



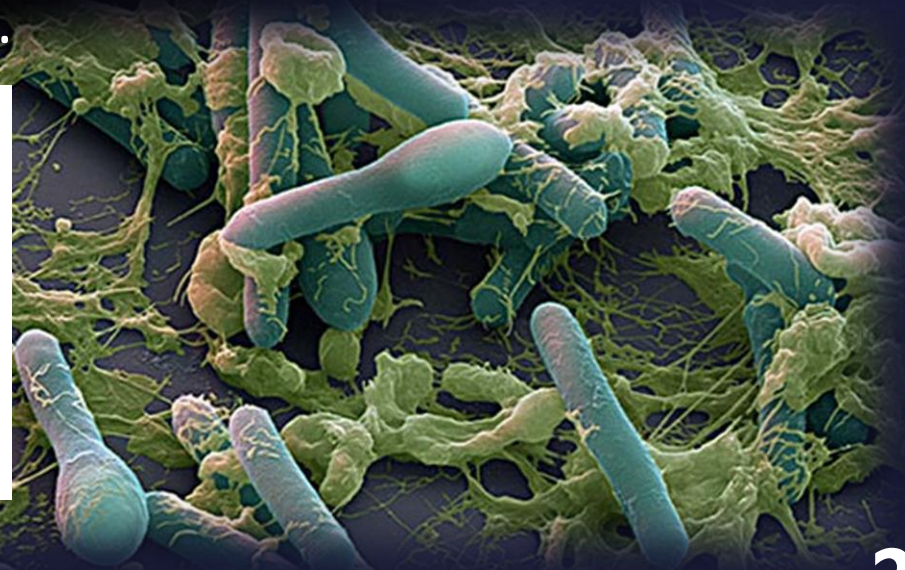
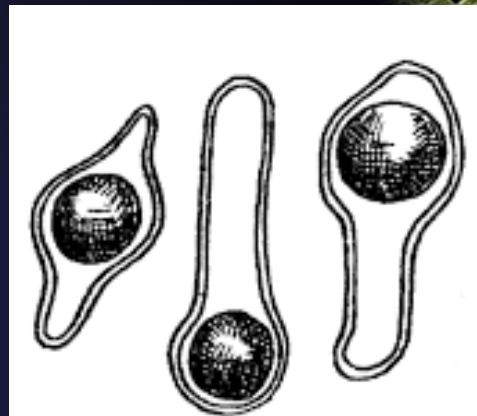
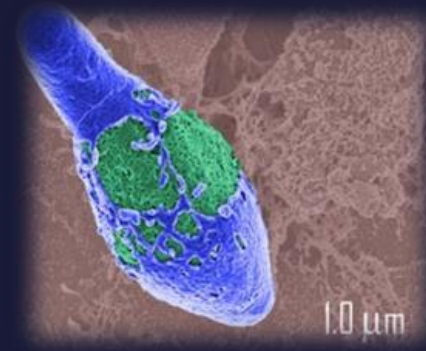
Клостридии – возбудители раневых клостридиозов, ботулизма

Клостридии (род *Clostridium*)

Домен: Бактерии
Тип: Фирмикуты
Класс: *Clostridia*
Порядок: *Clostridiales*
Семейство: *Clostridiaceae*
Род: Клостридии

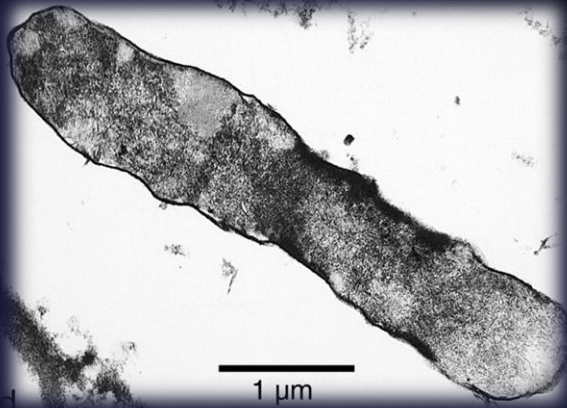


- Клостридии — грам(+) облигатные анаэробные спорообразующие бактерии, у которых размер споры превышает поперечник клетки, и поэтому они принимают форму **веретена**, теннисной **ракетки** или англ. **булавки**;
- Известно около **150 видов** клостридий. Принимают участие в круговороте веществ в природе.



