

**ГБОУ ВПО «ТИХООКЕАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МЗ РФ**

Кафедра микробиологии и вирусологии

МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ КЛОСТРИДИОЗОВ

д.м.н., профессор Шаркова В.А.



Столбняк — зооантропонозное бактериальное острое инфекционное заболевание с контактным механизмом передачи возбудителя, характеризующееся поражением нервной системы, проявляющееся тоническим напряжением скелетной мускулатуры и генерализованными судорогами



1883 - 1884г.г.— открыт возбудитель
(Н.Д. Монастырский, А. Николайер)

1887г. — выделена чистая культура
возбудителя (С. Сибасабуро Китадзато)

1890г. — получены столбнячный токсин,
противостолбнячная сыворотка (С.
Сибасабуро Китадзато и Э. Беринг)

1923г. — столбнячный анатоксин (Г. Рамон)

Bacillaceae

Clostridium

C. tetani

C. perfringens

C. novyi

C. septicum

C. histolyticum

C. sordellii

C. botulinum



морфология

- Крупная, тонкая палочка с закругленными концами
- Подвижна (перетрих)
- Грамположительна
- Образует крупную, терминально расположенную спору



споры

- В анаэробных условиях, при $t\ 37^{\circ}\text{C}$, наличии питательных веществ, влажности, в присутствии аэробных бактерий прорастают в вегетативные формы



Культуральные свойства

- Хемоорганогетеротроф
- Облигатный анаэроб
- t 35-37⁰ С
- рН 6,8-7,4
- 3-4 дня
- Среды: КА, Вильсон-Блера, Китт-Тароцци
- Колонии R формы, мелкие прозрачные, сероватые со стекляннным блеском (в глубине среды – мелкие колонии в виде кусочка ваты или зерен чечевицы)
- На жидких средах – слабое помутнение, пылевидный осадок на стенках пробирки



Гемолиз вокруг колоний



Рост *P. acnes* на тиогликолевой среде с добавлением Tween – 80, под слоем оливкового масла



Биохимическая активность

Биохимически инертен (не расщепляет углеводы, не проявляет протеолитической активности):

- Разжижает желатин с газообразованием
- Свертывает молоко

Антигенная характеристика

- О-аг – групповой специфический (серогруппы)
- Н-аг – типоспецифический жгутиковый (10 сероваров)

ЭКЗОТОКСИН – отнесен ко II группе патогенности

Фракции токсина:

- **Тетаноспазмин (нейротоксин)** – поражает клетки нервной ткани
- **Тетаногемолизин** – вызывает гемолиз E_r, местный некроз с разрушением фагоцитов
- **Низкомолекулярная фракция** – вызывает усиление секреции медиатора в нервно-мышечных соединениях

Тетаноспазмин (нейротоксин)

- нейтрализуется противостолбнячной сывороткой, неустойчив при нагревании, в щелочной среде, к действию солнечных лучей
- не всасывается в пищеварительной системе, безопасен при пероральном приеме

резистентность

- Вегет. формы при t 60-70⁰ С – 20-30 мин.
- Споры в сухом состоянии – до 150⁰ С,
в морской воде – до 6 мес., в почве, на
предметах – больше 10 лет, дез. средства –
5-6 часов

Источник инфекции – здоровые

животные и человек

Фактор передачи – почва

Механизме передачи - контактный



Источник инфекции – здоровые

животные и человек

Фактор передачи – почва

Механизме передачи - контактный



Патогенез

Входные ворота инфекции – раны (колотые раны, ссадины, занозы)

Споры могут выживать в организме в течение нескольких месяцев, лет, вызывая заболевание после незначительной травмы, изменяющей местные условия.

При некрозе, ишемии тканей в них уменьшается содержание кислорода, что благоприятствует переходу спор в вегетативные формы, быстрому их размножению и образованию токсина в значительной концентрации.

Локализация МКО строго ограничена, токсин же по нервным волокнам попадает в ЦНС.

В крови он сохраняется в течение нескольких дней, проникает в периферические нервные волокна – в спинной, продолговатый мозг и в ретикулярную формацию ствола и распространяется, вызывая клинические проявления, которые купируются самопроизвольно.

Происходит паралич вставочных нейронов полисинаптических рефлекторных дуг.
Вследствие этого импульсы поступают к мышцам некоординированно, вызывая постоянное тоническое напряжение скелетной мускулатуры, в результате возникают судороги.
Повышается возбудимость коры головного мозга и ретикулярных структур, повреждается дыхательный центр и блуждающий нерв.

Генерализация происходит по восходящему типу: ригидность (напряжение) мышц с пораженной конечности распространяется на противоположную, затем – на туловище, шею, голову, затем возникают судороги.

