидкий агар через 24-48 ч формирует колонии в виде чечевичек (R-форма) или пушинок с плотным коричневым центром (S-форма).



**Патогенность C. tetani** обусловлена способностью образовывать **тетаноспазмин и тетанолизин**: вызывают столбняк у человека и животных.

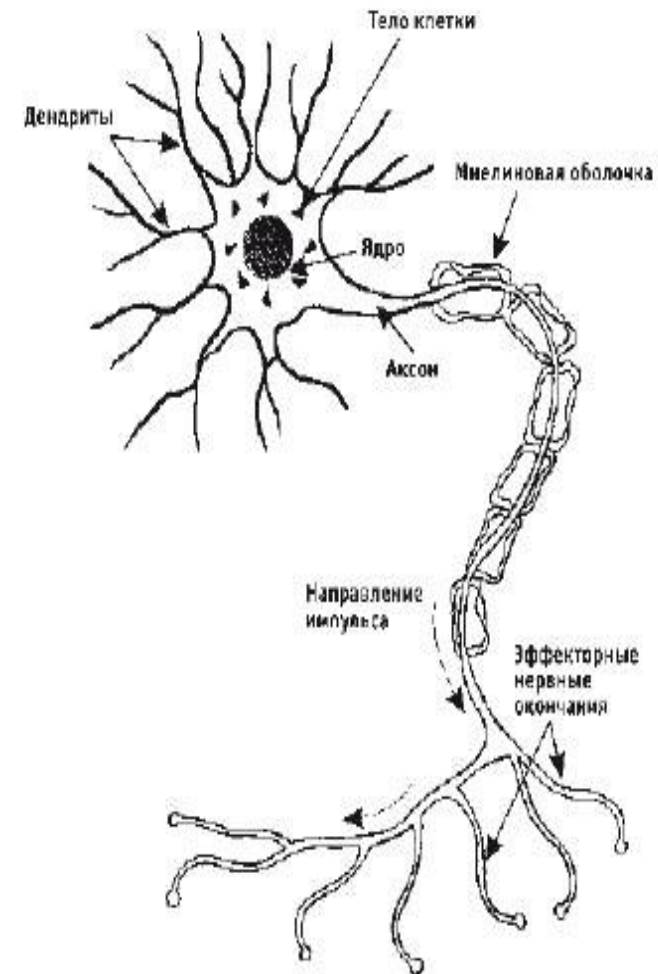
### **Антигенная структура**

У Clostridium tetani выявляют **О- и Н-Аг**.