Клостридии (род *Clostridium*)

- Клостридии являются **убиквитарными** микроорганизмами – широко распространенными в природе (почва, пыль, вода, продукты питания, фекалии и пр.).
- Многие виды клостридий входят в состав **микробиоты** ЖКТ и женских половых путей. Иногда их обнаруживают в полости рта и на коже.
- Благодаря **спорообразованию** они способны длительно **выживать**, а при определенных условиях – **вегетировать** в объектах окружающей среды.



- Большинство видов клостридий – сапрофиты, порядка **35** видов относят к *патогенным и условно-патогенным*, **8** из которых вызывают ряд **самостоятельных заболеваний** человека и животных – **раневые и энтеральные клостридиозы**
- Представители рода *Clostridium* вызывают у человека такие опасные заболевания как газовая **гангрена, столбняк, ботулизм**.
- Бактерии рода *Clostridium* вырабатывают наиболее сильные из известных ядов: **ботулотоксин (*C. botulinum*)**, **тетаноспазмин (*C. tetani*)**, **α, ε-токсины *C. perfringens*** и др.
- **Эзотоксины** играют роль главных факторов патогенности, которые своим действием *in vivo* определяют **патогенез** клостридиозов и их особую **клиническую** симптоматику.



- Каждый вид патогенных клостридий синтезирует определённые токсины, различающиеся между собой структурой, биоэффектом, механизмом действия и антигенно, причём перечисленные признаки носят геновидоспецифический характер.

Экология и эпидемиология.