Может возникнуть паралич органов дыхания и сердечной мышцы

Клинические формы столбняка

а) с учетом входных ворот инфекции

- травматический – раневой, послеоперационный, послеродовой, столбняк новорожденных, постинъекционный, столбняк после ожогов, отморожений, электротравм
- столбняк, развившийся в результате воспалительных и деструктивных процессов (язвы, пролежни, распадающиеся опухоли)
- криптогенный (с невыясненными входными воротами)

б) в зависимости от распространенности процесса

- общий или генерализованный
- местный

Клиническая картина

Инкубационный период – от 1-4 дней до 30 дней (чаще 5-14)

Продромальные явления: головная боль, повышенная раздражительность, бессонница, зевота, боли в горле при глотании, боли в спине, потливость, напряжение и подергивание мышц в окружности раны.

Клиническая картина

Начало болезни острое

- тупые ноющие боли в области входных ворот, где нередко уже происходит полное заживление раны
- тризм – напряжение и судорожное сокращение жевательных мышц (зубы крепко сжаты)
- сардоническая улыбка (risus sardonicus) – лоб в морщинах, рот растянут в ширину, углы опущены (в результате судорого мимических мышц)
- затруднение глотания (спазм мышц глотки)



- tetanus acrobaticus (болезненная ригидность мышц затылка, шеи, спины), живота, конечностей



Вследствие резкого спазма мышц спины голова запрокидывается, больной выгибается в виде арки, опираясь только пятками и затылком (опистотонус)



Причина летального исхода:

- асфиксия вследствие спазма дыхательных мышц, голосовой щели и диафрагмы
- паралич сердечной мышцы
- инфаркт миокарда, пневмонии, сепсис, эмболия легочных артерий и др.

Материал исследования

- содержимое раны
- кусочки ткани с пораженного участка
- инородные тела в ране
- перевязочный, шовный материал
- почва
- секционный материал

Методы исследования

- микроскопический
- биологический
(определение токсина)



-бактериологический
(ср. Китт-Тароцци,
препарат, био проба) –
МОК выделяется в 30%
случаев

Иммунитет

- постинфекционный не развивается
- поствакцинальный - антитоксический



Лечение

- госпитализация
- удалить из раны некротизированные ткани и инородные тела
- вскрыть слепые карманы, обеспечить отток раневого отделяемого
- изолировать от шума, обеспечить покой
- хирургические манипуляции проводят под наркозом

Противостолбнячная сыворотка не нейтрализует фиксированный в ЦНС столбнячный токсин и мало влияет на развившиеся симптомы.

Однако при раннем введении частота летальных исходов при легком и среднетяжелом течении болезни значительно снижается



Противостолбнячный
человеческий
иммуноглобулин

антибиотики показаны с учетом
чувствительности к ним
микрофлоры



Профилактика

- профилактика травм
- специфическая профилактика (плановая и экстренная)

Ассоциированные вакцины
АКДС, АДС

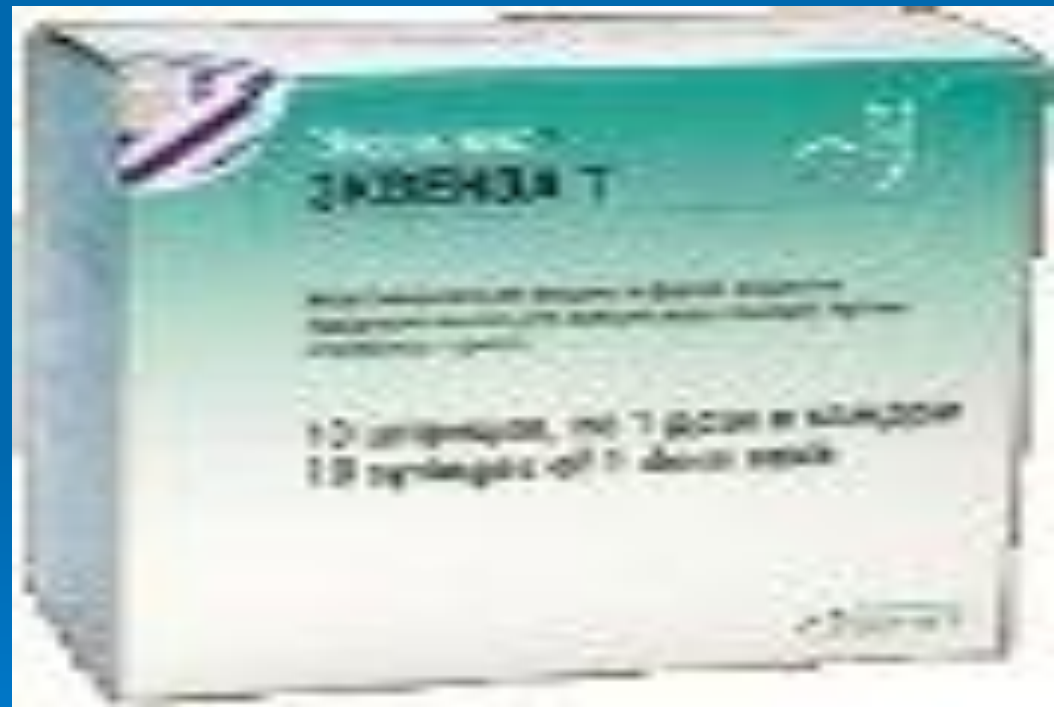




АКДС+полиомиелит, АДС



ТетраАкт-ХИБ вакцина для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша и ХИБ