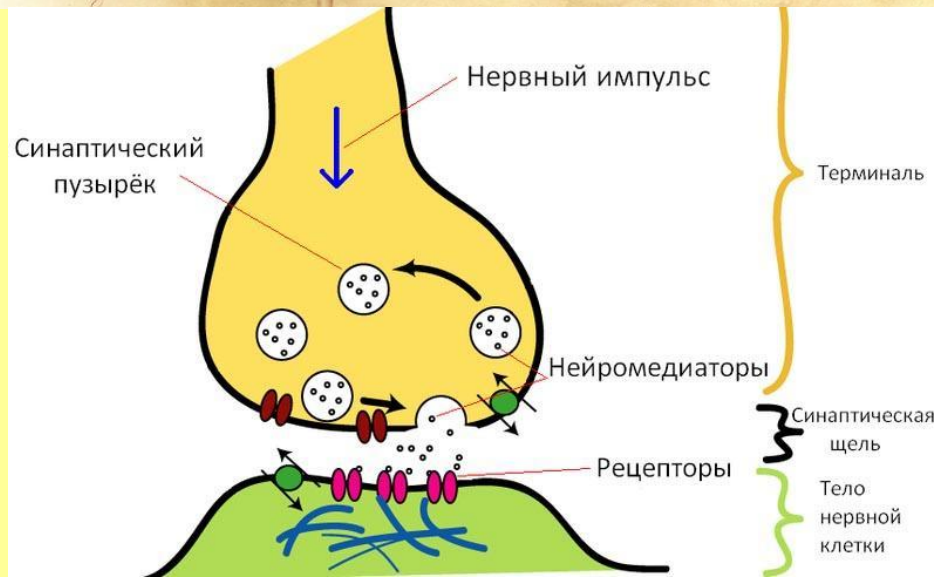
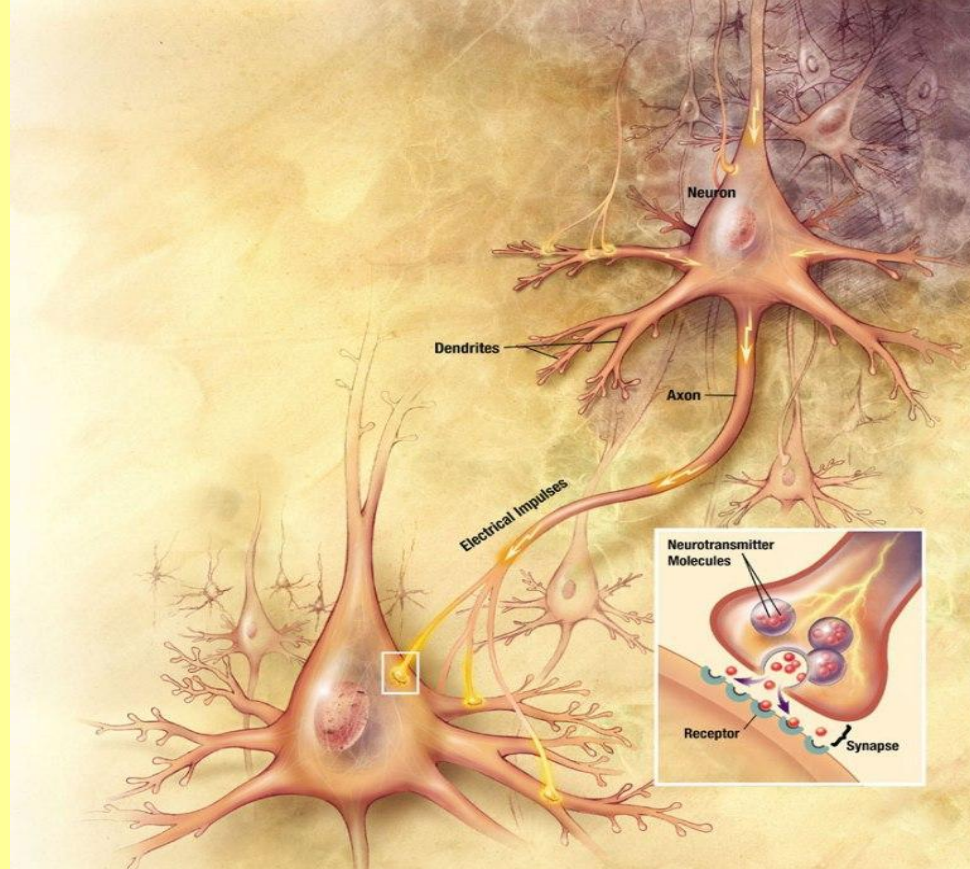
- По жгутиковым Аг выделяют **10 сероваров**,
- все серовары продуцируют **идентичные** по своим антигенным свойствам **тетаноспазмину и тетанолизину**.

# Патогенез

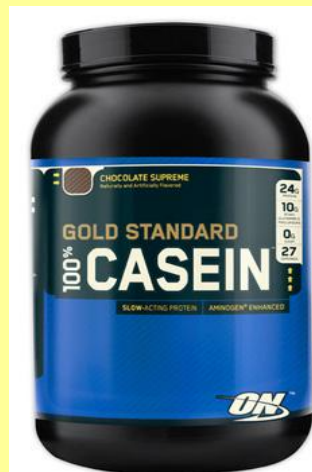
- Тетаноспазмин — полипептид действует дистанционно, т.к. бактерии редко покидают пределы раны.
- Токсин фиксируется на поверхности отростков нервных клеток, проникает в них и попадает в ЦНС.



- **Механизм действия связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов**
- **Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц.**



- Для получения токсина *in vitro* бактерии можно выращивать на мясных средах, например бульоне Мартена с пептоном, и др.
- В отечественной практике наибольшее распространение получила среда из кислотного гидролизата казеина, экстракта пшеничных отрубей и дрожжевого экстракта (в среду можно добавлять рыбную муку).



- **Тетанолизин (тетаногемолизин) С. tetani** обладает **гемолитическим, кардиотоксическим и летальным** свойствами, в патогенезе заболевания играет менее важную роль;
- **процессы его образования не связаны с синтезом тетаноспазмина.**

