



*Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии*

**Занятие 14** **ПАТОГЕННЫЕ СПОРОВЫЕ  
АНАЭРОБЫ: ВОЗБУДИТЕЛИ  
СТОЛБНЯКА, ГАЗОВОЙ  
ГАНГРЕНЫ, БОТУЛИЗМА.  
НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ  
АНАЭРОБЫ: БАКТЕРОИДЫ,  
ФУЗОБАКТЕРИИ.**

# ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ:

1. Общая характеристика патогенных споровых анаэробов (клостридии): возбудителей столбняка, газовой гангрены, ботулизма.
2. Общая характеристика неклостридиальных анаэробных инфекций: бактериоиды, фузобактерии. Особенности химиотерапии неклостридиальных анаэробных инфекций.
3. Принципы микробиологической диагностики при анаэробных инфекциях.
4. Специфическая профилактика и терапия столбняка, газовой гангрены.

# Таксономия

**Family.** *Clostridiaceae*

**Genus.** *Clostridium*

**Species.** *C.perfringens*,  
*C.novi*, *C.septicum*,  
*C.histolyticum*; *C.tetani*;  
*C.botulinum*;  
*C.difficile*.

# Возбудители газовой гангрены

	Морфологические, тинкториальные свойства	Подвижность	Капсулообразование	Анаэробность
<b>C.perfringens</b>	крупная грамположительная палочка	Нет жгутиков	In vivo образует капсулу	Умеренный облигатный анаэроб
<b>C.novyi</b>	крупная грамположительная палочка	Перитрих	Нет капсулы	Строгий облигатный анаэроб
<b>C.septicum</b>	крупная грамположительная палочка	Перитрих	Нет капсулы	Строгий облигатный анаэроб
<b>C.histolyticum</b>	крупная грамположительная палочка	Перитрих	Нет капсулы	Умеренный облигатный анаэроб
<b>C.sordellii</b>	крупная грамположительная палочка	Перитрих	Нет капсулы	Умеренный облигатный анаэроб

# Морфология

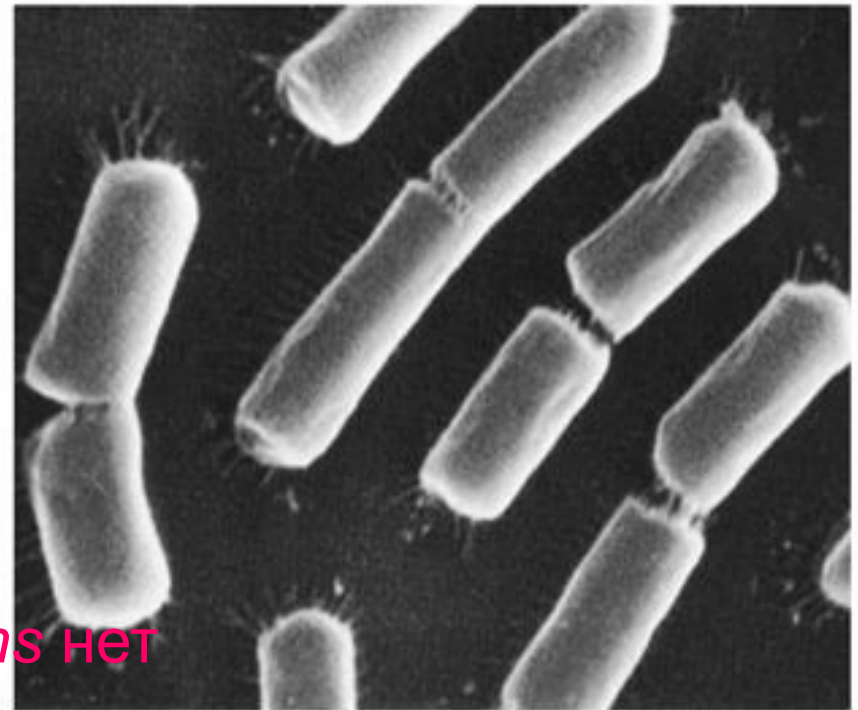
Полиморфные  
грамположительные  
палочки;

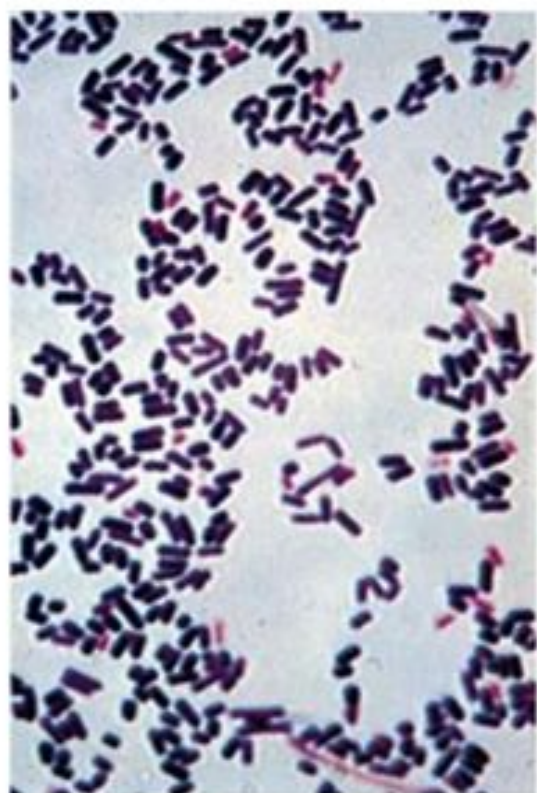
овальные крупные  
споры;

*C.perfringens* –

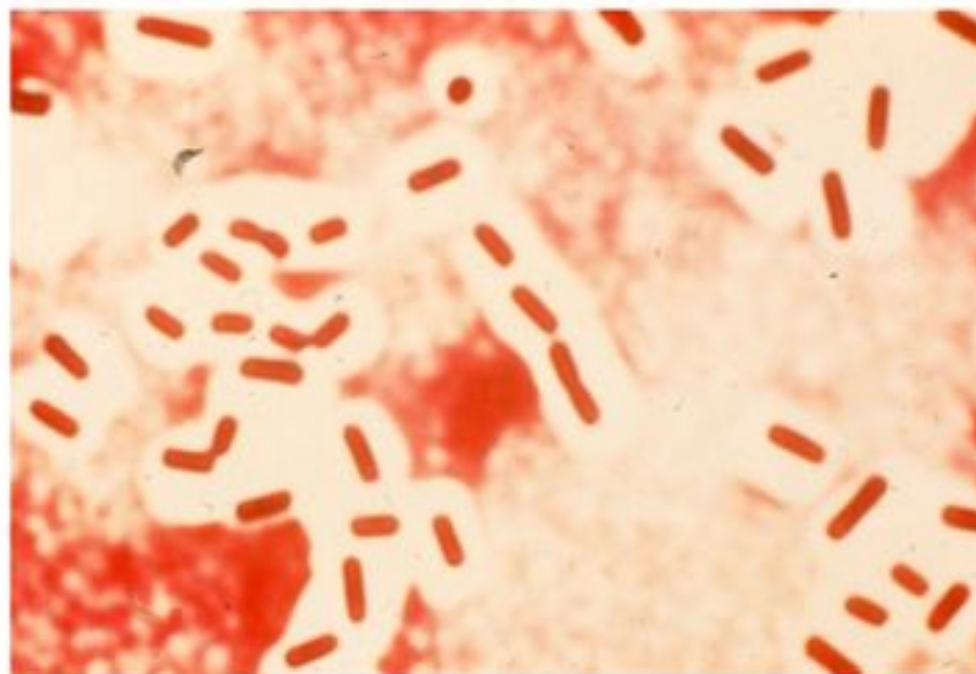
капсула;