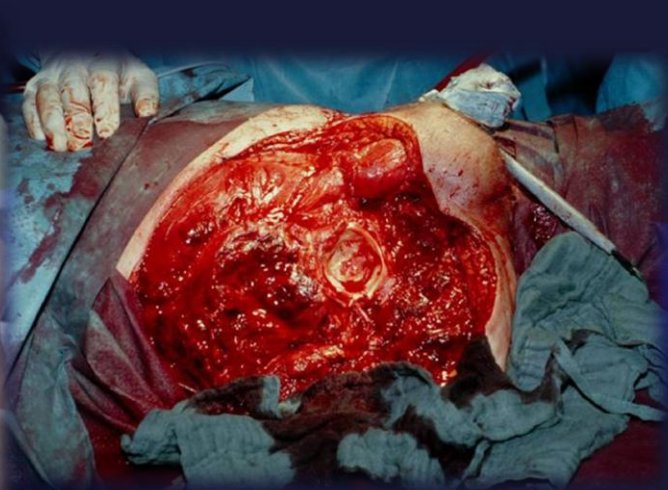
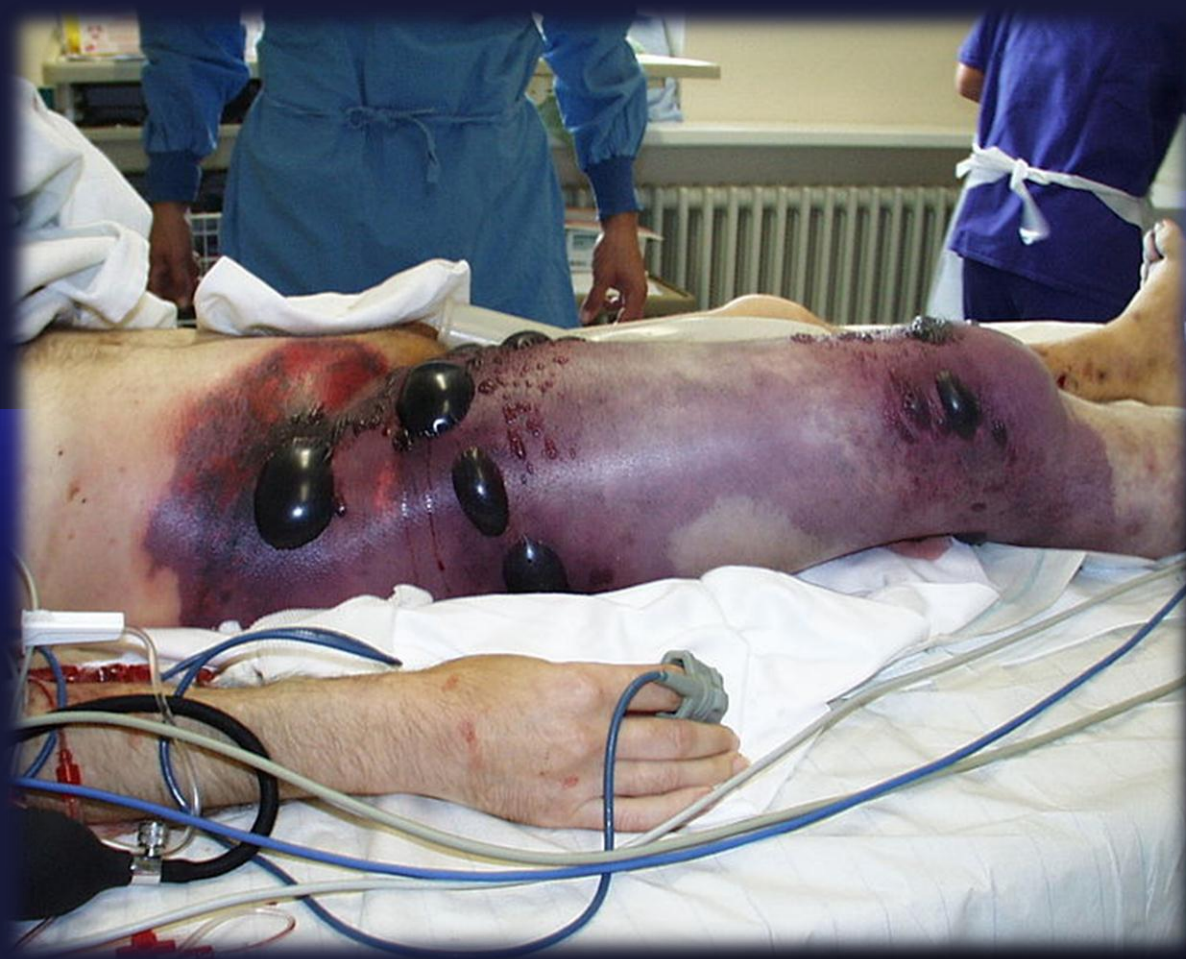
- ❑ Средой обитания для клостридий является кишечник животных, особенно травоядных и свиней, для *C. perfringens* - и кишечник человека.
- ❑ С фекалиями клостридии попадают в почву, в которой при благоприятных условиях могут размножаться.
- ❑ В почве клостридии сохраняются в виде спор в течение длительных сроков.
- ❑ Инфекция передается при попадании возбудителя с почвой или инфицированным материалом на раневую поверхность.
- ❑ Входные ворота инфекции - раны.
- ❑ Механизм: контактный.
- ❑ Факторы передачи: почва, особенно обрабатываемая; вода.

■ **Газовая гангрена** (греч. "разъедающая язва") – тяжелая раневая инфекция человека и животных, вызываемая несколькими видами рода *Clostridium* в ассоциации между собой и УПМ (аэробными или анаэробными).

■ Характеризуется острым тяжелым течением, быстро наступающим и распространяющимся некрозом преимущественно скелетных мышц с развитием отёков и газообразованием, тяжелой интоксикацией и отсутствием выраженных воспалительных явлений.

Род: Клостридии
Возбудители газовой гангрены –
несколько видов клостридий





Газовая гангрена особенно распространена в период войн, при тяжелых травмах (транспортных или сельскохозяйственных), после внебольничных абортов, несвоевременной хирургической обработке ран и др.

- Газовая гангрена правой ноги и таза, виден отек и изменение цвета правого бедра, буллы, и ощутима крепитация.
- Пациент в это время находится в шоке
- После фотографирования была сделана гемипелвэктомия, пациент умер менее чем через восемь часов

■ В этиологии газовой гангрены играют роль преимущественно представители 4 видов («грозная четвёрка»):

C. perfringens (70-80 % случаев газовой гангрены),

C. novyi (*C. oedematiens*) (20-30 %),

C. septicum (10-15 %),

C. histolyticum (4-8 %) – уже ч/з 12 часов после заражения могут просматриваться кости



По способности образовывать 4 главных токسين (α -, β -, ϵ - и ι) ***C. perfringens*** разделяют на 6 сероваров – **A, B, C, D, E, F**.