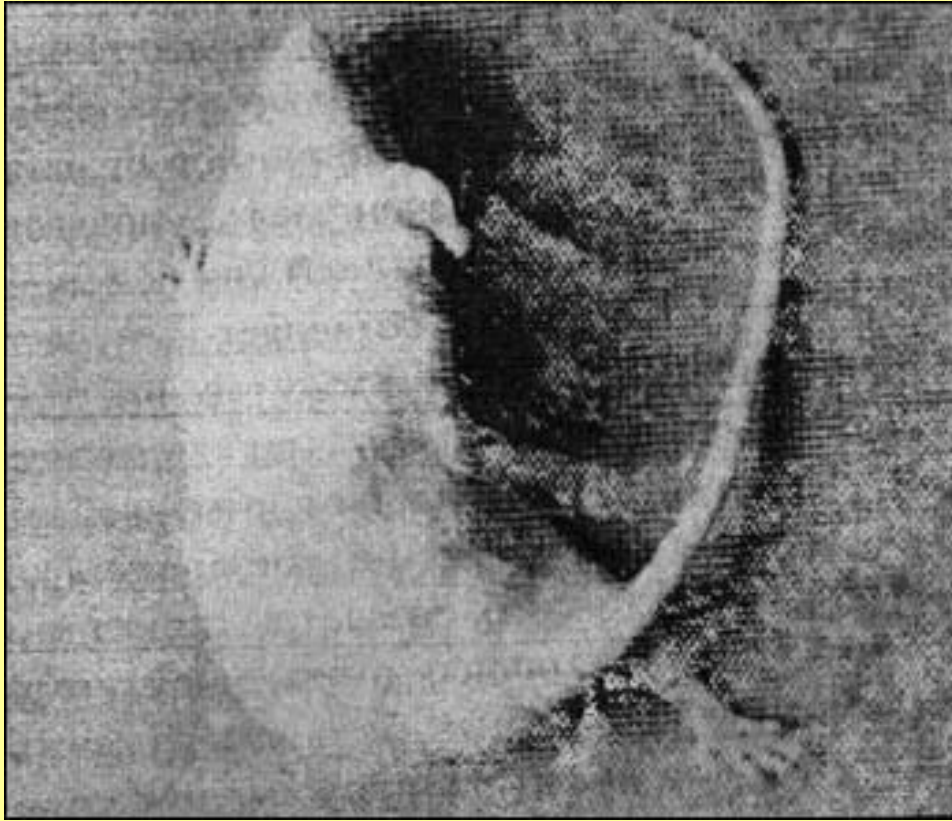
# Иммунитет

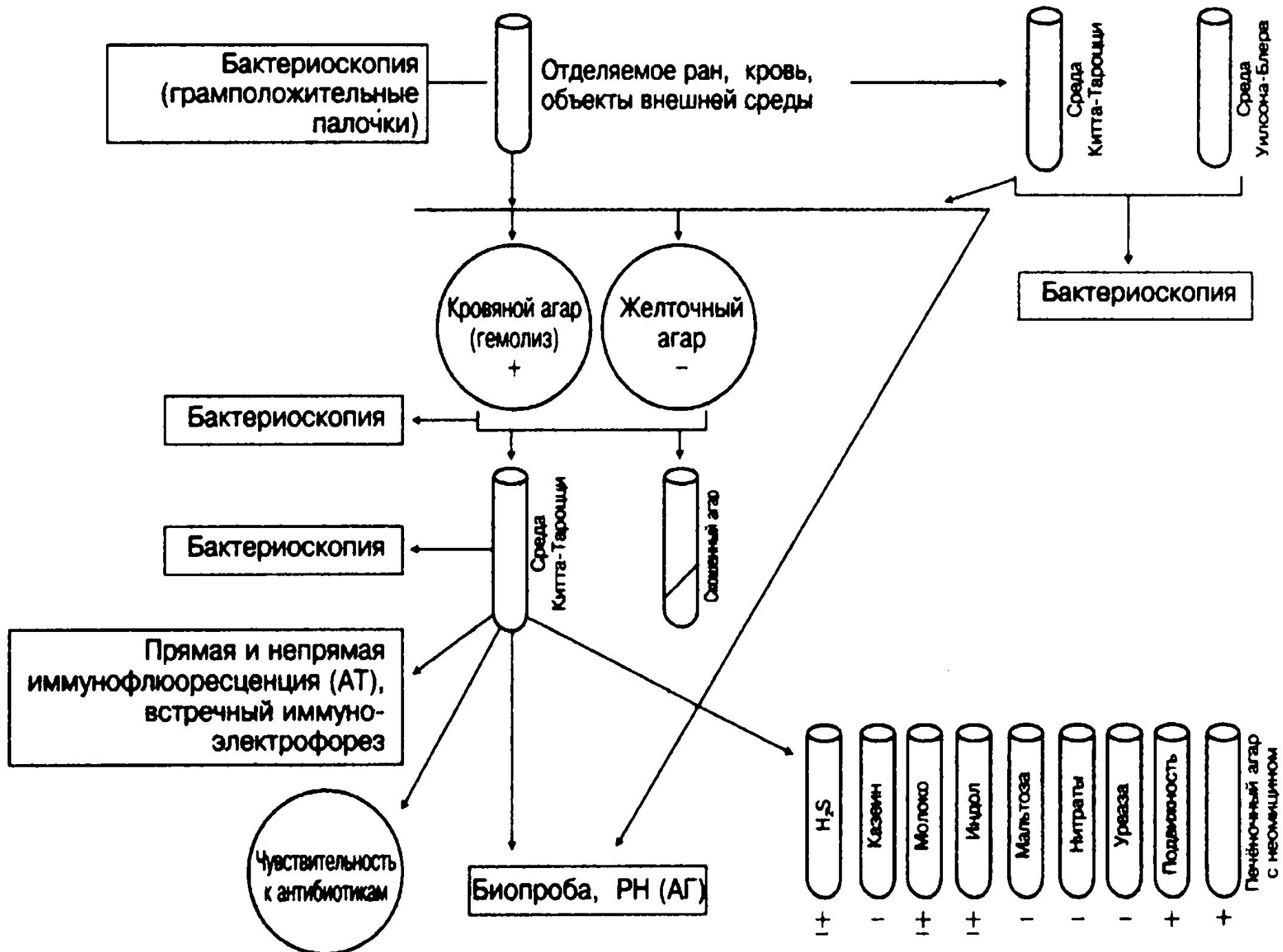
- **Естественный иммунитет к столбняку отсутствует.** В отношении постинфекционного иммунитета существуют противоречивые данные.