Жгутики. - у *C.perfringens* нет

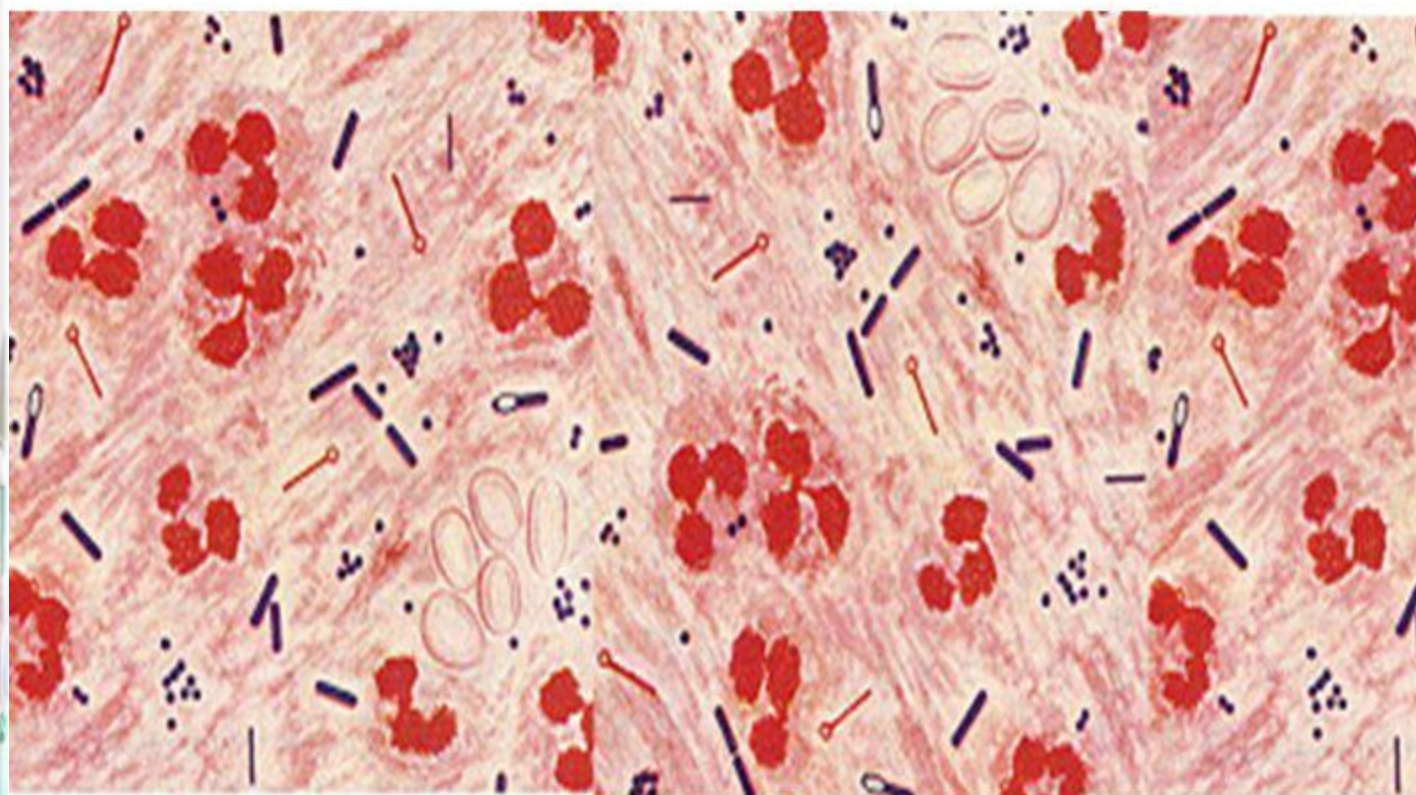




*C. perfringens* (чистая культура) окраска по Граму



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

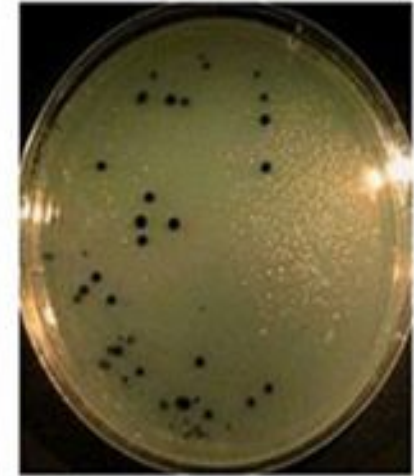


Мазок изгноя при смешанной анаэробной инфекции. Видны как минимум 3 разные кластридии.

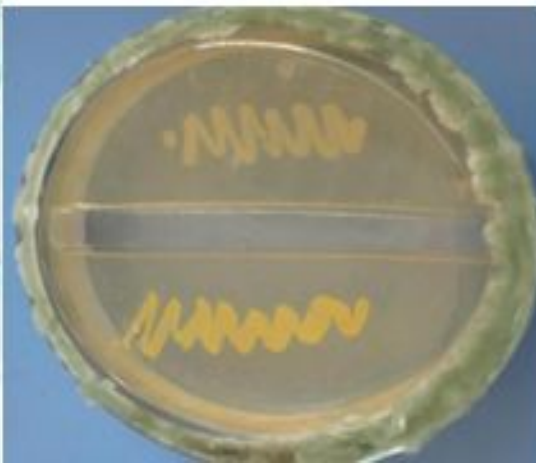
# *Cl. perfringens* культуральные свойства

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

Wilson-Blair agar



Рост на железосульфитном агаре





# Культуральные свойства

Облигатные анаэробы;

R и S-колонии;

гемолиз;

ЖСА – лецитиназа;

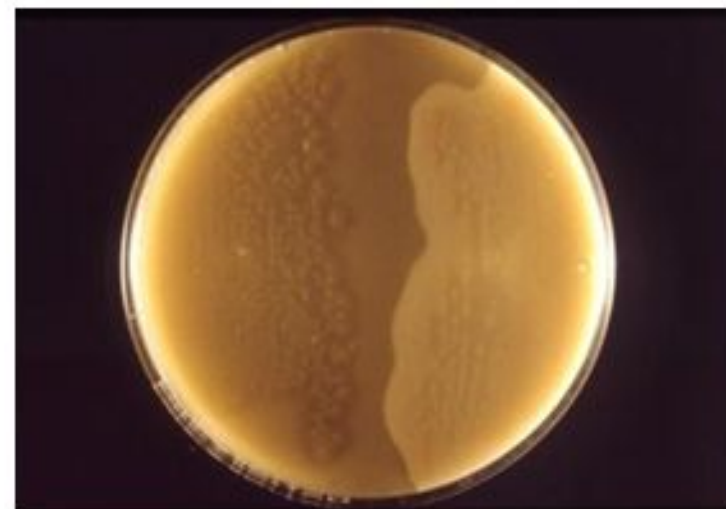
среда Вильсон-Блера;

бурное газообразование;

Высокая гликолитическая,  
слабая протеолитическая  
активность.



