

Кафедра медицинской биологии с  
курсом инфекционных болезней



# Возбудители анаэробных инфекций

## ПЛАН ЛЕКЦИИ

- ◆ 1. Столбняк.
- ◆ 2. Газовая гангрена.
- ◆ 3. Ботулизм.
- ◆ 4. Возбудители энтеральных клостридиозов





- ◆ Среди представителей микромира существуют микробы, способные жить и размножаться в отсутствие кислорода. Их называют анаэробами. Они подразделяются на образующие (кlostридии) и не образующие спор микробы. Анаэробные инфекции, вызываемые кlostридиями, могут поражать любые органы и ткани.
- ◆ Бактерии рода *Clostridium* образуют овальные или круглые споры, они располагаются субтерминально, центрально или терминально. Как правило, диаметр спор больше, чем у вегетативной клетки, поэтому палочка со спорой приобретает вид веретена. Патогенные кlostридии вызывают раневые инфекции и пищевые токсикоинфекции.

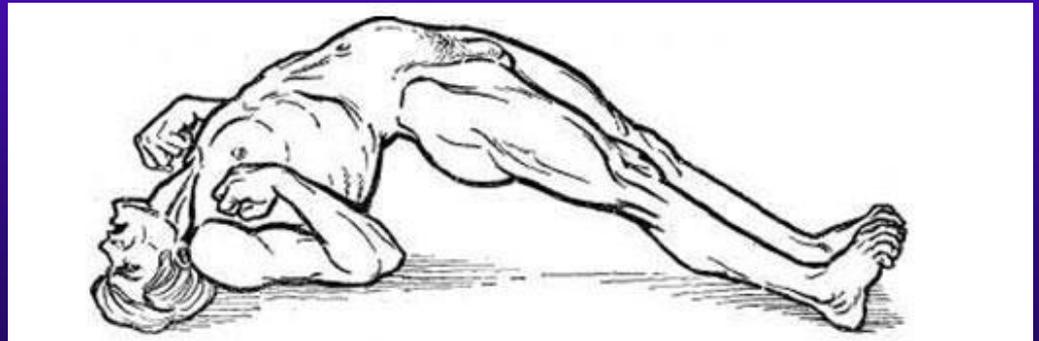
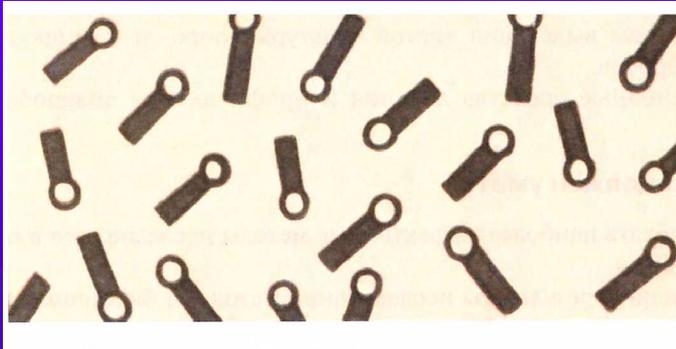
# Возбудитель столбняка (*Clostridium tetani*)

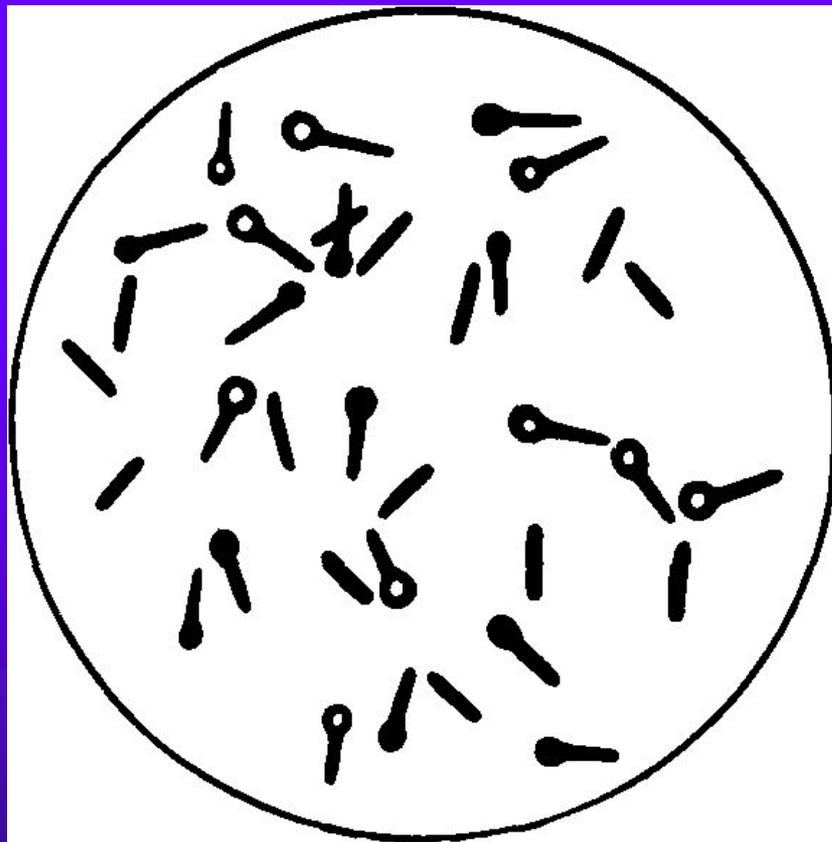
- ◆ На связь между ранениями и развитием столбняка обратили внимание ещё врачи древнейших цивилизаций Египта, Греции, Индии и Китая. Впервые клиническую картину этой болезни описал Гиппократ, у которого от столбняка умер сын. Изучением этого заболевания занимались Гален, Цельс, Аретей, Авиценна, Амбруаз Парэ и другие знаменитые врачи древности и средневековья.
- ◆ Научное изучение столбняка началось во второй половине XIX века. Возбудитель столбняка был открыт почти одновременно в 1883 году русским хирургом Н. Д. Монастырским и в 1884 году немецким учёным А. Николайером. Чистую культуру микроорганизма выделил в 1887 г. японский микробиолог С. Китасато, он же в 1890 г. получил столбнячный токсин и совместно с немецким бактериологом Э. Берингом создал противостолбнячную сыворотку. В 1923 году французский иммунолог Г. Рамон получил столбнячный анатоксин, который стал применяться для профилактики заболевания.