## Иммунопрофилактика.

- **столбнячный анатоксин** применяют для активной иммунопрофилактики столбняка,
- **при заболевании** применяют **столбнячный антитоксин** – гипериммунную человеческую антисыворотку (курс — 2 инъекции, в тяжелых случаях — 3 инъекции дробно).

# Биологическая проба





# Газовая гангрена

**Это раневая полиинфекция.**

**Основными возбудителями являются:**

***Clostridium perfringens*,**

***C. histolyticum*,**

***C. novyi*,**

***C. septicum*, и др.**



# **Clostridium perfringens** — один из основных видов рода

- По способности образовывать **4 главных токсина** (  $\iota$ -,  $\epsilon$ -,  $\beta$ -,  $\alpha$  -), микроорганизмы разделяют на **6 сероваров** — **A B, C, D, E и F**
- Основной возбудитель заболеваний человека — **C. perfringens типа A**, вызывает:
  - Газовую гангрену людей и животных,
  - пищевые токсикоинфекции



## **ТИП В**

Дизентерия молодняка сельскохозяйственных животных, энтеротоксемия овец и коз

## **ТИП С**

**Некротический энтерит человека,**  
геморрагическая энтеротоксемия овец, коз,  
поросят и телят

## **ТИП D**

**Инфекционная энтеротоксемия человека,** овец,  
коз, кроликов, телят, «травяная болезнь» лошадей

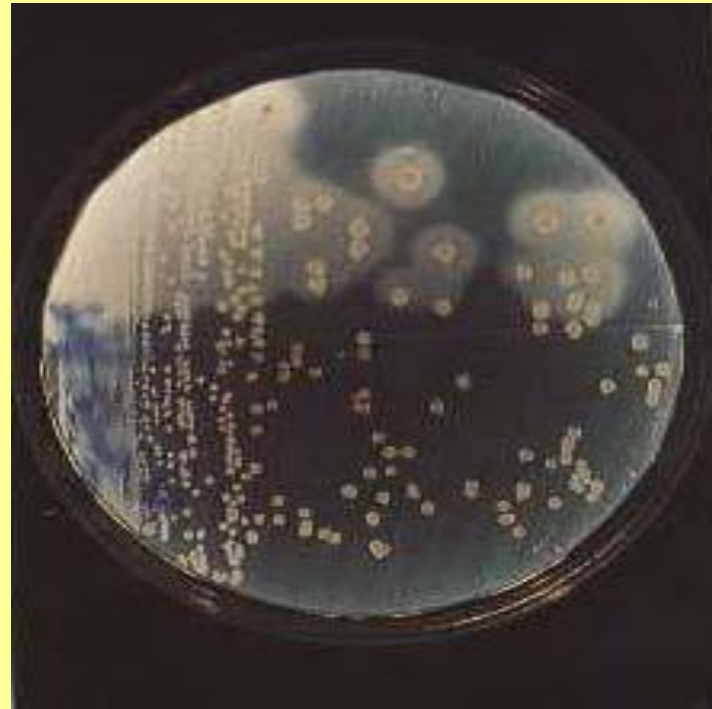
## **ТИП E**

Энтеротоксемия телят и ягнят

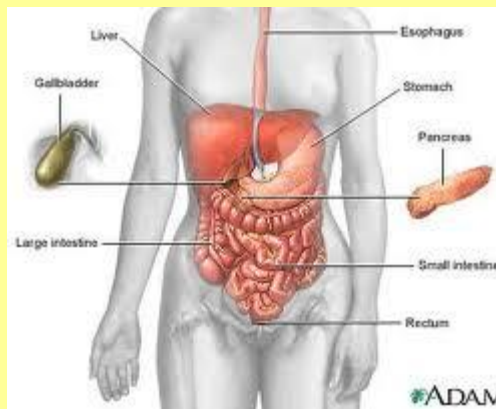


# Токсины.

- *C. perfringens* образует как минимум **12 идентифицированных токсинов** (ферментов)
- **α-Токсин (лецитиназа)** проявляет **дерматонекротизирующее, гемолитическое и летальное** (убивает лабораторных животных при внутривенном введении) продуцируют **все типы *C. perfringens***, но **наиболее интенсивно тип А.**