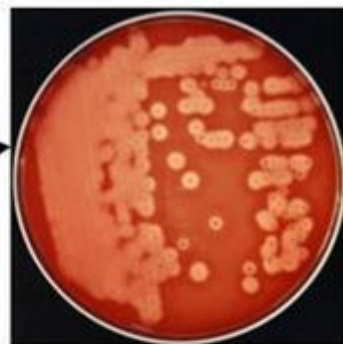
Columbia agar + 5% sheep blood :  
*Clostridium perfringens*.



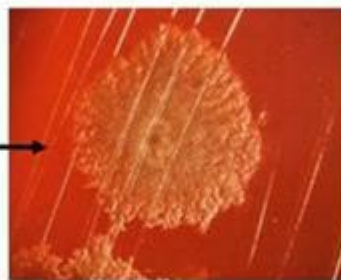
## Differentiation of Clostridia due to culture properties

- Sugar-blood agar:

- *C. perfringens*



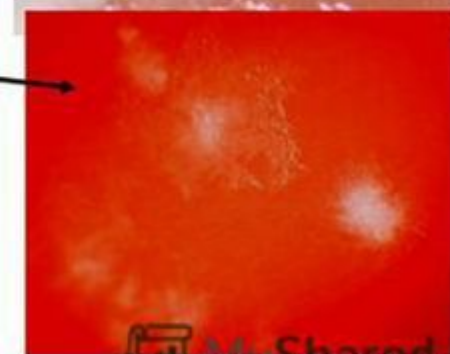
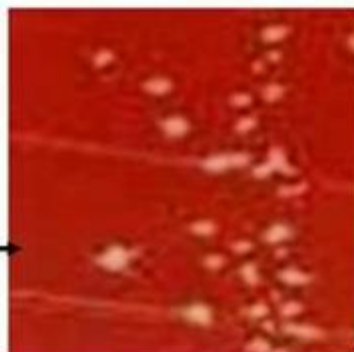
- *C. novyi*



- *C. septicum*



- *C. histolyticum*





Clostridium perfringens

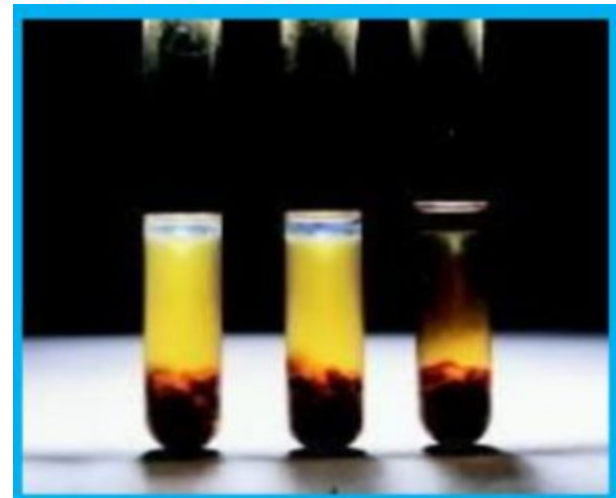
*Клостридии створаживают  
молоко*



Clostridium perfringens  
Thioglycollate & ANABAP

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

Среда Китта- Тароцци



- *Тип дыхания:* облигатные анаэробы;
- *Биохимически активны:* расщепляют углеводы с образованием большого количества газа, высокая протеолитическая активность; масляно-кислое брожение
- *Антигены:* 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*

- **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



## Эпидемиология возбудителя газовой гангрены.

- o *Clostridium perfringens* распространены повсеместно; бактерии выделяют из воды, почвы и сточных вод. Также они колонизируют кишечник животных и человека (выделяют у 25-35% здоровых лиц). У человека возбудитель газовой гангрены вызывает два типа поражений — газовую гангрену и пищевые токсикоинфекции.

## Патогенез

- Газовая гангрена - анаэробная раневая инфекция. обычно развивается после тяжелых проникающих ранений , сопровождающихся нарушением кровоснабжения и загрязнением раны землей; причинами газовой гангрены могут быть хирургические операции и в/м инъекции.
- В месте повреждения размножение клостридий вызывает некроз тканей, усиливающийся распад ткани создает все более благоприятные условия для анаэробных палочек; процесс постоянно интенсифицируется. В кровь попадают токсины и продукты распада тканей – общая 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 смертью

## Gas gangrene

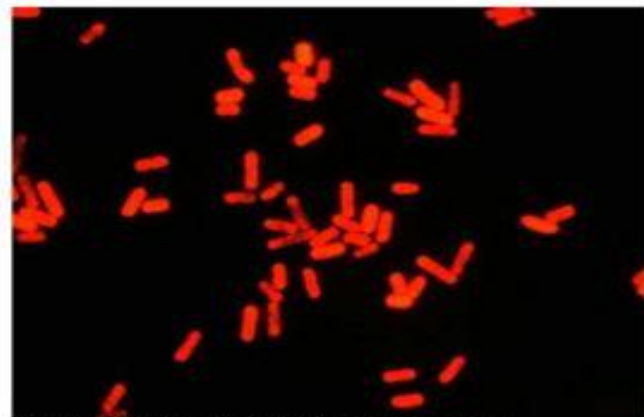


# Лабораторная диагностика

*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

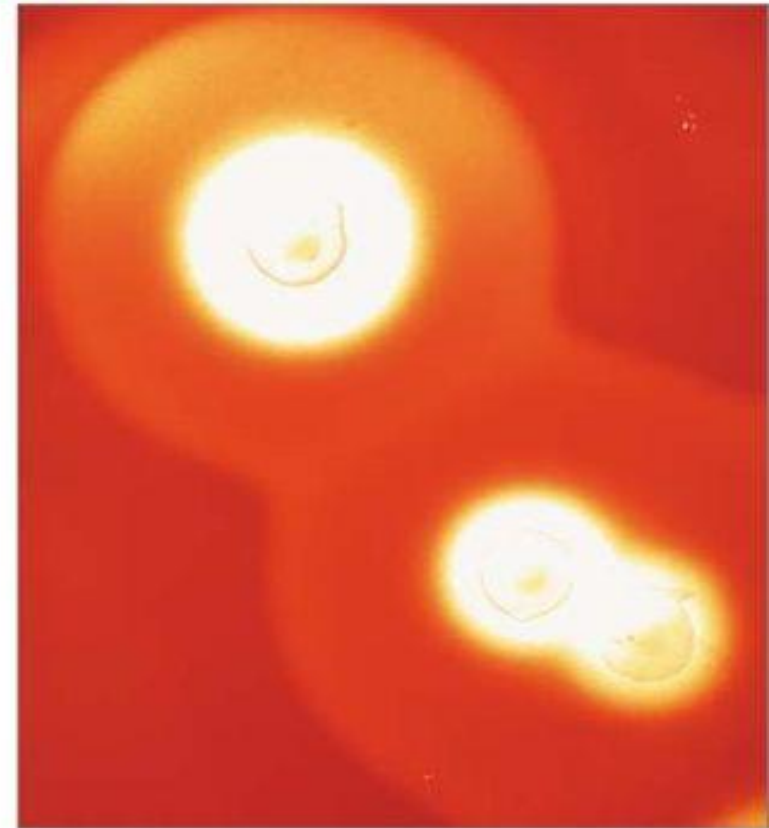
Клостридии

# Лабораторная диагностика

## 2. Бактериологический метод

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

2 этап. Макро- и микроскопическое изучение колоний.