# Морфология и физиология

- ◆ Столбняк (возбудитель - *Clostridium tetani*) - тяжелая раневая инфекция, характеризующаяся поражением нервной системы, приступами тонических и клонических судорог.





*Clostridium tetani* с терминальной спорой



*Clostridium tetani* (электронная микроскопия)



- ◆ По форме клостридии столбняка напоминают барабанные палочки длиной 4-8 мкм, шириной 0,3-0,8 мкм. На жидких питательных средах они растут придонно, на твердых питательных средах образуют сероватые колонии с шероховатой поверхностью, обладают слабой протеолитической и сахаролитической активностью. Клостридии столбняка - строгие анаэробы. Для их выращивания используют специальные среды: бульон Китта-Тароцци, кровяной агар с глюкозой, тиогликолевый бульон. Температура инкубации 37 °С. Посевы помещают в специальные устройства - микроанаэростаты, из которых удаляют воздух.



Колонии *Clostridium tetani* на кровяном агаре

# *Эпидемиология и клиническая картина.*

- ◆ Заражение происходит при проникновении возбудителя в организм через повреждения кожи и слизистых оболочек, чаще всего при ранениях (боевых, производственных, бытовых). Латентный период 6 - 14 дней. Палочки столбняка остаются в ране. Главной причиной заболевания является экзотоксин, продуцируемый микробами. По кровеносным, лимфатическим сосудам и нервным стволам он распространяется по организму, достигая спинного и продолговатого мозга, и поражает нервные окончания синапсов, в результате чего нарушается проведение импульсов по нервным волокнам.





Клинически это проявляется спазмом жевательных мышц, затруднением глотания, напряжением мышц затылка, спины. Болезнь протекает по типу нисходящего столбняка. Характерны постоянные мышечные боли, повышенная чувствительность к внешним раздражителям, частые генерализованные судороги. При приступах туловище принимает дугообразный вид. Болезнь протекает при повышенной температуре тела и ясном сознании. Больной столбняком человек неконтагиозен.



- ◆ В случае выздоровления судороги ослабевают, состояние больного улучшается. Длительность болезни при благоприятном исходе - до 2 мес. После выздоровления человека от столбняка иммунитет к повторному заражению не формируется.
- ◆ Ежегодная смертность от столбняка превышает 1,2 млн. человек. Столбняк часто поражает новорожденных при родах в антисанитарных условиях. У них развивается «пупочный столбняк», от которого ежегодно гибнет более 1 млн новорожденных.

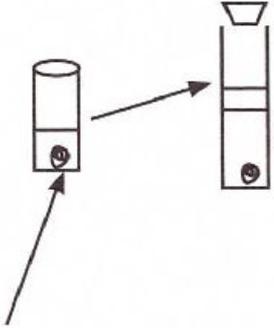




# *Микробиологическая диагностика.*

- ◆ Микробиологические исследования лишь подтверждают клинический диагноз. Работа проводится в анаэробных условиях. Для микроскопического исследования берут материал из раны, очагов воспаления и крови. При бактериологическом исследовании трупов также принимают во внимание возможность генерализации инфекции. Для анализа забирают кровь (10 мл) и кусочки печени и селезёнки (20 - 30 г).
- ◆ Для диагностики применяют бактериоскопический, бактериологический и биологический методы.