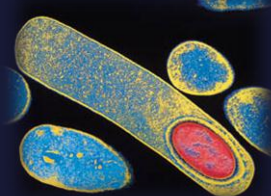
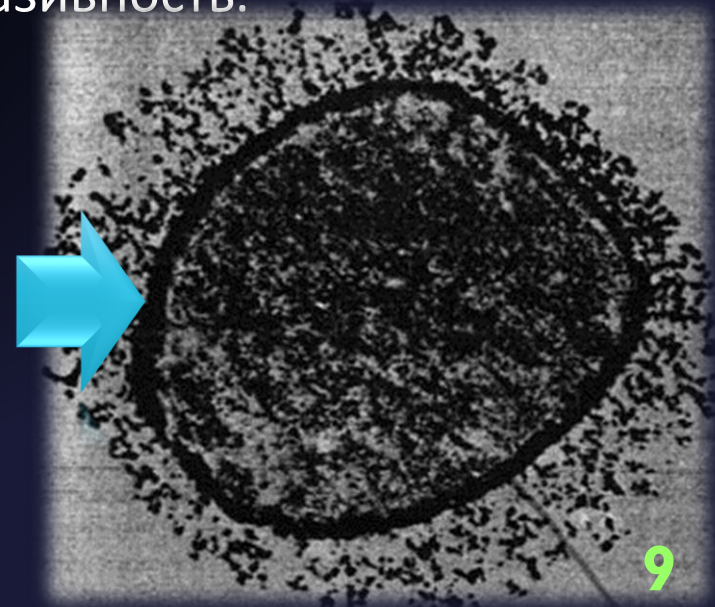
При некротических энтероколитах иногда выделяют микроорганизмы типов **C** и **F**; возбудители типа **B** вызывают инфекционные энтеротоксемии (пищевые токсикоинфекции).

Но первое место по частоте встречаемости в объектах окружающей среды и тяжести болезни занимает ***C. perfringens*** типа **A** (*C. welchii*).

- ◆ Наиболее часто в почве и испражнениях обнаруживают серотип **A**.
- ◆ Преобладание серотипа **C. perfringens** типа **A** объясняется несколькими причинами:
 - они относительно аэротолерантны, а потому менее требовательны к ишемизации тканей ;
 - чаще других клостридий представлены в почве и микрофлоре человека, животных;
 - обладают одним из самых мощных некротизирующих токсинов – альфа-токсином;
 - обладают капсулой, усиливающей инвазивность.

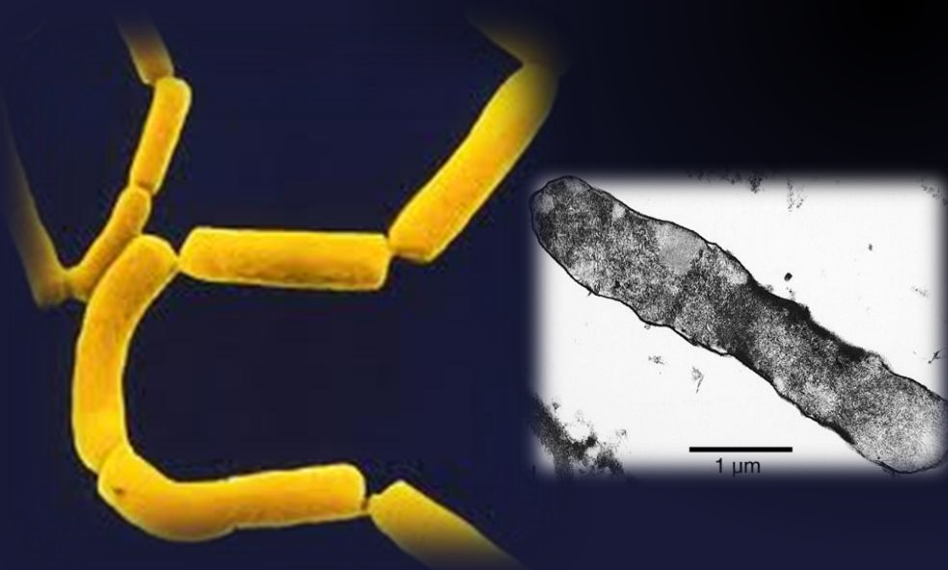


Электроннограмма 6- часовой культуры **C. perfringens** типа **A**. Вокруг клетки видна массивная капсула.