Вакцина против столбняка и гриппа
(Эквилис Эквенза)

ТЕТРАКОК ВАКЦИНА (для профилактики коклюша, столбняка, полиомиелита)



Вакцина против дифтерии, столбняка и гепатита В

Этап изготовления вакцины



Экстренная профилактика применяется при

- ранениях и травмах
- операциях на ЖКТ
- ожогах и обморожениях II-IV степени
- родах и абортах вне мед. учреждений
- гангрене или некрозе тканей, пролежнях
- укусах животных



Газовая гангрена - анаэробная раневая инфекция, возникающая в результате попадания в раны МКО после травм, ранений с явлениями отека тканей, сильного газообразования в них, общей интоксикацией, «гемолитической анемии»

C. perfringens типа А открыли американские патологи У. Уэлч и Г. Наттелл (1892)

Чистую культуру получили французские бактериологи А. Вейон и Ж. Жубер (1893)

C. sporogenes (И.И. Мечников, 1908), *C. oedematiens*, *C. fallax* и *C. histolyticum* (Вейнберг и Сэгэн, 1915, 1917), *C. sordelli* (Р. Сордёлли, 1922).

Bacillaceae

Clostridium

C. tetani

C. Perfringens типы A, B, C, D, E, F

C. novyi

C. septicum

C. histolyticum

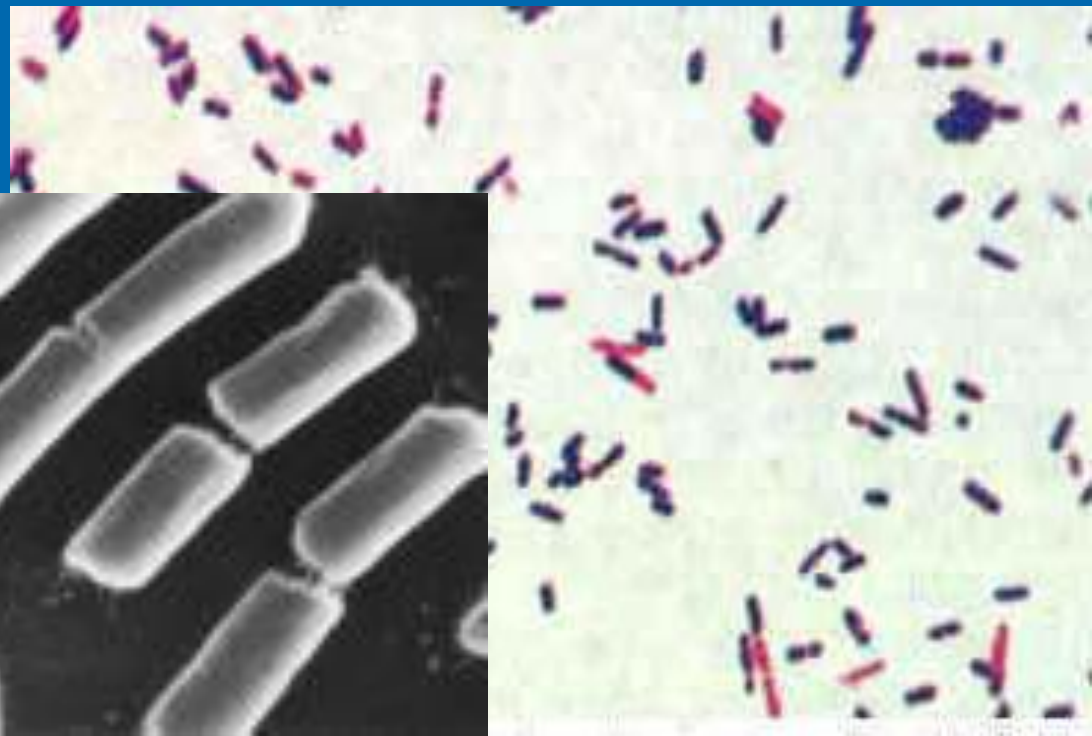
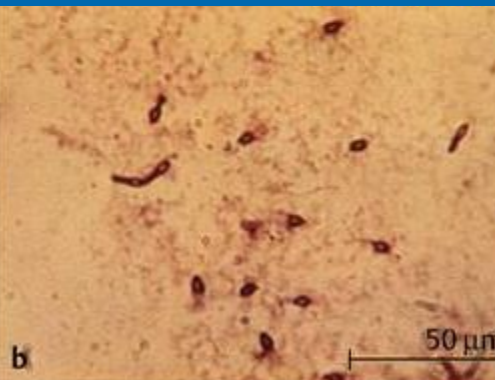
C. Sordellii