## Выделение чистой культуры и идентификация возбудителя столбняка

I день	3-4 сутки	4-5 день	II этап
<p>Исследуемый материал</p>  <p>среда Китта-Тароцци (среда накопления) инкубируют в анаэробных условиях 3-4 суток, наблюдают придонный рост бактерий.</p>	<p><u>Посев на чашку Петри с сахарным кровяным агаром и в столбик сахарного агара в пробирке</u> для получения отдельных колоний.</p> <p>Инкубация в микроанаэроостате, помещенном в термостат при 37° С.</p>	<p>1. макроскопическая характеристика.</p> <p>Тип роста на сахарно-кровяном агаре-нежные прозрачные колонии, окруженные малозаметной зоной гемолиза.</p> <p>2. пересев на среду Китта-Тароцци для выделения чистой культуры.</p>	<p>I. Идентификация чистой культуры.</p> <p>1. идентификация по морфологическим и тинкториальным свойствам.</p> <p>грам<sup>+</sup>-палочки, терминально расположенные споры.</p> <p>2. по культуральным свойствам.</p> <p>Анаэробы, на сахарно-кровяном агаре-нежные прозрачные колонии, окруженные малозаметной зоной гемолиза</p> <p>3. по биохимической активности – на средах Гисса: сахаролитической активности нет</p> <p>г- Протеолитическая – слабая (образуется индол)</p> <p>II. биологическая проба</p> <p>1. Определение токсигенности – экстрагируют и фильтруют токсин.</p> <p>Контрольной мыши вводят (п/к или в/м у корня хвоста) – фильтрат, смешанный с антитоксической сывороткой.</p> <p>Опытным – фильтрат токсина. Через 1-2 сут. у мышей развивается ригидность мышц хвоста и задних конечностей, хвост поднимается дугой, опытные мыши погибают. ( У животных заболевание протекает по восходящему типу)</p>





- ◆ *Лечение* направлено на нейтрализацию столбнячного токсина антитоксином. Основной метод лечения - применение противостолбнячной лошадиной антитоксической сыворотки с введением ее после десенсибилизации по Безредке. Используют также противостолбнячный иммуноглобулин человека. Его можно вводить без предварительной десенсибилизации.
- ◆ Для снижения выраженности судорог вводят в виде клизм 50-150 мл хлоралгидрата (3,5 % раствор).



*Специфическая профилактика.* Для создания искусственного иммунитета в плановом порядке проводят иммунизацию детей с 3-5-месячного возраста адсорбированным столбнячным анатоксином, входящим в состав вакцин АКДС (адсорбированная убитая корпускулярная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина: 3 инъекции с интервалом 30 - 40 суток; АДС (адсорбированная дифтерийно-столбнячная вакцина); или в состав секстанатоксина (сорбированные столбнячный, ботулинический и гангренозный анатоксины) с последующей ревакцинацией.

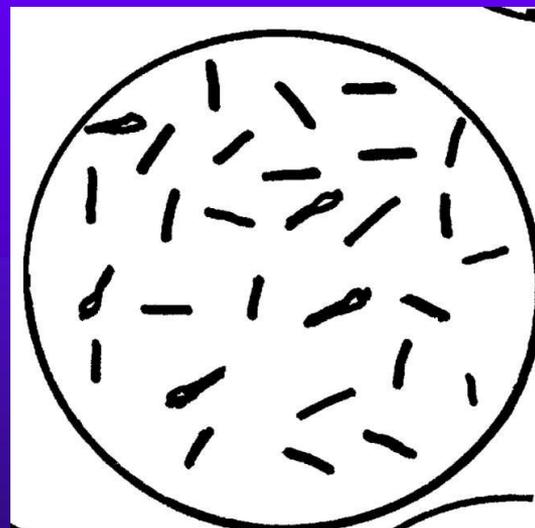
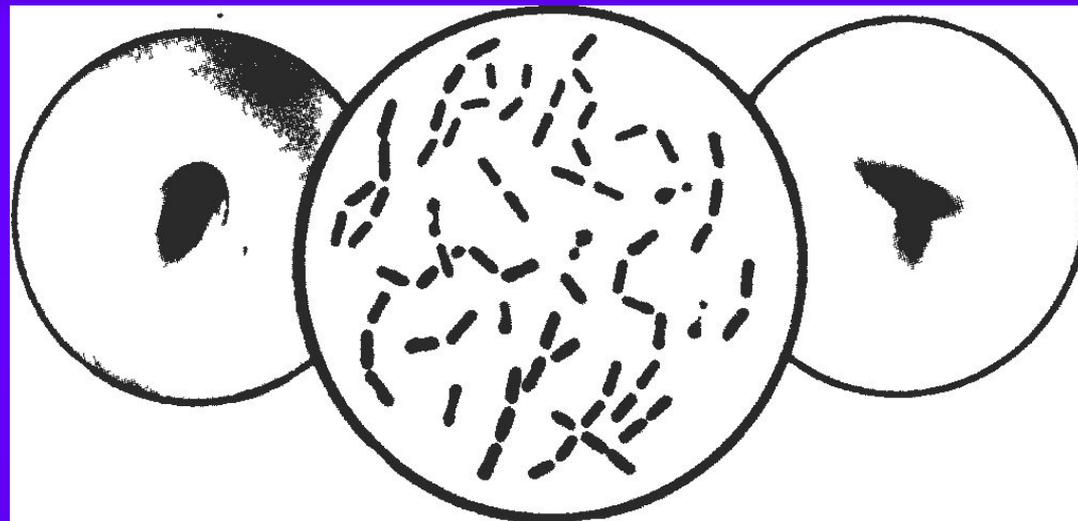


- ◆ *Неспецифическая профилактика* проводится путем тщательной хирургической обработки раны с удалением пораженных и загрязненных землёй тканей. После хирургической обработки раны пострадавшим людям вводят сорбированный столбнячный анатоксин.