Двойная зона гемоллиза при росте *Clostridium perfringens* на Columbia agar

# Лабораторная диагностика

## 2. Бактериологический метод

3 этап. Биохимическая идентификация на системах API-20A

3. **Биопроба на мышах** – реакция нейтрализации токсина антитоксином



# Лечение и профилактика

Профилактика: обработка ран, асептика и антисептика.

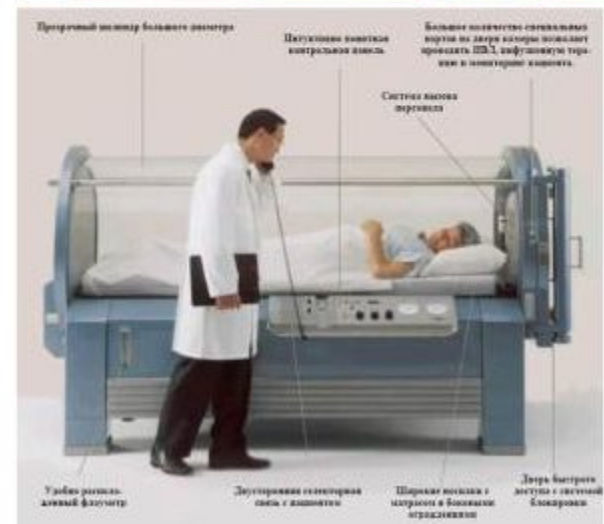
Специфическая профилактика – анатоксин *C.perfringens* и *C.novi* в составе секстанатоксина.

Лечение и экстренная профилактика – антитоксическая поливалентная сыворотка или иммуноглобулин.

Вводят дробно по Безредко.

Лечение хирургическое: удаляют некротические ткани.

Для этиотропного лечения применяют антибиотики (бета-лактамы, аминогликозиды).



# Возбудитель столбняка

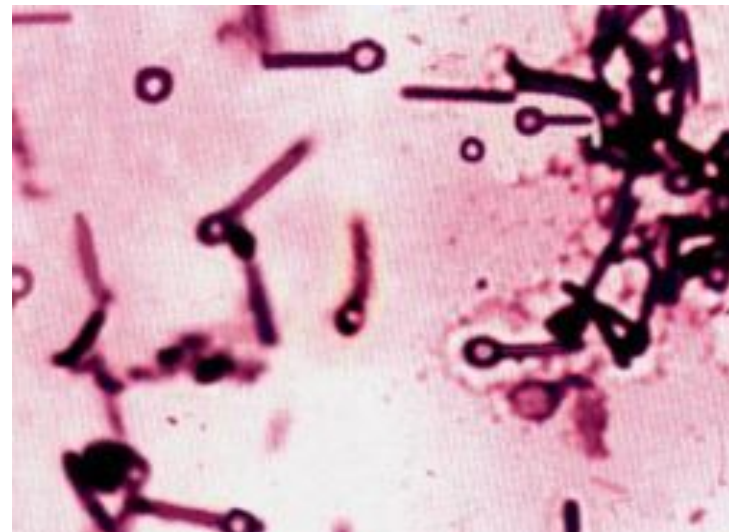
## *Clostridium tetani*

**Столбняк** – тяжелое нейротоксическое заболевание, характеризующееся судорожным синдромом: болезненное сокращение мышц (тетанус), длительное напряжение мышц (мышечная ригидность).



# Морфология

крупные прямые палочки;  
перитрихи;  
капсулу не образуют;  
споры расположены  
терминально  
(барабанная палочка);  
грамположительны, но  
в культуре старше 24 ч  
становятся  
грамотрицательными.





# КУЛЬТИВИРОВАНИЕ

*C. tetani* – облигатный анаэроб;  
культивируют на среде  
КиттаТароцци, сахарном кровяном  
агаре;  
на жидких средах –  
придонный рост;  
на плотных – прозрачные или  
сероватые колонии с  
шероховатой поверхностью;  
на кровяном агаре – гемолиз;  
углеводы не ферментируют, не  
образуют индола,  
восстанавливают нитраты,  
медленно свертывают молоко,  
разжижают желатину.



Colonies of  
*Clostridium tetani*

## Резистентность возбудителя столбняка

- Вегетативная форма бактерий столбняка мало устойчива к воздействию температуры и химических агентов, тогда как их споры обладают значительной устойчивостью.
- Во влажной среде споры выдерживают нагревание до 80 °С в течение 4 - 6 ч и более, при кипячении они погибают через 40-50 мин.
- В сухом состоянии споры переносят еще более высокие температуры, нагревание при 115 °С разрушает их только через 20 мин, споры совершенно не чувствительны к низким температурам. Они годами переносят температуру 40-60 °С,

## Антигенная структура

O-АГ – видоспецифический;

H-АГ – типоспецифический, выделяют около 10 сероваров;

два растворимых АГ – тетанолизин и тетаноспазмин.

## Патогенность

**Тетаноспазмин** – функциональный блокатор, способный соединяться с рецепторами нейронов, прямое влияние на процесс передачи нервных импульсов в головном и спинном мозге.

**Тетанолизин** – мембранотоксин, вызывает гемолиз эритроцитов.

# ПАТОГЕНЕЗ

Источник – животные.  
Механизм передачи – контактный.  
Путь передачи – прямой контакт.  
Входные ворота – поврежденная кожа и слизистых оболочки; ранения, ожоги, обморожения, операционные раны, после инъекций; после родов, у новорожденных («пупочный столбняк» – летальность до 90%); фазы: бактериальная и токсическая; токсин распространяется по кровеносным и лимфатическим сосудам, по нервным стволам, и поражает нервные окончания синапсов;



Тризм



«Сардоническая улыбка»

# Патогенез

Нисходящий тип: тонические сокращения жевательных и мимических мышц, затрудненное глотание, затем тоническое сокращение и спазм мышц затылка, спины, груди и живота. Опистотонус.

Смерть наступает от асфиксии и поражения жизненно важных нервных центров. Летальность 45-50%.



■ На фото опистонус у ребенка.

# Микробиологическая диагностика

У больных не проводится вследствие выраженности клинической картины. Микробиологические исследования лишь подтверждают диагноз.

**Материал:** раневое отделяемое, кровь.

1. Экспресс метод- РИФ.
2. Обнаружение токсина –РНГА.
3. Биопроба на животных- реакция нейтрализации.







# Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная жидкая - АКДС



## Схема вакцинации:

- ❖ профилактика дифтерии, коклюша, столбняка в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок РФ
- ❖ трехкратно с интервалом 1,5 месяца (3 мес - 4,5 мес - 6 мес)
- ❖ ревакцинация в 18 месяцев

# Экстренная профилактика

## Показания:

травмы;  
обморожения и ожоги;  
внебольничные аборты;  
роды вне медицинских учреждений;  
укусы животными;  
проникающие повреждения ЖКТ.



Столбнячный анатоксин (у ранее иммунизированных против столбняка) или столбнячный анатоксин + противостолбнячный иммуноглобулин человека (у непривитых против столбняка), при его отсутствии – противостолбнячная сыворотка.