C. fallax

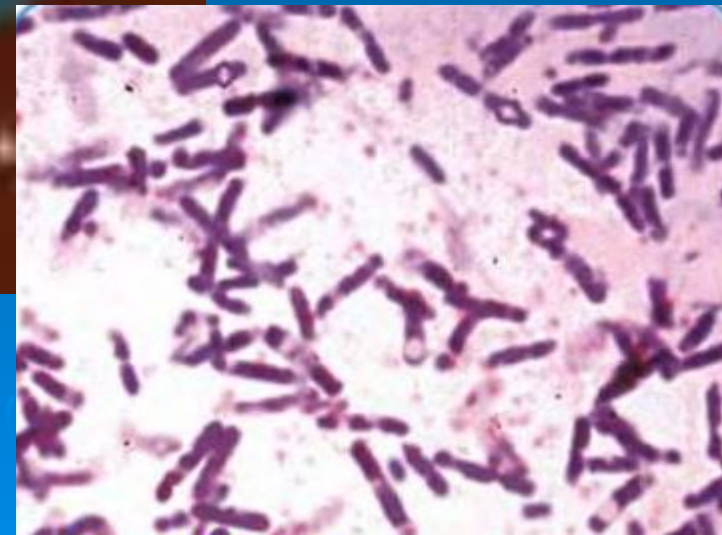
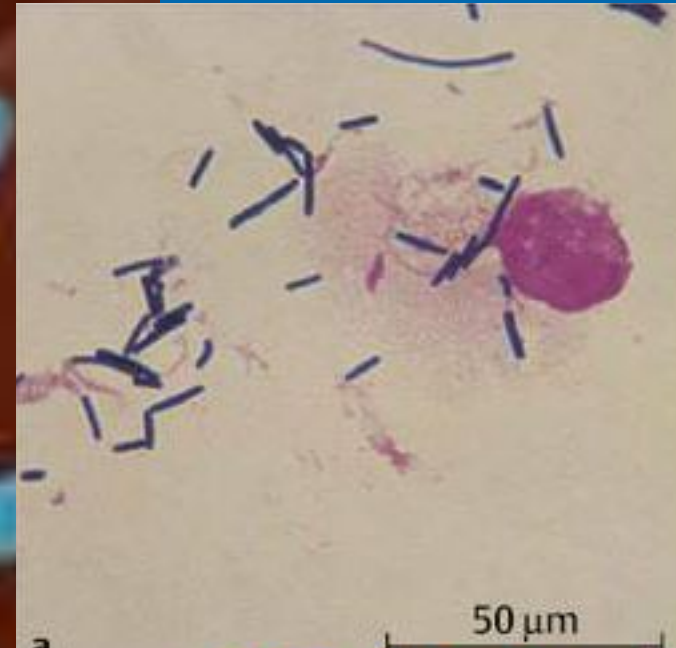
C. botulinum