# Газовая гангрена

- ◆ Газовая гангрена (возбудители - *Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium septicum* и др.) - заболевание, характеризующееся некрозом мышечной ткани и тяжелой интоксикацией организма. Заболевание получает широкое распространение во время военных действий.





*Чистая культура и колонии Clostridium perfringens*

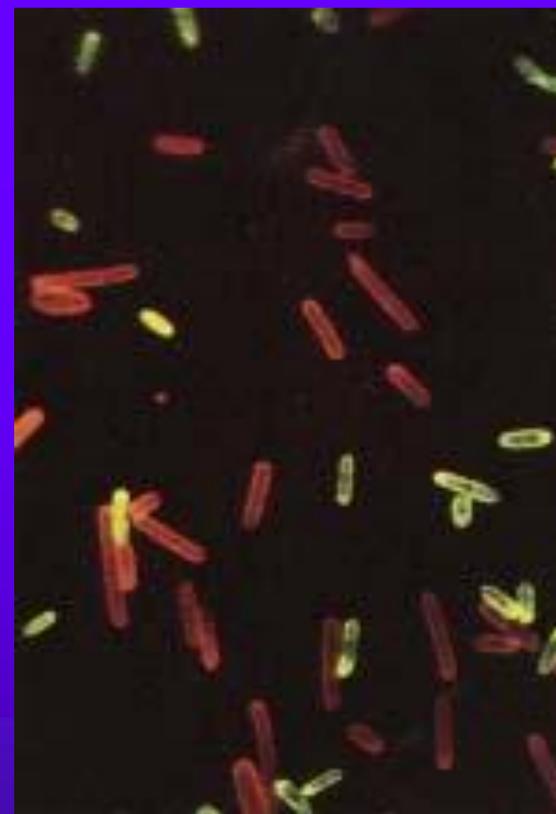
# Морфология и биология.

◆ Клостридии - крупные палочковидные грамположительные бактерии с субтерминально расположенными спорами. Длина клетки 3-10 мкм, ширина 0,8-1,0 мкм. Клостридии обладают высокой ферментативной активностью, при попадании в окружающую среду образуют споры, расположенные в центре клетки. Микроб хорошо растет на простых питательных средах в анаэробных условиях при температуре 37 °С. Все клостридии, кроме *Clostridium perfringens*, имеют жгутики (перитрихи). Способностью образовывать капсулу обладает только *Clostridium perfringens*. Клостридии газовой гангрены образуют экзотоксин, в состав которого входят ферменты лецитиназа, коллагеназа, гиалуронидаза, ДНКаза. Экзотоксины специфичны для каждого вида клостридий, но все они способны разрушать клеточные мембраны и расщеплять белки с образованием газа.





Мазок *Clostridium perfringens*



*Clostridium perfringens*

# *Clostridium perfringens* и факторы её вирулентности



Спора



Капсула

Ферменты:

лецитиназа

коллагеназа

гиалуронидаза

ДНКаза

гемолизин

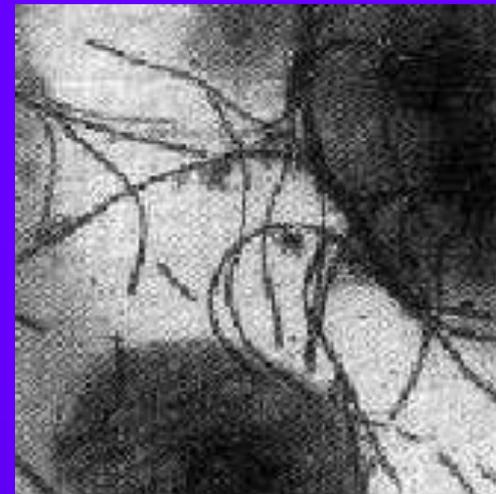
# Эпидемиология и клиническая картина.

- ◆ Возникновению газовой гангрены способствует попадание возбудителя в некротизированную рану. Латентный период от 1 до 3 дней. В некротических тканях анаэробы находят условия, благоприятные для своего развития. Капсула защищает *Clostridium perfringens* от фагоцитоза. Образуемые клостридиями экзотоксины повреждают здоровые ткани и вызывают тяжелую общую интоксикацию организма с высокой температурой.





**Clostridium histolyticum**



**Clostridium septicum**



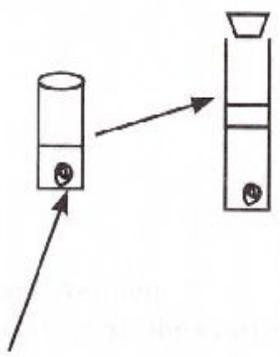
**Колонии на кровном агаре *Clostridium perfringens***



## *Микробиологическая диагностика.*

- ◆ Для бактериологического исследования в анаэробных условиях берут материал из раны. Вначале исследуемый материал бактериоскопируют. Можно использовать метод флюоресцирующих антител (МФА). При посеве в пробирку со стерильным молоком происходит так называемая «штормовая реакция» - молоко свёртывается с образованием сгустка уже через 3 - 4 часа.