# Самогенез

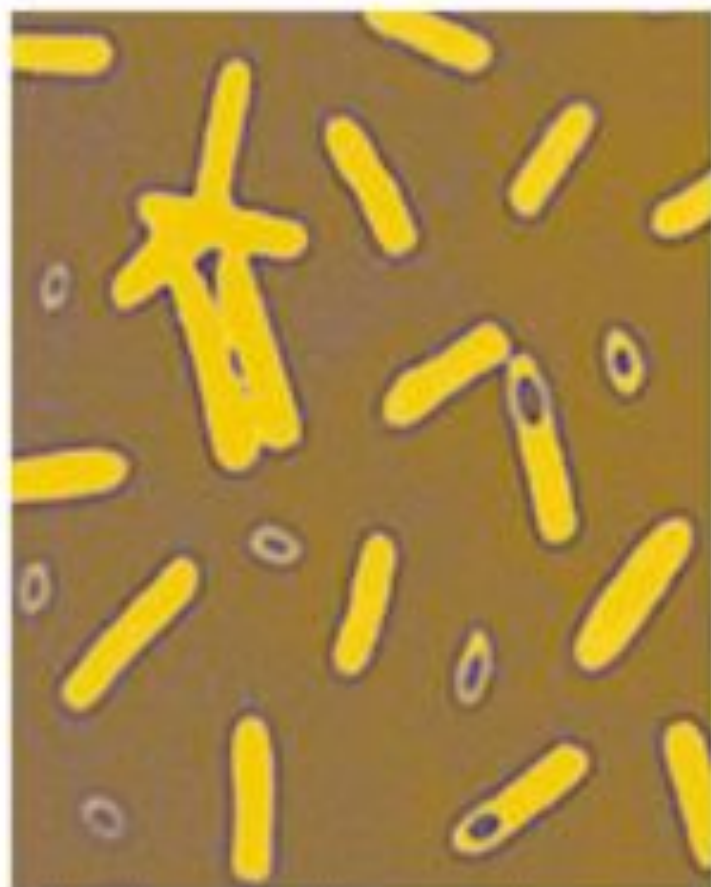
Иммунитет не вырабатывается, хотя столбняк обладает выраженной иммуногенной активностью (быстрое проникновение в нейроны).

От матери, вакцинированной от столбняка, новорожденным передается непродолжительный пассивный анитоксический иммунитет.

# Возбудитель ботулизма

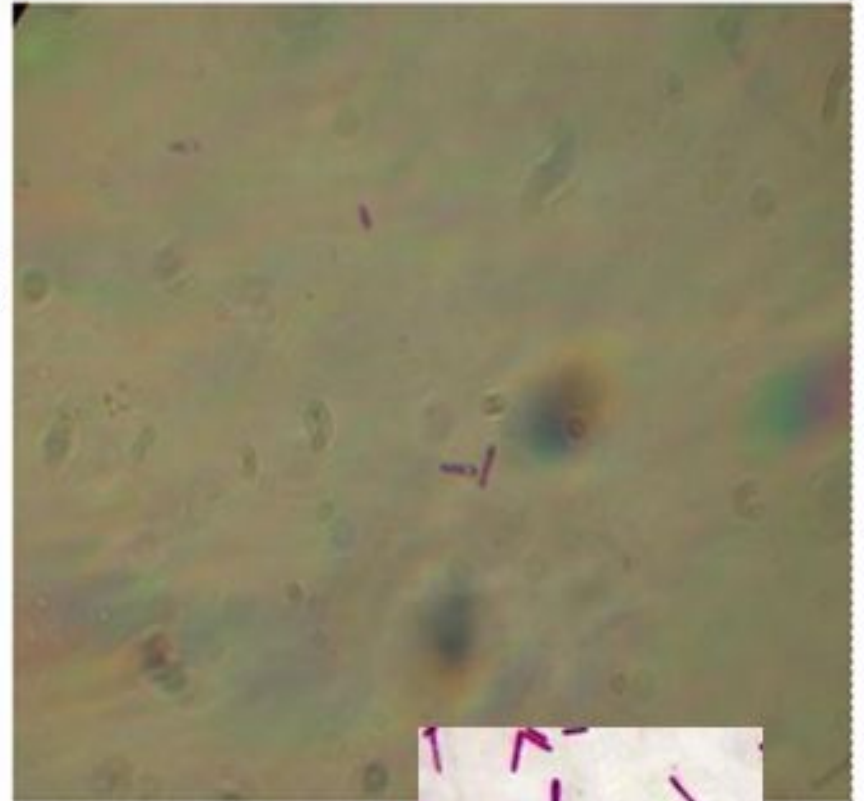
## *Clostridium botulinum*

**Ботулизм** – острое инфекционное заболевание, характеризующееся интоксикацией организма с преимущественным поражением ЦНС.



# Морфология

Полиморфные палочки;  
перитрихально  
расположенные жгутики;  
Субтерминально  
расположенные споры  
(теннисная ракетка);  
выраженной капсулы  
не имеют.



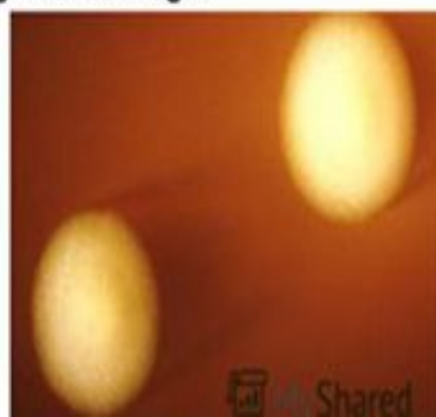
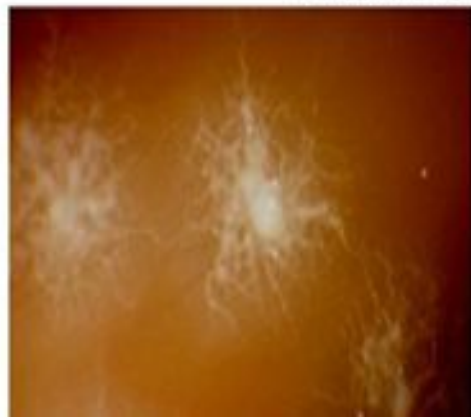
# Культивирование

На глюкозо-кровяном агаре -

небольшие прозрачные колонии с ровными или изрезанными краями, окруженные зоной гемолиза;

- на жидких средах – равномерное помутнение и осадок;
- в высоком столбике сахарного агара – вид пушинок или зерен чечевицы;
- ферментативные свойства непостоянны.

Growth on sugar-blood agar



# Culture



## Резистентность

Особенность ботулотоксина: высокая устойчивость к нагреванию (сохраняется в течение 10-15мин при  $100^{\circ}\text{C}$ ), к кислой среде, высоким концентрациям поваренной соли, замораживанию, пищеварительным ферментам. Оптимальной температурой для токсинообразования является  $22-25^{\circ}\text{C}$ .

---



## Антигенная структура

По АГ токсинов – 7 сероваров: А, В, С, D, Е, G, F. Наиболее распространены А, В, Е.

В США чаще тип А, в Европе – тип В, в странах, где основным источником белка являются морепродукты – тип Е.

Источник инфекции – животные.

Животные → почва → пищевые продукты (консервы) → анаэробные условия → размножение → экзотоксин.