морфология

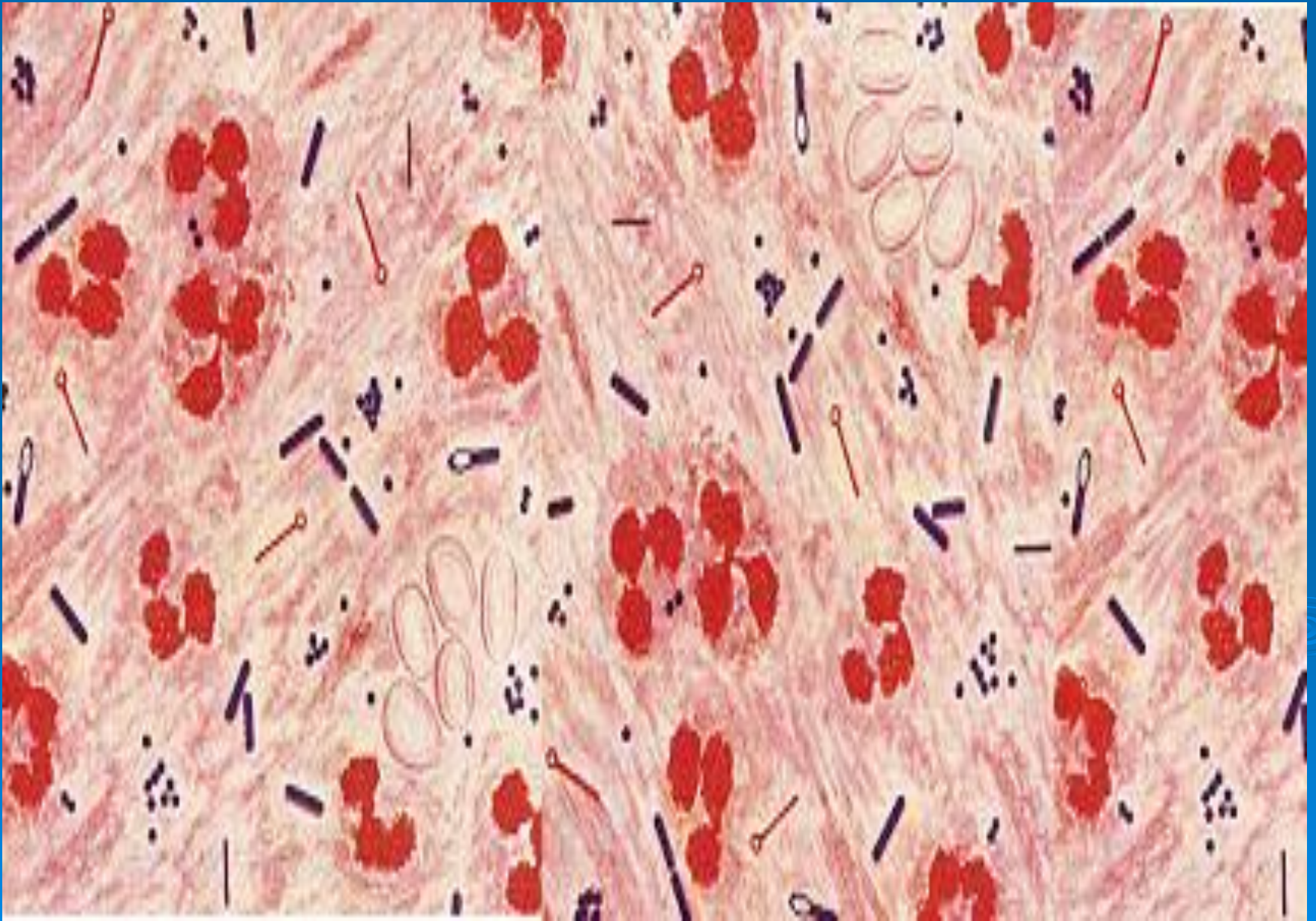
- Крупная палочка (полиморфна: короткие, длин, толст, нитевидн)
- Жгутиков не имеет
- Грамположительна (старые- Гр-)
- капсулообразующие
- Образуют центральные или субтерминальные споры



Cl. perfringens

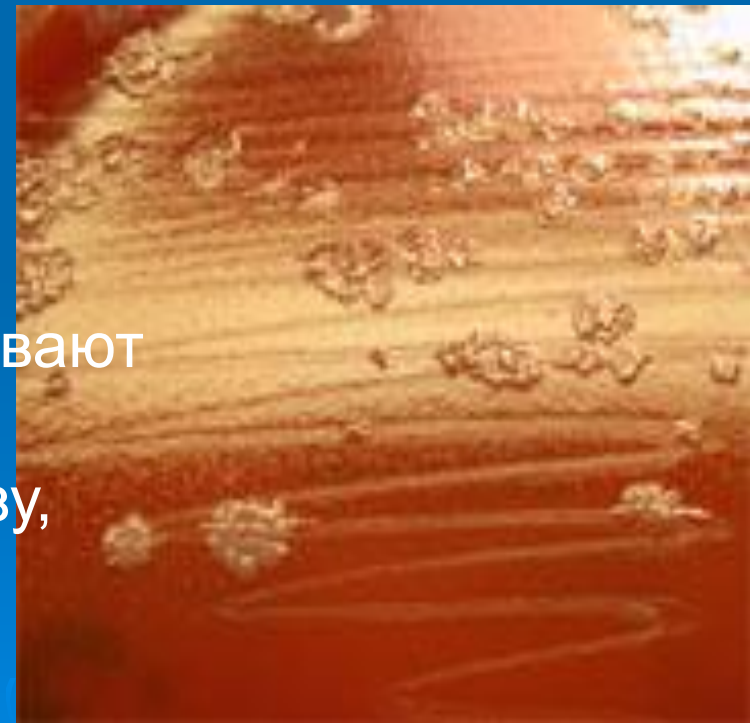


three different clostridia



Культуральные свойства

- 37-43 град
- среды из гидратизатов мяса или казеина
- на жидких ср – 3-8 час с газообразованием
- S – в виде зерен чечевицы , с блестящей поверхностью, б/капсульные
- M - куполообразные, слизистые, капсульные
- R – неровная бугристая поверхность
- на КА – зона гемолиза, на воздухе – зеленоватая окраска
- протеолитическая активность: свертывают молоко 2-7 дней, разжижают желатин
- сбраживают до К и Г глюкозу, галактозу, лактозу, левулезу, мальтозу, сахарозу,
- не ферментируют маннит
- индол не образуют