## Выделение чистой культуры и идентификация возбудителей газовой гангрены

I день	II день	III день																				
<p>Исследуемый материал</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>среда Китта-Тароцци</p>	<p>1. ориентировочная микроскопия. Окраска по Граму - грам + - палочки, Цилю-Нильсену - красные споры, по Бурри - на темном фоне бесцветная капсула.</p> <p>2. Посев на чашку Петри с сахарно-красным агаром для получения отдельных колоний.</p> <p>Инкубация в микроанаэрозоле, помещенном в термостат при 37°C.</p>	<p>1. макроскопическая характеристика. Тип роста на сахарно-красном агаре. <i>C. perfringens</i> - гладкие сероватые колонии с ровными краями и плотным возвышением в центре колонии. <i>C. septicum</i> - сплошной нежный налет, переплетающиеся нити на фоне гемолиза <i>C. novyi</i> - шероховатые колонии с признаками гемолиза <i>C. histolyticum</i> - небольшие блестящие колонии с ровными краями и небольшой зоной гемолиза</p> <p>2. пересев на среду Китта-Тароцци и сахарно-красной столбик для выделения чистой культуры.</p>																				
		<p>I. Идентификация чистой культуры.</p> <p>1. идентификация по морфологическим и тинкториальным свойствам. грам+ - палочки, споры.</p> <p>4. по культуральным свойствам. В глубине сахарно-красного столбика колонии имеют вид: <i>C. perfringens</i> - комочков ваты (R-форма), либо зерен чечевицы (S-форма). Выделяется газ - разрывается столбик. <i>C. septicum</i> - чечевицеобразных колоний <i>C. novyi</i> - нежных хлопьев ваты. Выделяется газ - разрывается столбик.</p> <p>5. по биохимической активности - на средах Гисса.</p> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 5px;"></th> <th style="padding: 5px;">Лактоза</th> <th style="padding: 5px;">сахароза</th> <th style="padding: 5px;">маннит</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>C. perfringens</i></td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">+</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">+</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">+</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>C. septicum</i></td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">+</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>C. novyi</i></td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>C. histolyticum</i></td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> <td style="padding: 5px; text-align: center;">-</td> </tr> </tbody> </table> <p>II. биологическая проба</p> <p>1. Определение токсигенности - осадок чистой культуры вводят морской свинке - она гибнет.</p> <p>2. токсин с антитоксической сывороткой (<i>C. perfringens</i> или <i>C. novyi</i>) вводят п/к морской свинке. Если токсин будет нейтрализован - свинка выживет.</p>		Лактоза	сахароза	маннит	<i>C. perfringens</i>	+	+	+	<i>C. septicum</i>	+	-	-	<i>C. novyi</i>	-	-	-	<i>C. histolyticum</i>	-	-	-
	Лактоза	сахароза	маннит																			
<i>C. perfringens</i>	+	+	+																			
<i>C. septicum</i>	+	-	-																			
<i>C. novyi</i>	-	-	-																			
<i>C. histolyticum</i>	-	-	-																			

# Дифференцирующие признаки патогенных клостридий - возбудителей газовой анаэробной инфекции

Вид	Сахаролитические свойства			Разжижение желатина	Рост в молоке
	лактоза	глюкоза	маннит		
<i>C. perfringens</i>	+ (КГ)	+ (КГ)	—	+	Быстрое створаживание («штормовая реакция»)
<i>C. histolyticum</i>	—	—	—	+	Быстрое створаживание и пептонизация
<i>C. novyi</i>	—	+	—	+	Медленное створаживание
<i>C. septicum</i>	+ (КГ)	+ (КГ)	—	+	Медленное створаживание
<i>C. sporogenes</i>	—	+ (КГ)	—	+	Медленное створаживание
<i>C. sordelii</i>	—	+ (КГ)	—	+	Медленное створаживание
<i>C. difficile</i>	—	+	+	+	Не створаживает



*Протеолитические свойства Clostridium perfringens*

*Протеолитические свойства Clostridium perfringens*

Определение лецитиназной активности на ЖСА





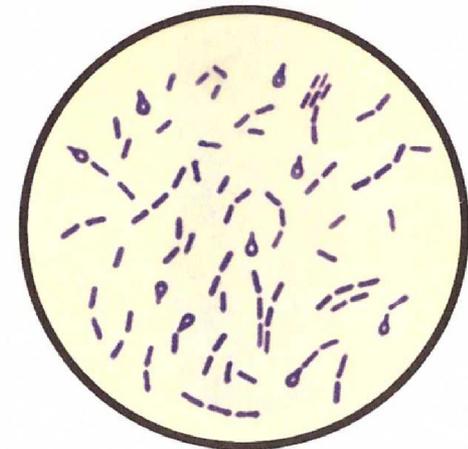
- ◆ *Лечение.* Хирургическим путем удаляют все некротизированные ткани, после чего вводят антитоксические противогангренозные сыворотки с десенсибилизацией по Безредке. Для лечения газовой гангрены используют пенициллин - для подавления размножения клостридий и специфический бактериофаг - для их лизиса. В специализированных клиниках для лечения газовой гангрены применяют гипербарическую оксигенацию (пребывание в камере с повышенным содержанием кислорода под давлением), что препятствует развитию анаэробов.