Путь заражения – алиментарный.

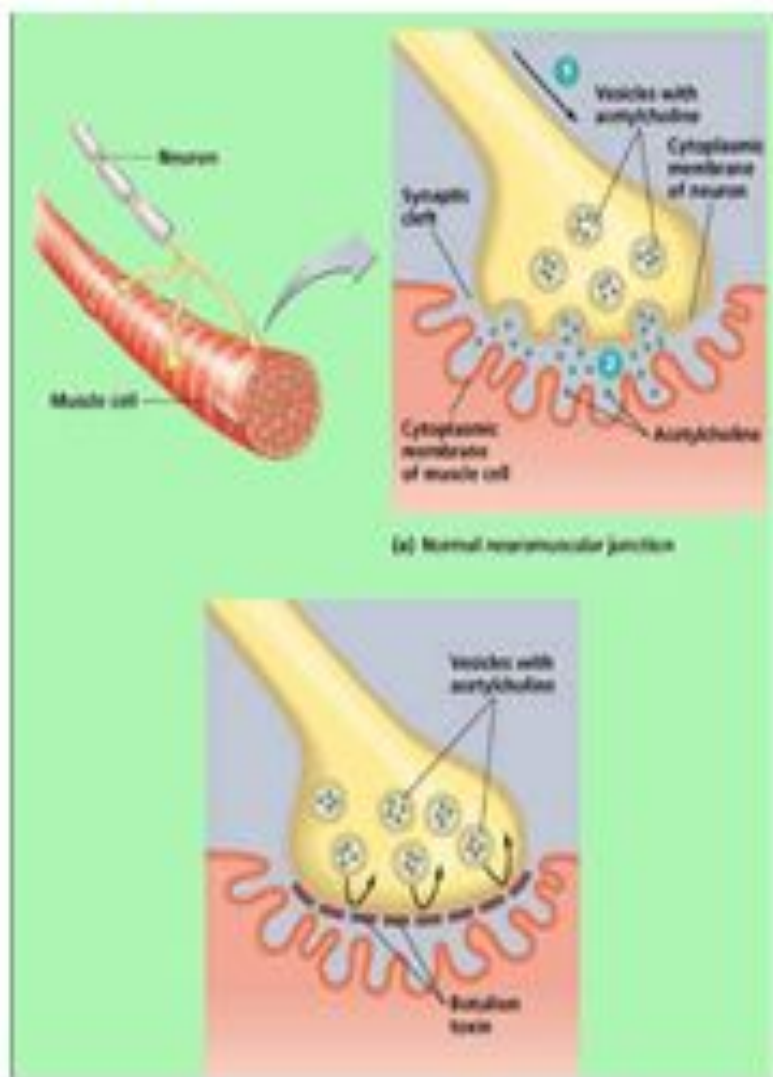
Входные ворота – слизистая ЖКТ.

Ботулинический токсин попадает с пищей в ЖКТ, всасывается в кровь → токсинемия.



# Патогенез

- Токсин блокирует передачу импульсов через нервно-мышечные синапсы → паралич мышц гортани, глотки, дыхательных мышц, нарушение глотания и дыхания; изменения со стороны органа зрения.
- Летальность 40-50%.
- У грудных детей – даже при попадании в ЖКТ спор
- *S. botulinum*, при родах через пупочный канатик (внезапная детская смертность).
- Ботулизм ран.



# Клинические формы



Раневой ботулизм



Пищевой ботулизм



Младенческий ботулизм

# Микробиологическая диагностика

**Материал:** промывные воды желудка, рвотные массы, остатки пищи, кровь.

1. Проводится одновременное выделение возбудителя и определение токсина в исследуемом материале, обязательно определяют серовар токсина.
2. Реакция нейтрализации токсина антитоксической сывороткой на мышах.
3. Определение АТ к ботулотоксину в ИФА.

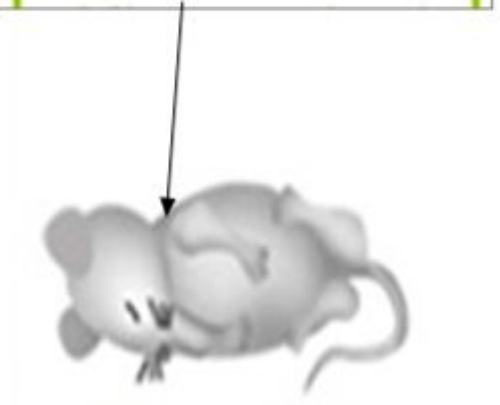
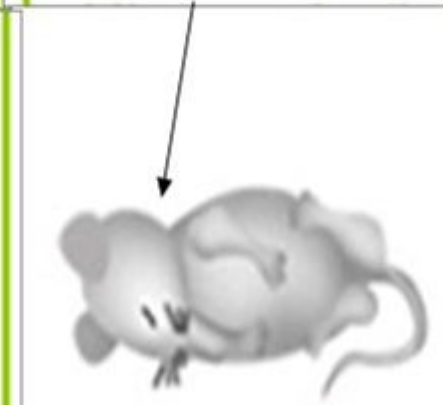
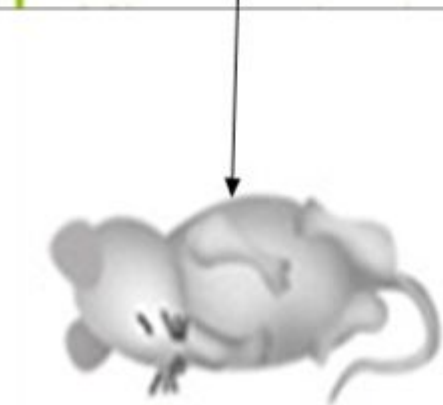
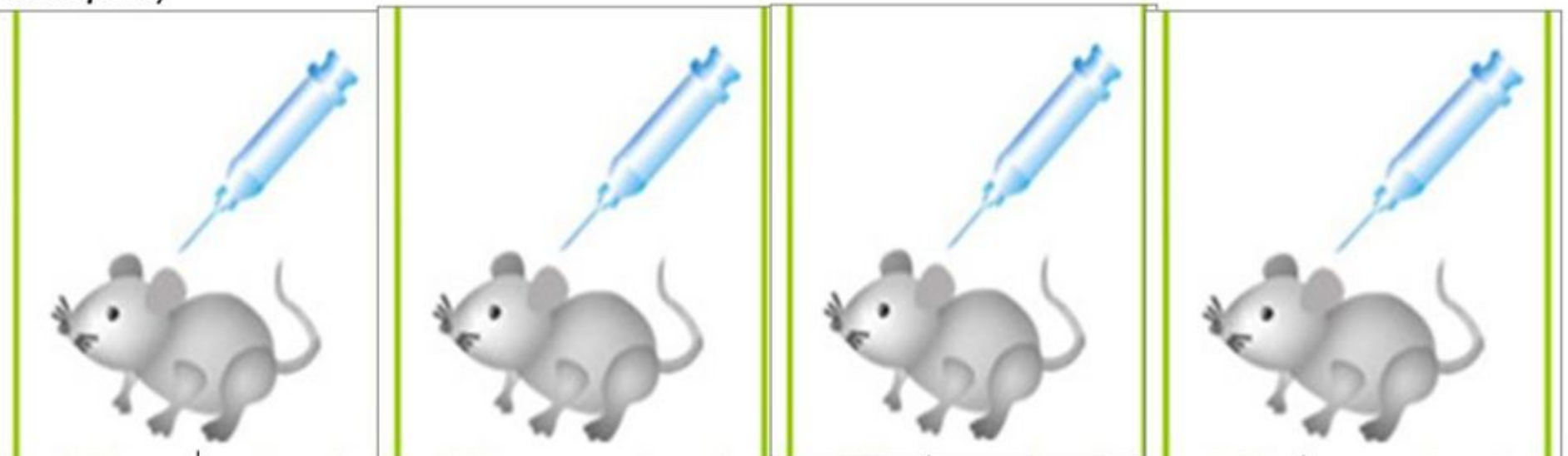
# РЕАКЦИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ТОКСИНА IN VIVO