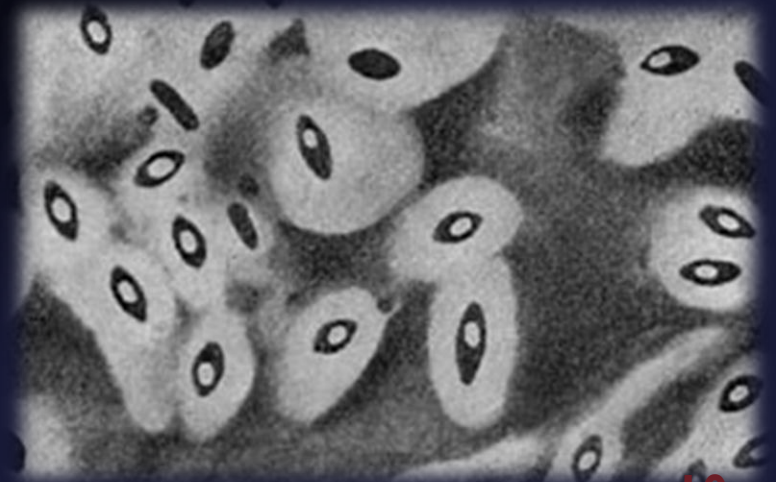


Морфологические и культуральные свойства *C. perfringens*

- 📌 **Вегетативные клетки** – крупные, грамположительные бактерии, жгутиков не имеют, **неподвижны** (один из немногих неподвижных видов). Классические формы представлены короткими палочками с обрубленными под прямым углом концами.
- 📌 **In vivo** формируют **капсулы** (единственный капсулообразующий вид среди патогенных клостридий).



Капсулы вокруг клеток *Clostridium perfringens*.
Увел. X 2200.



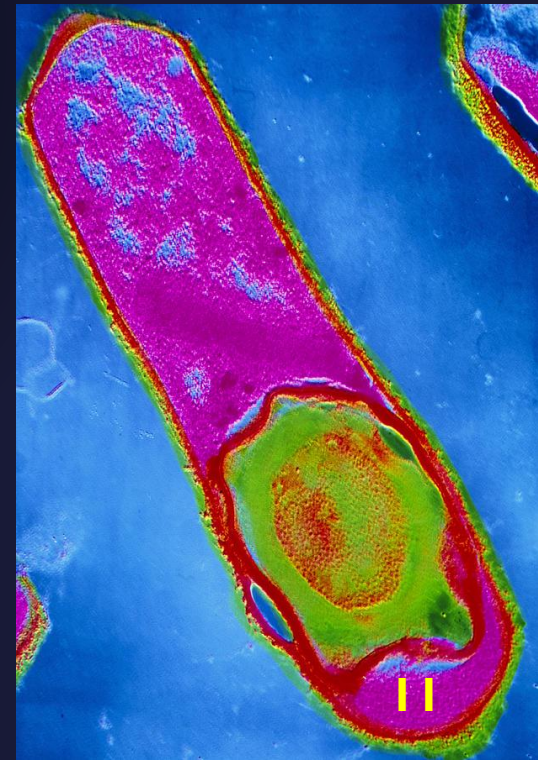
C. perfringens



- ✿ **Споры** крупные овальные, у серотипа А расположены субтерминально («теннисная ракетка»).
- ✿ **Спорообразование** обычно имеет место в почве и в кишечнике;
- ✿ *in vitro* споры можно получить на специальных ПС.
- ✿ Спорообразование стимулирует **прогревание** при 75 °С в течение 10-15 мин.



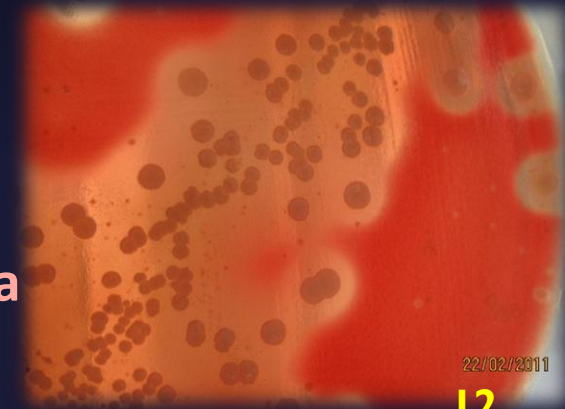
C. perfringens типа
А – клетки со спорой