C. difficile colonies on blood agar

Деление на 6 типов основано на способности вырабатывать по своим АГ св-вам летальные и некротические токсины

Различные типы в-ля вызывают определенные заболевания у чел и животных:

А – колонизирует к-к в естественных условиях (газовая гангрена, пищевые токсикоинфекции)

В – кишечные явления у ягнят

С и **Е** – некротический энтероколит у чел., крупного рогатого скота

Д – энтеротоксемия у животных

Факторы патогенности

- экзотоксин – 6 типов (A B C D E F)
- 14 факторов с летальной и гемолитич активностью токсинов (ферментов) и энтеротоксин:
 - р-, у-, п-, сигма-, е-, G- и I-токсины обладают летальным свойством
 - α – расщепляет фосфолипиды клеточных мембран (лецитиназа), фактор внутрисосудистого гемолиза, ф-р внутритканевой инвазии
 - тета – перфринголизин (О-стрептолизин)
 - каппа – коллагеназа
 - μ- гиалуронидаза
 - γ – ДНКаза

Токсичность не доказана

Мишени для основных токсинов — биологические мембраны в различных тканях. Поражения обуславливают ферментативные процессы, катализирующие гидролитическое расщепление и нарушение клеточной проницаемости с последующим отёком и аутолизом тканей, характерным для газовой гангрены.



ферменты с выраженным токсическим действием -----

а-Токсин (лецитиназа С) - Производят все типы *Clostridium perfringens*, наиболее интенсивно тип А. Проявляет дерматонекротизирующее, гемолитическое и летальное (убивает лабораторных животных при внутривенном введении) действие.

б-Токсин возбудителя газовой гангрены- Основные продуценты — бактерии типов В и С. Проявляет некротизирующее и летальное действие; гемолитического действия не оказывает. *In vivo* вызывает развитие некротических энтеритов;

сигма-Токсин - Основные продуценты — бактерии типов В и С. Проявляет летальное действие и гемолитическую активность (лизует эритроциты барана, но не эритроциты кролика или лошади).

омега-Токсин - Основной продуцент — *C. perfringens* типа С; бактерии типов А, В, D и Е образуют его в меньших количествах. Проявляет дерматонекротизирующее, летальное действие и гемолитическую активность (разрушает эритроциты барана и лошади).

е-Токсин продуцируют бактерии типов В и D, -----
I-токсин — бактерии типа E. Проявляют летальное и дерматонекротизирующее действие.

к-Токсин (коллагеназа и желатиназа)- Продуценты — бактерии типов А, С, Е и некоторые штаммы типа D. Разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани. Оказывает летальное и некротизирующее действие. лямбда-Токсин (протеиназа). Проявляет активность экзоэнзима, обуславливающего некротические свойства. Расщепляет денатурированный коллаген и желатину; во многом напоминает действие фибринолизина.

у- и п-Токсины - Оказывают летальное действие на лабораторных животных; их биохимическая природа остаётся неизвестной.

и и v-Токсины -(гиалуронидаза и ДНКаза).

р-Токсин клостридий (возбудителя газовой гангрены) ответственен за повышение проницаемости тканей.

v-Токсин возбудителя газовой гангрены расщепляет нуклеиновые кислоты, тем самым нарушая реакции белкового синтеза.

Резистентность

- токсин – 100град 30-60 мин
- в содержимом к-ка токсины активны до суток
- МКО ингибирует O₂, солнечный свет, ↑ t, к-ты, щелочь, спирт, дез. Ср-ва, а/б
- споры – до 6 часа автоклавирования

Резервуар – кишечник домашних травоядных животных

Входные ворота – травматические отрывы конечностей,
разможенные раны

Реже – инородные тела, ранения толстого к-ка




Размножение МКО – в бескислородной среде, с газообразованием. Питательная среда – омертвевшие мышцы и другие ткани в ране

В зоне травматического (ишемического) некроза МКО размножаются с продукцией α -токсина, ферментов.
Они расширяют зону некроза, убивая здоровые клетки и мышечные ткани (α), разрушают соединительнотканый матрикс (коллагеназа)



некротизация сосудов, отек, отсутствие нейтрофилов



гемолитическая почечная недостаточность, гипотония периферических сосудов



let

Симптомы

- распирающие боли в ране
- отек конечностей
- кожные покровы бледные, с синюшным оттенком, крепитация в подкожной клетчатке
- выраженная интоксикация