- **β-Токсин** вызывает некроз тканей и оказывает летальное действие на морских свинок-альбиносов, гемолитического действия не оказывает, активность *in vivo* реализуется в развитии некротических энтеритов, основные продуценты — типы В и С.
- **I- и ε-токсины** оказывают летальное и дерматонекротизирующее действие



- **Энтеротоксин** образуют *C.perfringens* типов А и С, вызывающие **пищевые токсикоинфекции**,
- вызывает **рвоту и диарею**,
- оказывает **летальное действие**,
- обуславливает появление **эритематозной кожной сыпи** у лабораторных животных.



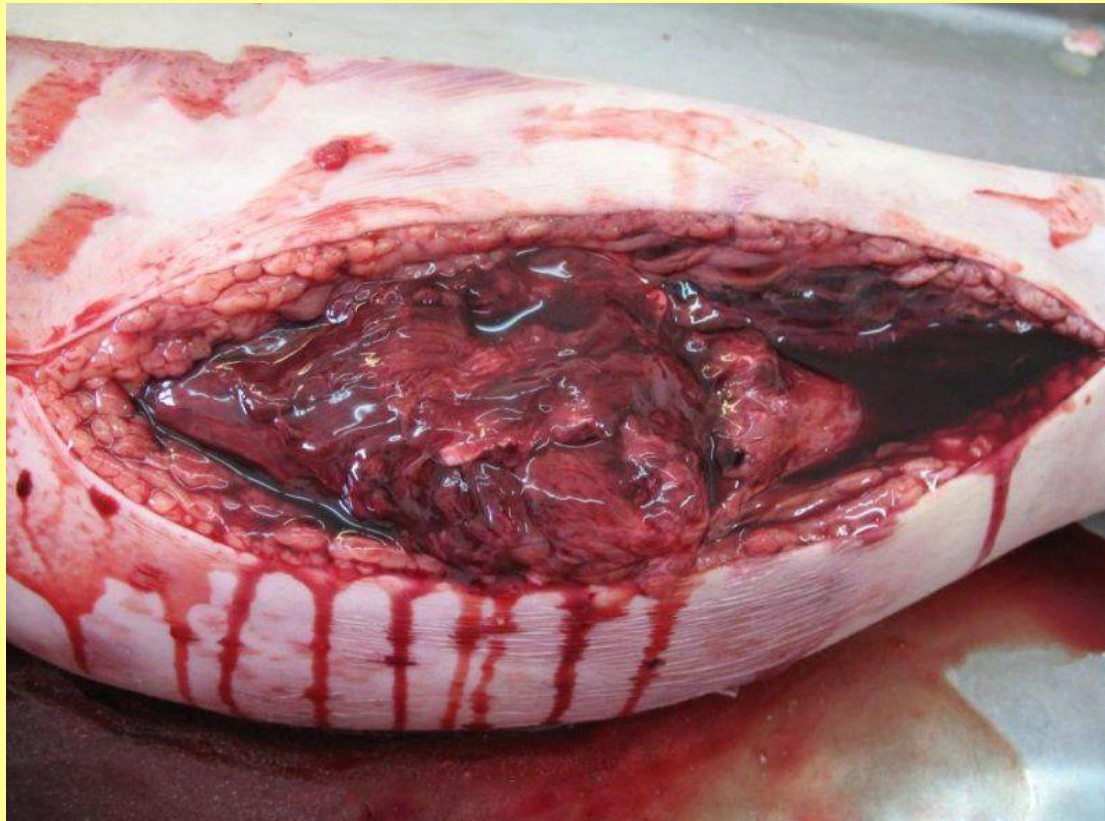
**Газовая гангрена** развивается при попадании возбудителей или их спор на раневые поверхности.

Для поражений **характерны:**

- **некроз тканей**
- **Обильное образование газа с гнилостным запахом.**



Характерная **особенность гистологических препаратов**, полученных из очагов поражения — **практически полное отсутствие фагоцитов** в очаге некротических поражений.



# Морфология и культуральные свойства возбудителя

- Вегетативные клетки — крупные, Гр +, неподвижные, короткие палочки с обрубленными концами (один из немногих неподвижных видов).
- In vivo образуют капсулы (единственный капсулообразующий вид среди патогенных клостридий).



Рис. 3.81. Мазок из чистой культуры *C. perfringens*. Окраска по Граму

- Споры крупные, овальные, расположены центрально (у *C. Perfringens* типа А — также субтерминально),
- Клетка-спорангий практически не деформируется.



- Термоустойчивость спор серотипов В и D - погибают при кипячении в течение 15-30 минут
- споры типов А и С выживают при кипячении и даже автоклавировании в течение 1-6 ч.