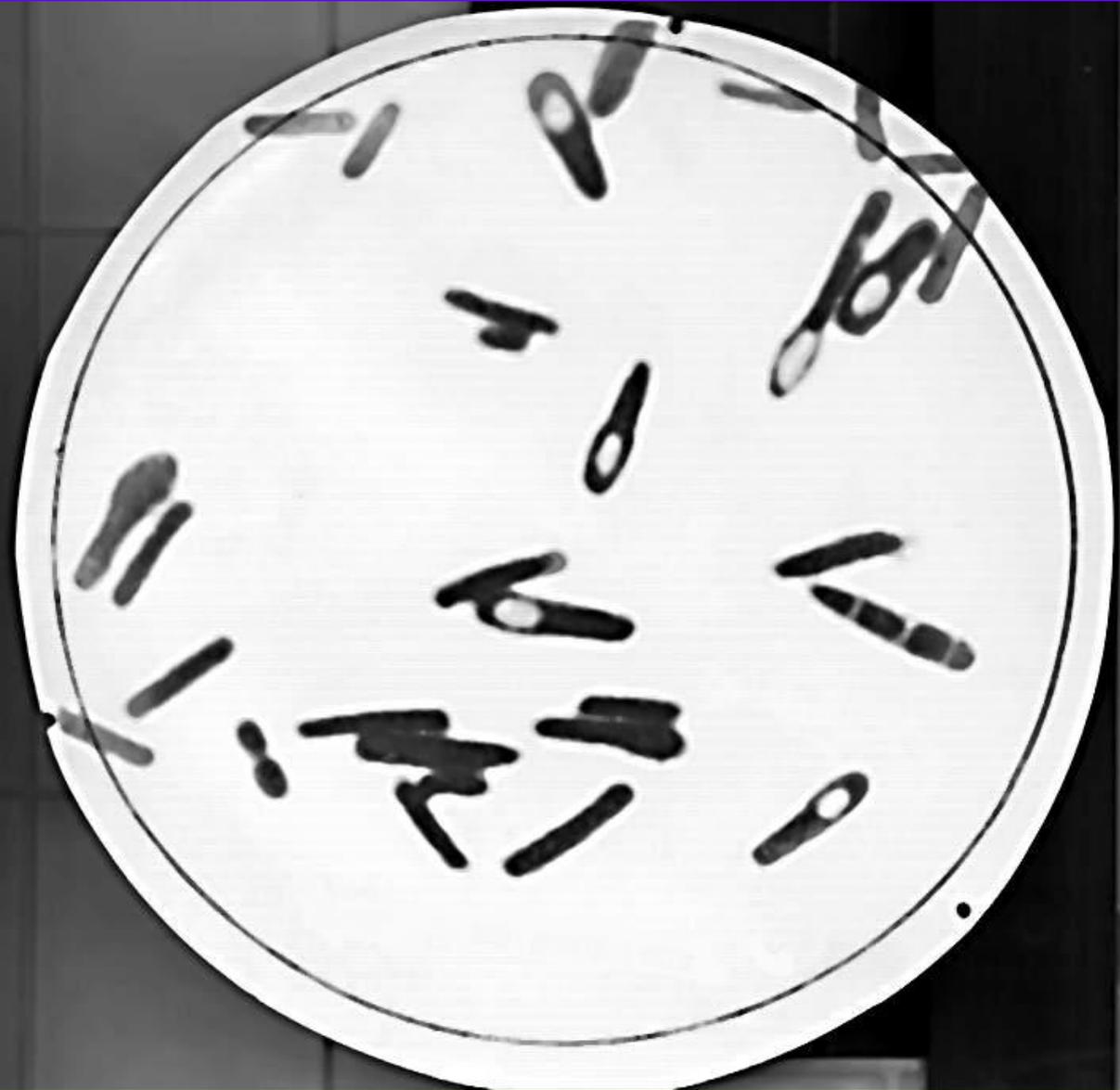


- ◆ *Специфическая профилактика.* Для активной иммунизации применяют анатоксины *Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*. У иммунизированных формируется активный антитоксический иммунитет.
- ◆ *Неспецифическая профилактика* заключается в своевременной и тщательной хирургической обработке ран, удалении некротизированных тканей. Особое внимание должно уделяться соблюдению асептики и антисептики при проведении операций.

# Ботулизм

- ◆ Ботулизм (возбудитель - *Clostridium botulinum*) - острое инфекционное заболевание, характеризующееся преимущественным токсическим поражением центральной нервной системы.