Лечение

- поддержание сердечной деятельности
- борьба с интоксикацией

Основной м/д – хирургический

- Оксигенобаротерапия

- Антибиотикотерапия (бензилпенициллин)

- Альтернативные: цефтриаксон, метронидазол, эритромицин, линкозамиды

- Противогангренозная лошадиная сыворотка



Материал для исследований:

- биоптаты поражённых тканей (включая участки, примыкающие к очагам некроза, и отёчную жидкость)
- перевязочный и шовный материал,
- Одежда
- образцы почвы
- при пищевых токсикоинфекциях — испражнения и продукты

Основу диагностических мероприятий составляют выделение и идентификация возбудителей и их токсинов



Жидкие среды (Китта-Тароцци): накопление возбудителей

С жидких сред - пересев на плотные среды

При подозрении на смешанную флору исследуемый материал разделяют на две части: Одну засевают на жидкие среды без прогревания, вторую прогревают после посева, для выделения клостридии из термоустойчивых спор.

Плотные среды: агар Цейслера, КА с бензидином и среда Уйлсона-Блэра

На КА с бензидином колонии *C. novyi* быстро чернеют на воздухе. На среде Уйлсона-Блэра *C. perfringens* через 4-5 ч вызывает почернение столбика среды за счёт образования сульфида железа из Na_2S и FeCl_3 , а также её разрывы вследствие образования CO_2 из глюкозы



- Для обнаружения токсинов проводят заражение белых мышей вытяжкой из исследуемого материала, фильтратами бульонных культур или кровью больных. Идентификацию токсинов проводят в РН со специфическими анитоксическими антисыворотками



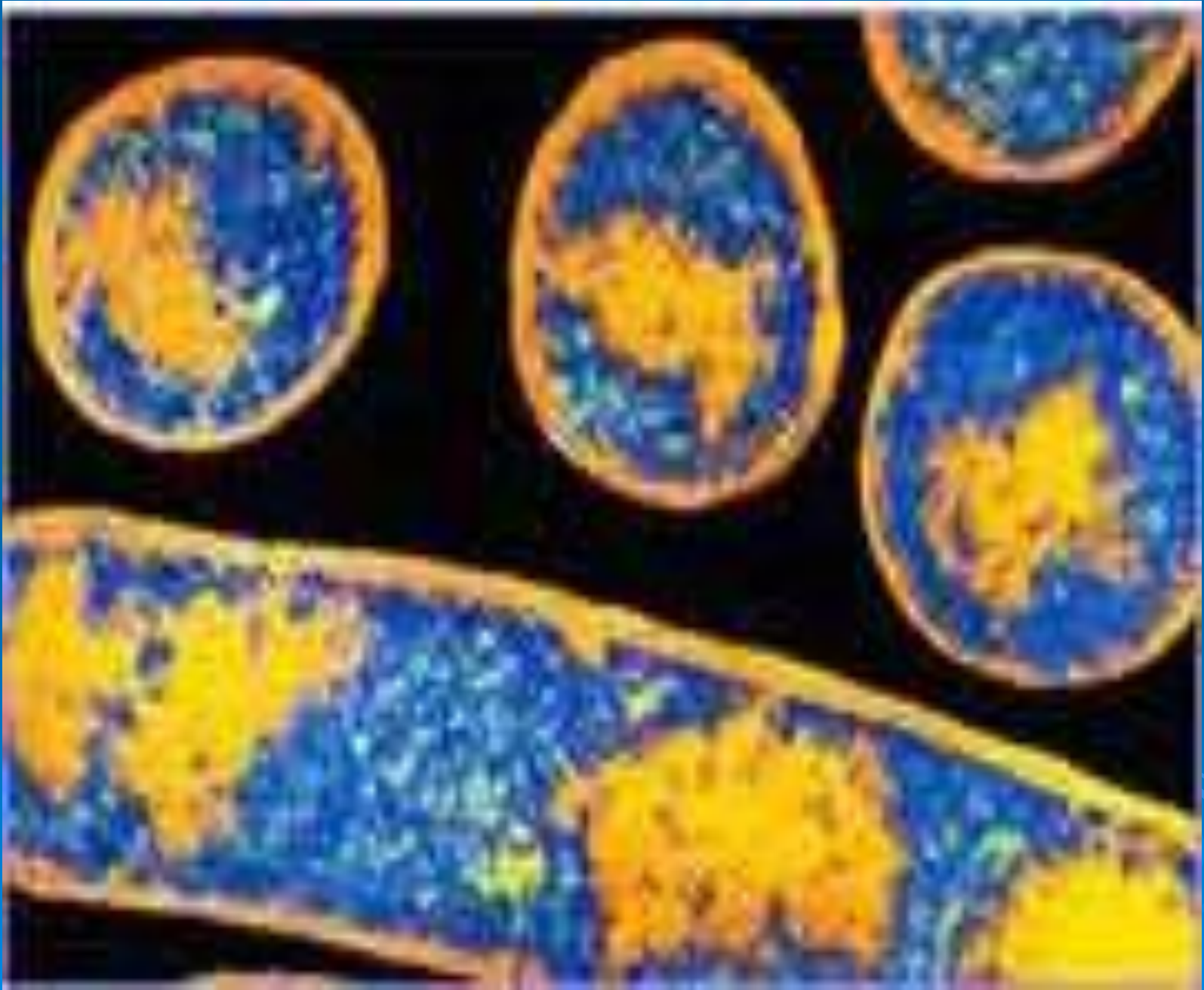
Определение чувствительности к антибиотикам