# Распространение

- Микроорганизмы **широко распространены** в окружающей среде, их выделяют из **воды, почвы и сточных вод**, часто обитают в **кишечнике** людей и животных;
- *Clostridium perfringens* также способны **вегетировать в почве**, богатой гумусом.
- Наиболее **часто** в почве и испражнениях обнаруживают **серотип А**.

# Лабораторная диагностика

В соответствии с методическими указаниями по лабораторной диагностике предусмотрено:

- **обнаружение и идентификация токсина в содержимом тонкого кишечника в реакции нейтрализации на белых мышах.**
- Параллельно проводится **выделение и идентификация возбудителя по тинкториальным, культуральным и токсигенным свойствам,**
- изучение ферментативных свойств не предусмотрено.
- Используются лабораторные животные.

- Клостридии дифференцируют по культуральным признакам. На сахарно-кровяном агаре
- *S. perfringens* образует гладкие сероватые с ровными краями и плотным возвышением в центре колонии;
- *S. novyi* — шероховатые колонии с признаками гемолиза;
- *S. septicum* образует сплошной нежный налет, переплетающиеся нити на фоне гемолиза,
- *S. histolyticum* — небольшие блестящие колонии с ровными краями и небольшой зоной гемолиза вокруг,



Бактериоскопия  
(грамположительные  
палочки)

Бактериоскопия  
капсула

Исследуемый материал:  
кусочки ткани, кровь,  
объекты внешней среды

Среда  
Цейслера

Желточный  
агар

Посев  
по Перецу

Среда  
Китта-Тароцци  
прогревая

Среда  
Китта-Тароцци  
непрогревая

Среда  
Уилсона-Блера

Молоко

Бактериоскопия

Скошенный агар

Среда  
Китта-Тароцци

Биопроба, РН (АГ)

Проба на каталазу

Подвижность

Чувствительность  
к антибиотикам

Прямая и непрямая  
иммунофлюоресценция (АТ),  
встречный иммуно-  
электрофорез

Глюкоза

Мальтоза

Лактоза

Сахароза

Маннит

Глицерин

Салицин

Среда Роберта

+

+

+

+

-

+

+

+

Среда  
Цейслера

Посев  
по Перецу



# Ботулизм.



## пищевая интоксикация возбудитель ботулизма **Clostridium botulinum**

,



- **Ботулизм** - тяжелая **пищевая интоксикация**, возникающая в результате отравления **токсинами бактерий ботулизма** и характеризующаяся **тяжелым поражением нервной системы**. **Нейротоксин блокирует передачу импульсов в нервной системе** и у человека развиваются **параличи мышц**.



- **Инкубационный период (2—12 ч)**  
развиваются явления общей интоксикации и  
появляются **первые признаки**:
- поражения **органов зрения** —  
**расстройство аккомодации, двоение в**  
**глазах, поражения глазных мышц,**  
**расширение зрачков.**
- Вместе с этим **затрудняется глотание,**
- появляются **афония,**
- **головная боль,**
- **головокружение, иногда**  
**рвота.**
- **Летальность высока (до 60 %).**



- **C. botulinum** — описан впервые Э. ван Эрменгемом в 1896 г. во время расследования вспышки ботулизма.
- Микроорганизм был выделен из ветчины и из органов умерших.



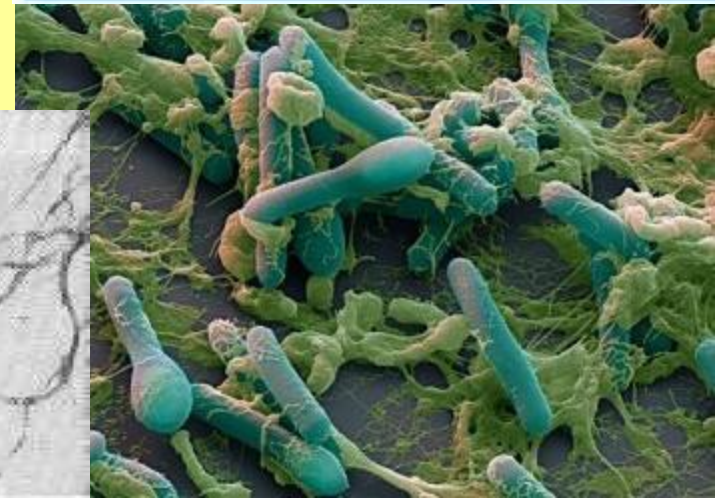
- Возбудитель - **анаэроб** широко распространен в природе,
- длительное время может находиться **в почве в виде спор**
- Передается **алиментарным** путем (при употреблении мясных, рыбных, овощных, грибных консервов, колбасы).
- Источник инфекции - человек, животные, рыбы, моллюски.
- Без доступа **воздуха** клостридии вырабатывают **ботулотоксин**.