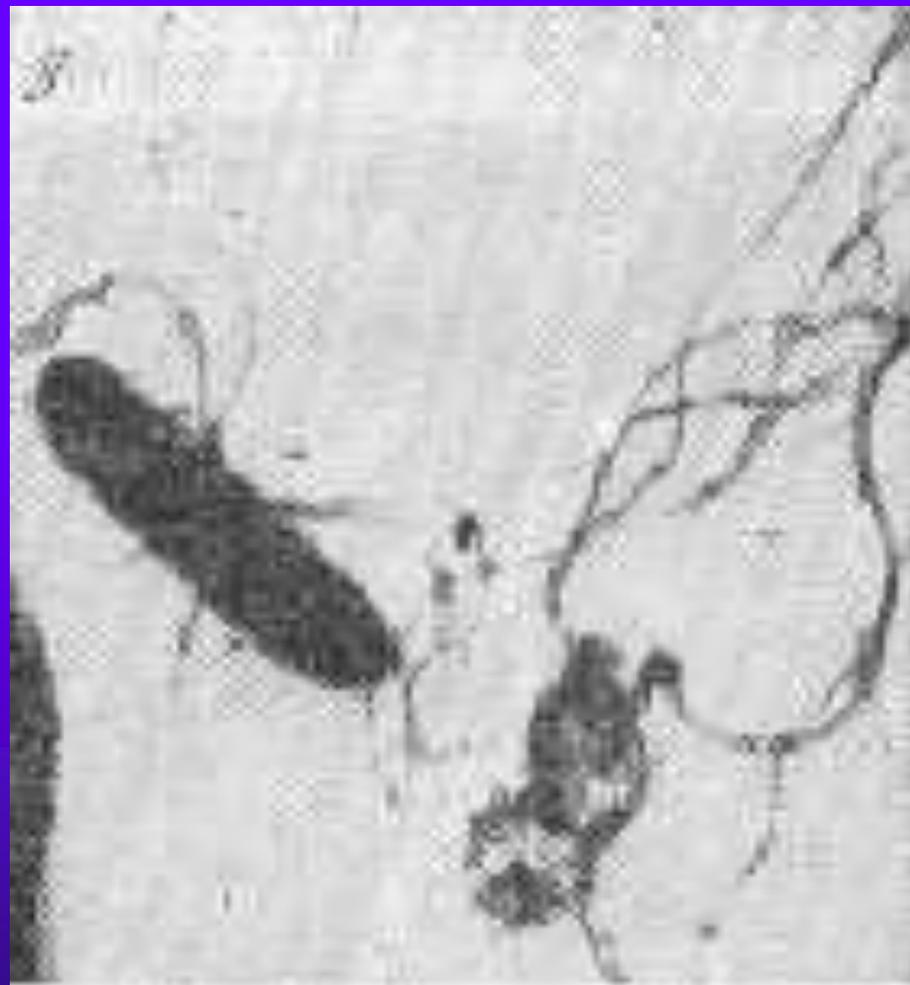


**C. botulinum**

# Морфология и биология.

- ◆ Возбудитель ботулизма - грамположительная палочка длиной 3-9 мкм, шириной 0,6-1 мкм с закругленными концами, имеет жгутики (перитрихи) и образует субтерминально расположенные споры, что делает микроб похожим на теннисную ракетку (рис. 3). *Clostridium botulinum* - строгий анаэроб с оптимальной температурой размножения 27-35 °С. На кровяном агаре клостридии образуют небольшие прозрачные колонии, окруженные зоной гемолиза. Возбудитель ботулизма обладает высокой биохимической активностью.

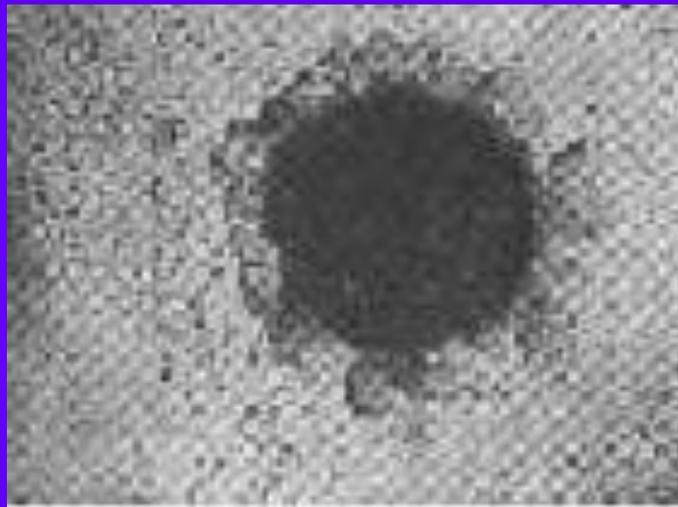




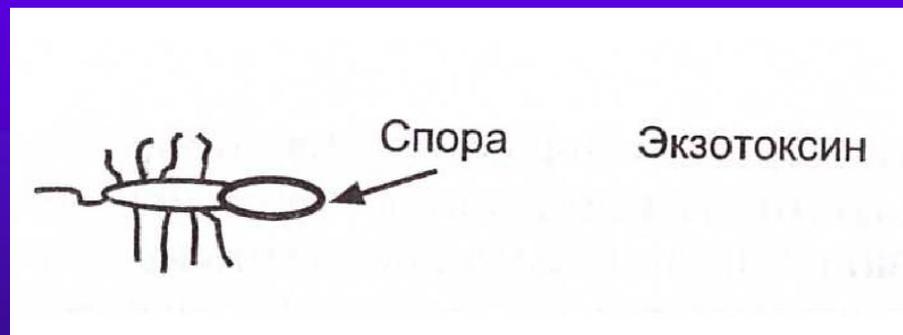
Электронная микроскопия  
*C. botulinum*



- ◆ Клостридии ботулизма широко распространены во внешней среде. Их обнаруживают в организме животных, откуда они с фекалиями попадают в почву или воду. В почве клостридии длительное время (несколько десятков лет) сохраняются в виде спор и могут размножаться. По антигенным свойствам выделяют 8 типов ботулинических токсина: А, В, С<sub>1</sub>, С<sub>2</sub>, D, E, F, G, различающихся по антигенной специфичности. Соответственно различают 8 сероваров возбудителя, одним из важных признаков которых является наличие или отсутствие протеолитических свойств. Эти свойства определяются по способности гидролизовать казеин и продуцировать сероводород.