C. perfringens разрывают агар в результате мощного газообразования (Слева направо – *C. perfringens*, *C. sporogenes*, *C. tetani*)

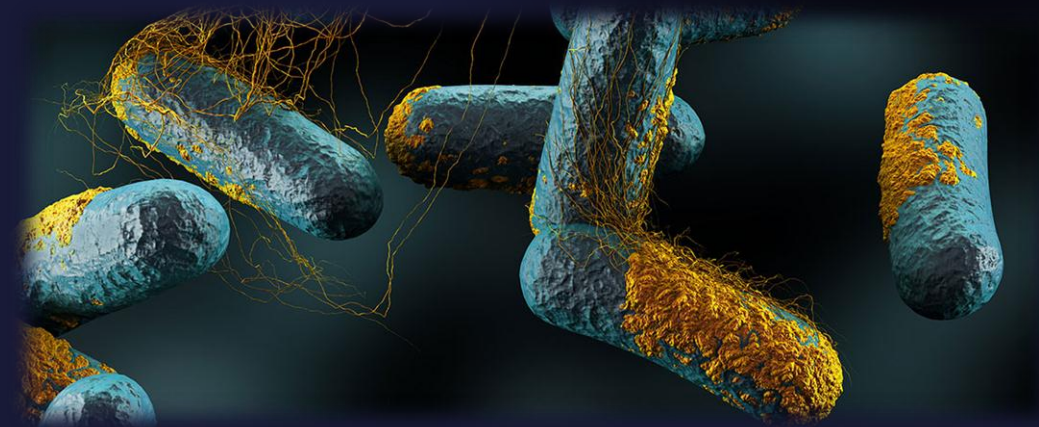
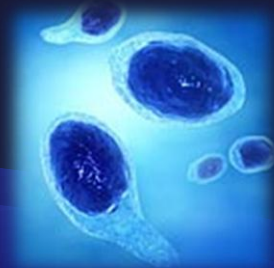


- На кровяном агаре с глюкозой *C. perfringens* образуют очень мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии с зоной **гемолиза** различной ширины



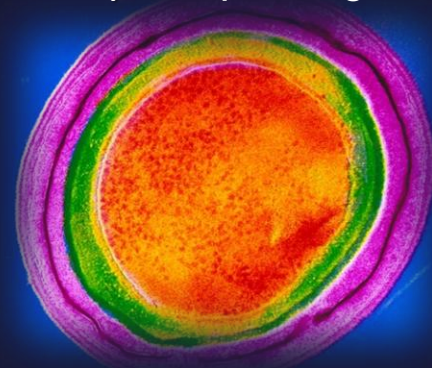
Резистентность *C. perfringens*

- Вегетативные формы чувствительны к кислороду, солнечному свету, высокой температуре, дезинфектантам.
- Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям (дезинфектанты, УФ и т.д.), особенно устойчивы споры типов А и С – выживают при кипячении и даже автоклавировании в течение 1-6 ч.
- При благоприятных условиях споры прорастают – при температурном оптимуме 43 °С. Например, в вареном мясе дочерние популяции образуются в течение 12-13 мин.