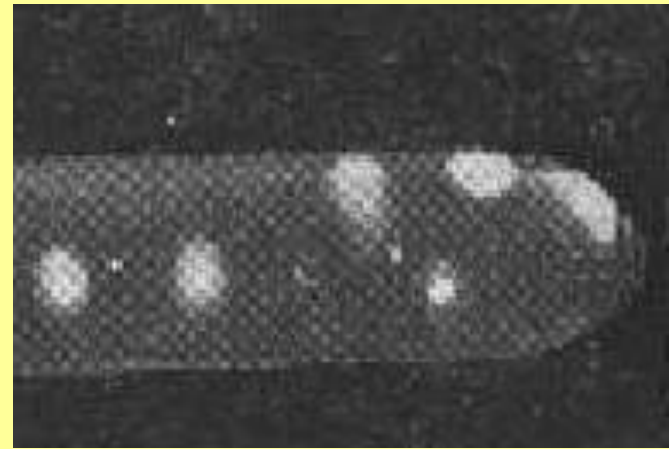
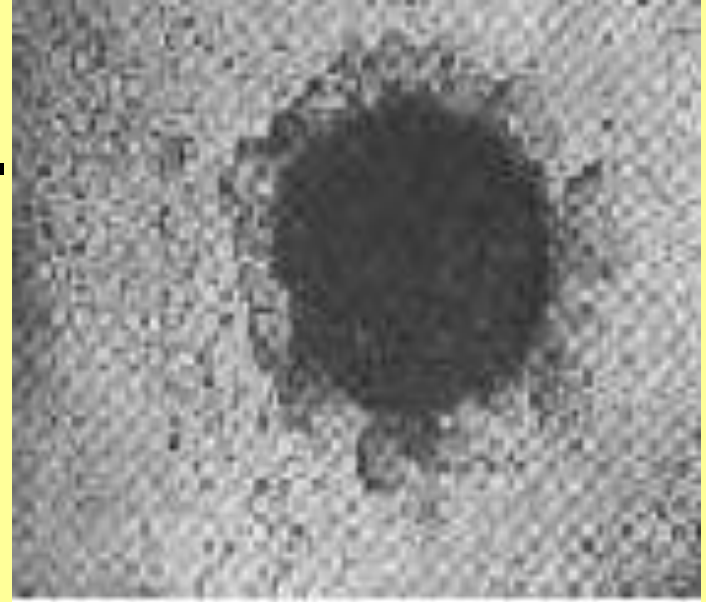
- **C. botulinum** включает серовары (А, В, Сі, С2, D, Е, F, Q), различающиеся по антигенной структуре образуемых ими **токсинов**.
- **Каждый** из токсинов может быть **нейтрализован** только **гомологичной сывороткой**.
- Это **очень сильный яд**, он сильнее яда гремучей змеи в более чем **300000 раз**.
- Токсин **не разрушается кишечным соком**, а некоторые его типы (токсин типа **Е**) даже усиливает свое действие.

# Морфология, физиология.

- Гр + палочки, размерами 4—9 X 0,6—1,0 мкм,
- перитрихи,
- образуют субтерминально расположенные споры. «теннисная ракетка».
- Капсулу не образуют.



- **Строгий анаэроб.**
- Размножается на **глюкозо-кровяном агаре**, образуя **неправильной** формы колонии с **отростками** или **ровными краями**, **зоной гемолиза** вокруг колоний.
- В **столбике** агара колонии напоминают **комочки ваты** или **чечевицу**.
- В **жидких** средах образует-ся равномерная **муть**, а **затем** на **дно** пробирки **выпадает компактный осадок**.



# Резистентность

- **В почве** клостридии ботулизма не только сохраняются длительное время, но и **размножаются**.
- **Вегетативные** формы *C. botulinum* **малоустойчивы** в окружающей среде,
- **Споры:**
  - выдерживают **длительное высушивание** ,
  - **замораживание до  $-253^{\circ}\text{C}$** ,
  - **кипячение от 1 до 6 ч.**
  - В **5 %** растворе **фенола** сохраняют жизнеспособность **до 1 сут.**
- **Ботулинический токсин** при **кипячении** разрушается в течение **10 мин.**
- Он обычно **накапливается в пищевом продукте** при **размножении** в нем *C. botulinum*.