Контрольная группа  
(вводят исследуемый  
материал)

Исслед.материал + АТ  
против токсина А

Исслед.материал + АТ  
против токсина В

Исслед.материал + АТ  
против токсина Е



Mice died

Mice survived

Mice died

Mice died

# Лечение и профилактика

**Профилактика** – тетра-(три-)анатоксины.  
Курс иммунизации: двукратная вакцинация с интервалом в 25-30 сут и ревакцинация через 6-9 мес, последующие однократные ревакцинации каждые 5 лет.

**Для экстренной профилактики и лечения** – сыворотки противоботулинические лошадиные типов А, В, Е. Вводят дробно, по Безредко.

# Неспорообразующие анаэробы

Грамотрицательные палочки: *Bacteroides*,  
*Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*

Грамположительные палочки: *Propionebacterim*

Грамположительные кокки: *Peptococcus*,  
*Peptostreptococcus*

Грамотрицательные кокки: *Veilonella*

Грамвариабельные микроорганизмы: *Mobiluncus*



Семейство *Bacteroidaceae*

- Род *Bacteroides*

Виды *B.fragilis*, *B.vulgaris*, *B.ureolyticus* и др.

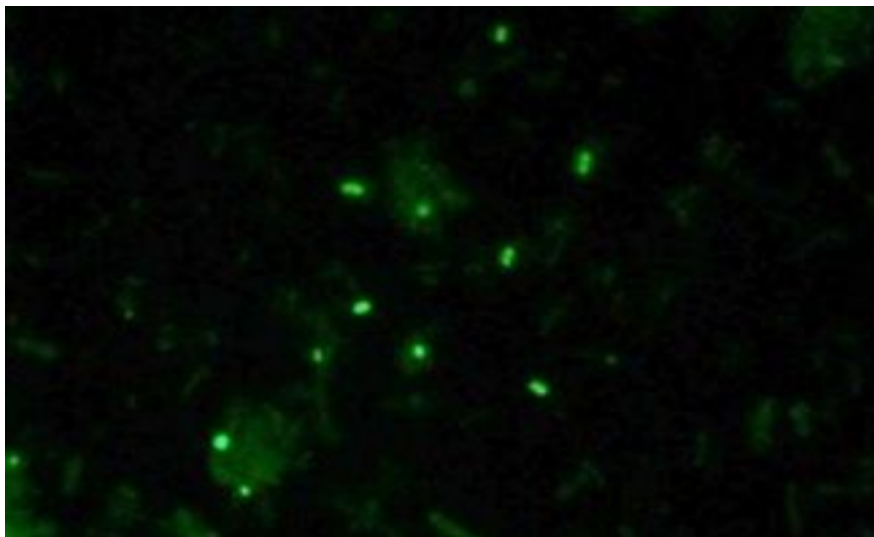
Кроме того, бактероидами принято называть

- Род *Prevotella*

Виды *P.bivia*, *P.intermedia*, *P.melaninogenica*

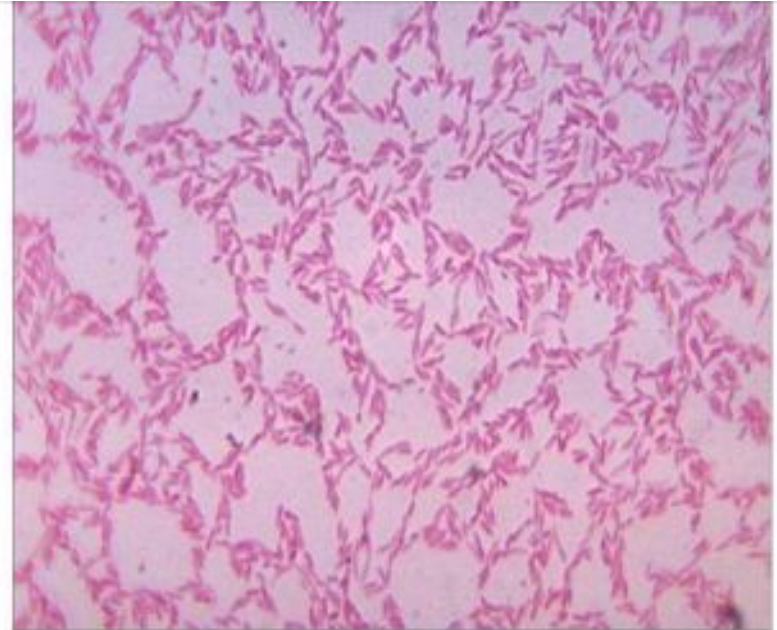
- Род *Porphyromonas*

Виды *P.gingivalis*, *P.endodontalis*, *P.asaccharolytica*



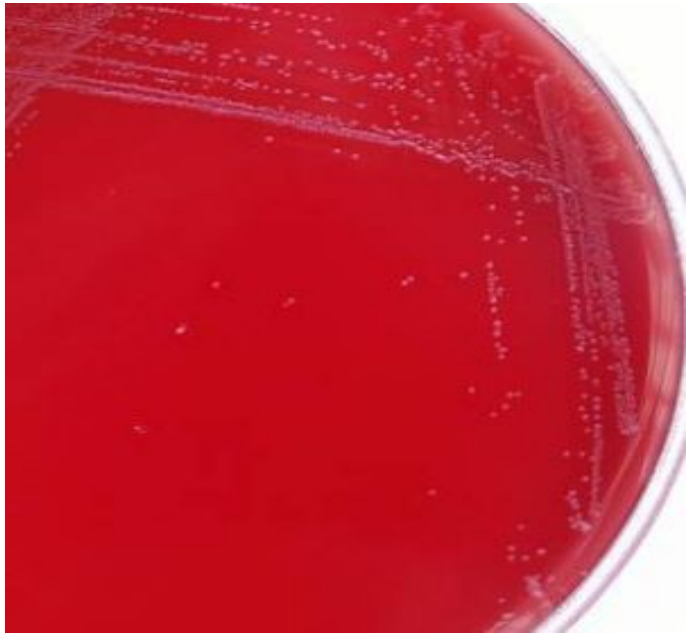
# Морфология

- Гр- палочки с высокой степенью полиморфизма, в мазке располагаются поодиночке, иногда парами
- Строгие анаэробы
- Неподвижные, спор не образуют
- Образуют капсулу



*Бактероиды, чистая культура, окраска по Граму*

- Obligatные анаэробы
- *B. fragilis* образует каталазу и супероксиддисмутазу, поэтому является аэротолерантным
- Хемоорганотрофы.
- Культивируются на средах с низким окислительно-восстановительным потенциалом (с добавлением крови или гемина, витамина К, цистеина, декстрозы), например, КАБ – кровяной агар для бактероидов. Гемолиз не вызывают.