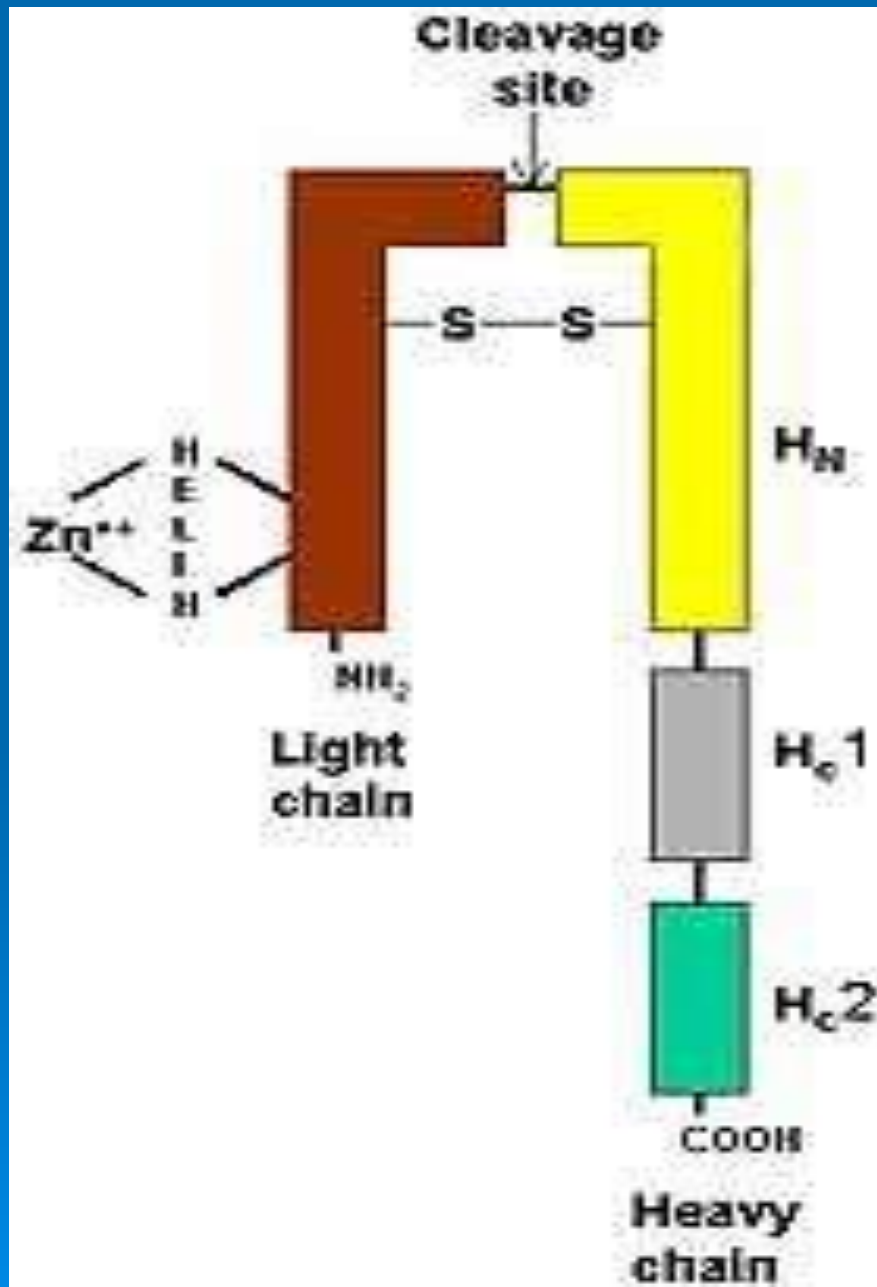
Благодарю за внимание



Clostridium botulinum



Воток - ботулотоксин



Резервуар и источники возбудителя:
человек - больной или носитель
(транзиторный, острый или хронический)

Механизм передачи возбудителя
фекально-оральный

Путь передачи — водный, пищевой,
бытовой