Бактерии
Clostridium
perfringens

Спора *C. perfringens*



Токсины *Clostridium perfringens*

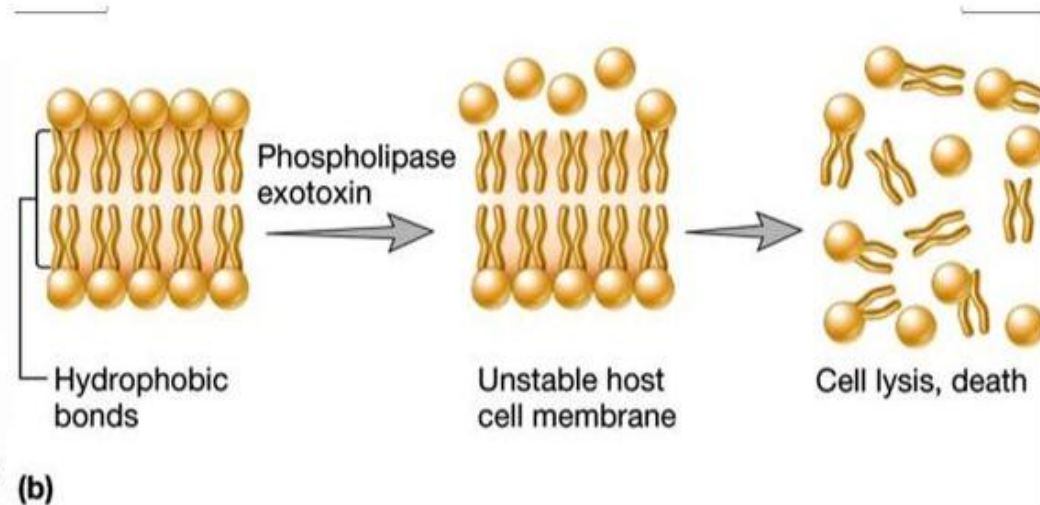
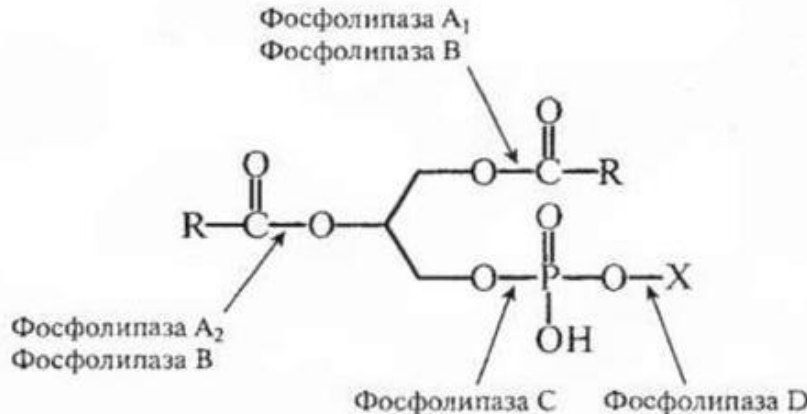
Факторы вирулентности		Биологический эффект
Токсины (главные)	альфа-токсин (α) (лецитиназа С, фосфолипаза С)	Расщепляет лецитин мембран; увеличивает сосудистую проницаемость; некротизирующая активность; разрушает эритроциты – внутрисосудистый гемолиз – символ смертельной клостридиальной токсинемии;
	бета-токсин (β)	Некротизирующая активность; очаговый отёк, геморрагии и сегментарный кишечный некроз (гангрена кишечника).
	эпсилон-токсин (ϵ)	Усиливает сосудистую проницаемость слизистой ЖКТ
	йота-токсин (ι)	Летальный токсин, вызывает некроз и повышает проницаемость сосудов
	энтеротоксин	Пищевые токсикоинфекции – нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника, повреждает плазматическую мембрану эритроцитов
Токсины (минорные)	дельта-токсин (δ, Δ)	Гемолизин – гемолиз эритроцитов
	тэта-токсин (θ)	Перфринголизин – <i>гемолиз</i> , цитолиз
	каппа-токсин (κ)	Коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	лямбда-токсин (λ)	Протеаза
	мю-токсин (μ)	Гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	ню-токсин (ν)	ДНК-аза; гемолитическая, некротизирующая активность
Усиливают действие α -токсина	нейраминидаза	Повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах

Факторы патогенности

Высокая инвазивность и токсигенность связана со способностью продуцировать 12 токсинов и ферментов

«Большие» токсины:

- **Альфа – токсин** (фосфолипаза С, лецитиназа) – разрушает фосфолипиды, что ведет к нарушению проницаемости и лизису клетки; массивный аутолиз мышечной ткани, миелина, эпителиальных клеток, форменных элементов крови; оказывает гепатотоксическое действие, приводит к дисфункции миокарда



Патогенез

- ❑ В основе патогенеза – ферментные процессы, катализирующие гидролитическое расщепление биомембран → нарушение клеточной проницаемости → деструкция и отёк ткани.
- ❑ Отёк сопровождается снижением окислительно-восстановительного потенциала ткани → активируются эндогенные протеазы → аутолиз тканей.
- ❑ При этом происходит жировая дистрофия мышц, разрушение миелина нервов, разрушение оболочек жировых клеток и эритроцитов.
- ❑ Помимо токсинемии развивается ещё и гемолитическая анемия.
- ❑ Таким образом, инфекционный процесс при газовой гангрене активирует сам себя.