# Факторы патогенности

- Адгезивность: фимбрии и белки наружной мембраны
- Факторы инвазии: нейраминидаза, гиалуронидаза, протеазы ( в том числе IgA –протеаза), липазы, нуклеазы; ферменты, инактивирующие бактерицидные соединения кислорода – каталаза, супероксиддисмутаза; гепариназа – разрушает гепарин и способствует развитию тромбоза
- Токсины: Эндотоксин, отличающийся от ЛПС других Гр- бактерий; действие проявляется в общей интоксикации организма, биологическая активность ниже, чем у ЛПС энтеробактерий
- Антифагоцитарные свойства: полисахаридная капсула (способна сама вызывать развитие стерильных абсцессов)



## Роль в патологии

- Абсцессы органов брюшной полости и челюстно-лицевой области

## Экология

- Являются представителями нормальной микрофлоры кишечника, ротовой полости, влагалища, причем эпитопы различаются по видовому составу;
- Исключительно эндогенная инфекция
- Как правило, смешанная инфекция (пример микробной ассоциации – *B.fragilis*, *E.coli*, *Cl.dificile*)

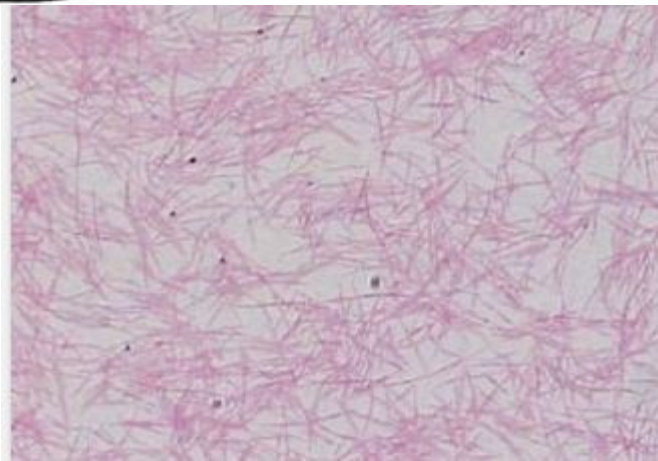
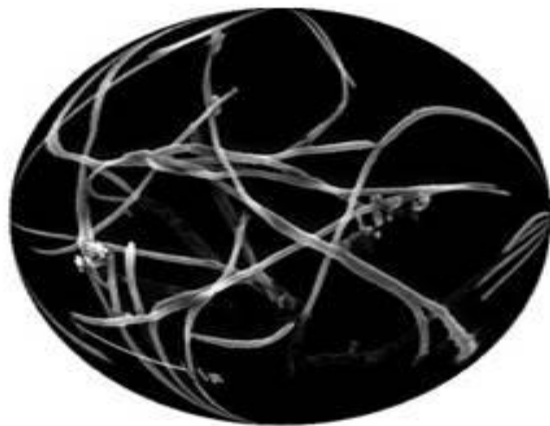
# Чувствительность р. *Bacteroides*

---

- Имипенем
- Хлорамфеникол
- Метронидазол
- Карбенициллин

# р. *Fusobacterium*

- *F. nucleatum* (палочка Плаута)
  - *F. necrophorum* (палочка Шморля)
- Ротовая полость, толстая кишка



# Экологическая ниша



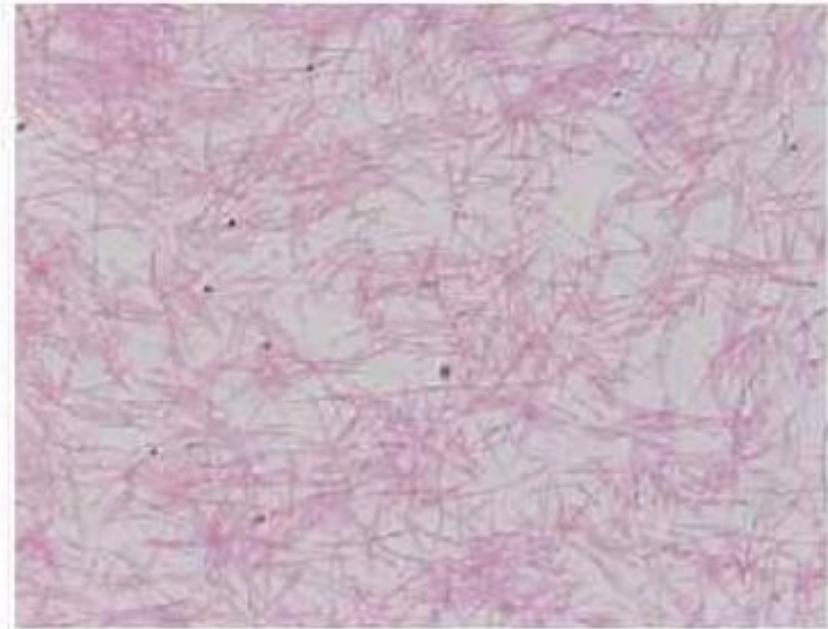
- Слизистая полости рта,
- Верхние дыхательные пути,
- Гениталии,
- Кишечник





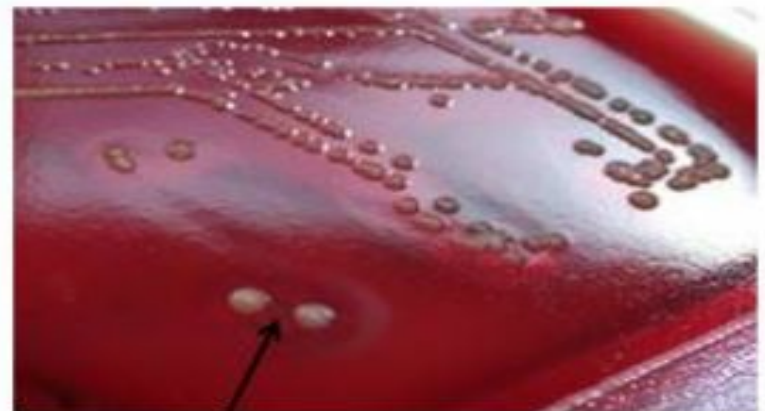
# Морфология

- Полиморфные бактерии, но чаще прямые или искривленные палочки с заостренными концами, напоминающие веретено. Располагаются попарно.
- В жидких средах образуют нити
- В цитоплазме – гранулы (выявляют при окраске по Романовскому-Гимзе).
- большей частью неподвижны, капсул и спор не образуют




# Факторы патогенности *p. Fusobacterium*

- фосфолипаза А (облегчает инвазию бактерий в глубокие ткани),
- лейкоцидин (цитотоксическое действие)



гемолиз



## Заболевания, вызываемые представителями р. *Fusobacterium*

---

- гингиво-стоматит,
- ангина Симановского-Венсана (в ассоциации с трепонемами и боррелиями),
- периодонтиты,
- поражение мягких тканей головы, шеи
- сепсис

# Чувствительность р. *Fusobacterium*

---

- Хлорамфеникол
- Метронидазол
- Пенициллин
- Цефатоксим