Колонии *C. botulinum*



Клостридия ботулизма и  
факторы её вирулентности

# *Эпидемиология и клиническая картина.*

- ◆ Заражение человека происходит при употреблении в пищу недоброкачественных консервов (мясных, рыбных или овощных). В анаэробных условиях микроб, попавший в консервы с частицами земли, размножается и продуцирует экзотоксин, которым отравляются люди. Ботулинический экзотоксин является самым сильным бактериальным ядом. Его смертельная доза для человека равна 0,3 мкг.

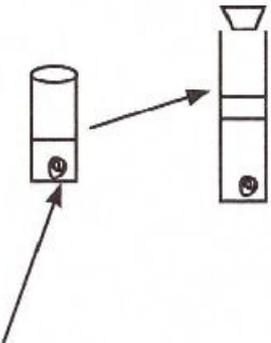


# *Микробиологическая диагностика.*

В анаэробных условиях делают посевы промывных вод желудка, рвотных масс, остатков пищи на плотные питательные среды и накопительную среду Китта - Тароцци. Для подтверждения диагноза ботулизма необходимо обнаружить в объекте исследования грамположительные микробы, похожие по внешнему виду на теннисную ракетку, и идентифицировать их при помощи серологических реакций (реакция пассивной гемагглютинации) или биологической пробы (заражение животных).



## Выделение чистой культуры и идентификация возбудителя столбняка

I день	3-4 сутки	4-5 день	II этап
<p>Исследуемый материал</p>  <p>среда Китта-Тароцци (среда накопления) инкубируют в анаэробных условиях 3-4 суток, наблюдают придонный рост бактерий.</p>	<p><u>Посев на чашку Петри с сахарным кровяным агаром и в столбик сахарного агара в пробирке</u> для получения отдельных колоний.</p> <p>Инкубация в микроанаэроостате, помещенном в термостат при 37° С.</p>	<p>1. макроскопическая характеристика.</p> <p>Тип роста на сахарно-кровяном агаре-нежные прозрачные колонии, окруженные малозаметной зоной гемолиза.</p> <p>2. пересев на среду Китта-Тароцци для выделения чистой культуры.</p>	<p>I. Идентификация чистой культуры.</p> <p>1. идентификация по морфологическим и тинкториальным свойствам.</p> <p>грам+-палочки, терминально расположенные споры.</p> <p>2. по культуральным свойствам.</p> <p>Анаэробы, на сахарно-кровяном агаре-нежные прозрачные колонии, окруженные малозаметной зоной гемолиза</p> <p>3. по биохимической активности – на средах Гисса: сахаролитической активности нет</p> <p>г- Протеолитическая – слабая (образуется индол)</p> <p>II. биологическая проба</p> <p>1. Определение токсигенности – экстрагируют и фильтруют токсин.</p> <p>Контрольной мыши вводят (п/к или в/м у корня хвоста) – фильтрат, смешанный с антитоксической сывороткой.</p> <p>Опытным – фильтрат токсина. Через 1-2 сут. у мышей развивается ригидность мышц хвоста и задних конечностей, хвост поднимается дугой, опытные мыши погибают. ( У животных заболевание протекает по восходящему типу)</p>



Проявления ботулизма у лабораторных  
животных

# Лечение

- ◆ Для лечения ботулизма используют специфические антитоксические противоботулинические сыворотки, полученные от животных, которые вводят больным после десенсибилизации (при проявлении первых признаков ботулизма необходимо ввести поливалентную сыворотку против токсинов А, В, Е до установления серотипа токсина, который вызвал болезнь). Промывают желудок, назначают слабительные. При параличе дыхания необходимо проводить искусственное длительное вентилирование легких. Для детоксикации рекомендуется внутривенное капельное введение раствора глюкозы в физиологическом растворе. Из антибиотиков назначают левомицетин.





- ◆ *Специфическая профилактика* осуществляется по эпидемиологическим показаниям. Иммунизацию людей проводят сорбированным ботулиническим анатоксином. По показаниям в очаге заболевания применяют антитоксическую сыворотку.
- ◆ *Неспецифическая профилактика* - соблюдение правил приготовления домашних консервов, изъятие из употребления недоброкачественных продуктов.

# Возбудители энтеральных кlostридиозов

- ◆ *Clostridium difficile* - грамположительные спорообразующие анаэробные бактерии, представляющие собой палочки длиной до 17 мкм. Споры кlostридий устойчивы к тепловой обработке и способны к длительному переживанию в аэробных условиях. *C. difficile* обладает природной устойчивостью к большинству антибиотиков. Важнейшими факторами патогенности являются энтеротоксин А, цитотоксин В и белок, угнетающий перистальтику кишечника.