# Лабораторная диагностика для обнаружения токсинов

- Для установления источника инфекции исследуются **подозреваемые продукты**, которые употребляли заболевшие.
- Исследования ведут **параллельно** на обнаружение **токсина** и выделение **к возбудителя**.
- Для обнаружения токсина используют **белых мышей**, которым подкожно или **внутрибрюшинно** вводят вместе с **поливалентной антитоксической противоботулинической сывороткой (А, В, С, Е)** исследуемый материал,

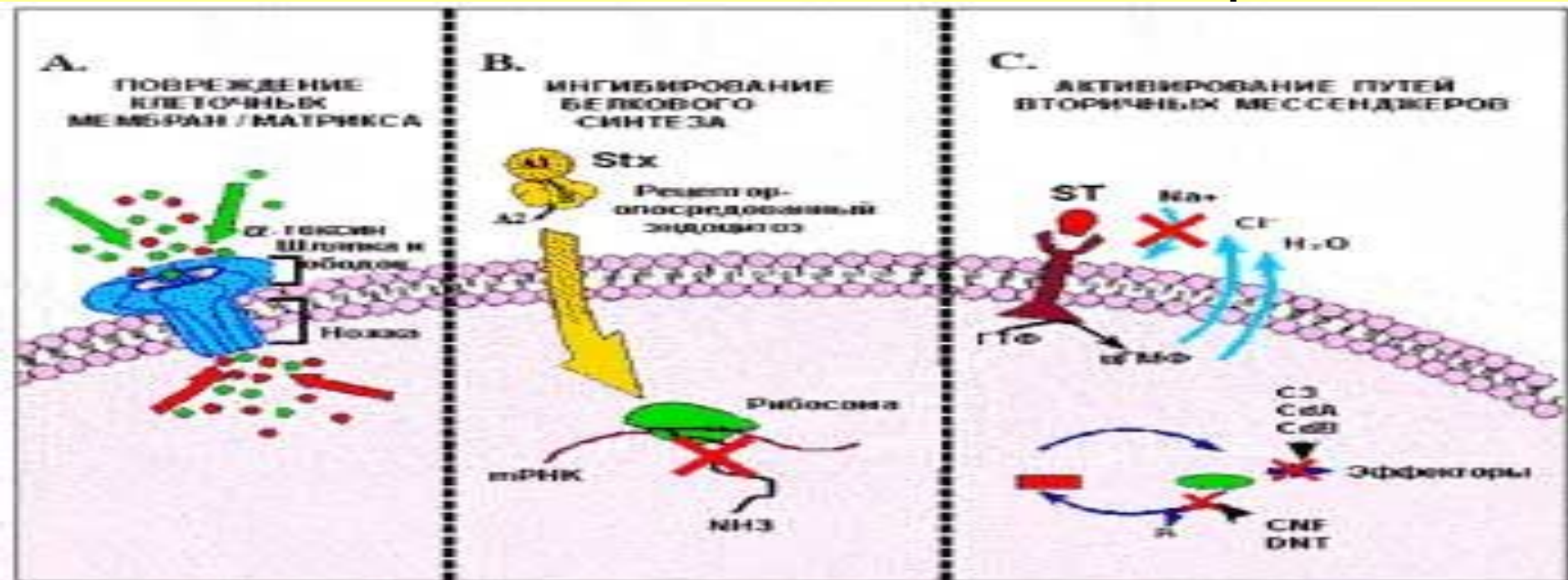


- Другая группа мышей получает материал без сыворотки.
- В том случае, когда животные второй группы погибают, ставят развернутую реакцию нейтрализации для определения типа токсина.
- Для получения культуры возбудителя исследуемый материал засевают в жидкие питательные среды.
- Выделенную культуру идентифицируют,
- культуральную жидкость испытывают в реакции нейтрализации на наличие в ней ботулинического токсина определенного серотипа.



**ЭКЗОТОКСИНЫ** - вещества белковой природы, выделяемые во внешнюю среду живыми патогенными бактериями. Оказывают избирательное повреждающее действие на клетки макроорганизма. Экзотоксины высокотоксичны, обладают выраженной специфичностью действия и иммуногенностью.

**ЭНДОТОКСИНЫ** - токсические субстанции, входящие в структуру бактерий (обычно в клеточную стенку) и высвобождающиеся из них после лизиса бактерий.



# Список использованных источников

- 1) Под редакцией А.С. Лабинской, Н.Н. Костюковой, С.М. Ивановой. Руководство по медицинской микробиологии. Том 3. Москва. БИНОМ. 2015г.
- 2) Бабичев С., Коротяев А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. 5-е издание. 2017 г.
- 3) В.В. Сбойчаков. Микробиология с основами эпидемиологии и методами микробиологических исследований. СПб. СпецЛит. 2011 г.
- 4) Н.Д. Ющук, Ю.Я. Венгеров. Лекции по инфекционным болезням. 4-е издание. Том 1. Москва. Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». 2016 г.
- 5) [http://www.monikiweb.ru/sites/default/files/page\\_content\\_files/Sapicheva\\_Sepsis.pdf](http://www.monikiweb.ru/sites/default/files/page_content_files/Sapicheva_Sepsis.pdf)
- 6) <http://dezr.ru/82-uchebnye-materialy/67-klebsiella-pneumoniae>
- 7) <http://docplayer.ru/51706378-Epidemiologiya-sepsisa.html>