Патогенез

- ❑ Попавшие в рану споры прорастают и при наличии большого количества мертвых, размозженных, ишемизированных тканей, служащих питательной средой, начинают быстро размножаться
- ❑ Ферменты и токсины расширяют зону некроза, разрушая мышечную и соединительную ткани; ферментируется мышечный гликоген, выделяется молочная кислота, углекислый газ, водород, появляется симптом крепитации, некроз сосудистой стенки, отек, почернение и деструкция кожи.



Патогенез поражений при газовой гангрене



а) Макроскопическая картина отечной стенки кишечника с множественными подслизистыми кистами к пациента, который умер от кишечной газовой гангрены.

Сильные экзотоксины → повышение проницаемости сосудов → резкий отёк → сдавление сосудов → ишемия тканей → распад мышц (аутолиз) с образованием газа → размножение микроорганизмов и колонизация новых тканей

Настоящая газовая гангрена встречается редко, но обычно имеет **смертельный исход**.

- **Клиника газовой гангрены.** Инкубационный период короткий – 6 ч.-3 дня. Сильная боль, отек, газообразование в ране, крепитация, выраженная интоксикация; гнилостный запах. Ткани, как правило, черного цвета из-за распада гемоглобина и осаждения серосодержащих соединений бактериями. Состояние больного быстро ухудшается, наступает **шок**, затем – **смерть**.

Спутанность сознания и кома наступают только перед смертью

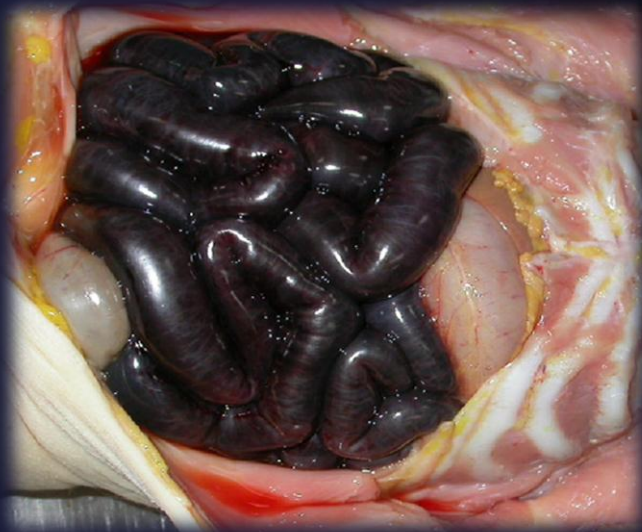
Иммунитет. Перенесенная инфекция не оставляет иммунитета. Ведущая роль в защите от токсина принадлежит **антитоксинам**.



Пищевые интоксикации и инфекции, вызванные *C. perfringens*

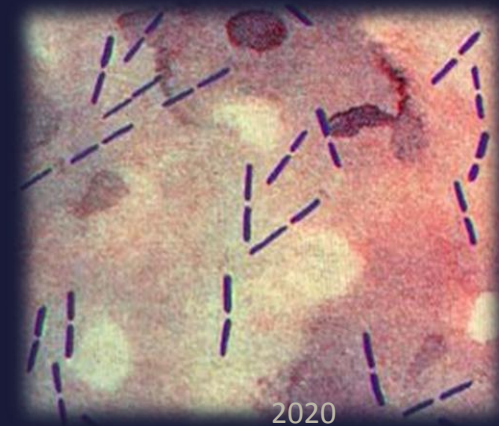
- ◆ Большинство случаев токсикоинфекций (диарей) связано с энтеротоксигенными штаммами типа **A**, которые образуют термолабильный **энтеротоксин**, повреждающий энтероциты.
- ◆ **Тяжелой** формой клостридиальной патологии является некротизирующий энтерит, вызываемый обычно *C. perfringens* типа **C**. Характерен кровавый понос, причиной которого является повреждение слизистой оболочки **бета-токсином**, образующимся при размножении клостридий в тонком кишечнике. Высокая летальность.

Некротизирующий энтероколит, *C. perfringens*
Type **C** Infection



Микробиологическая диагностика *C. perfringens*

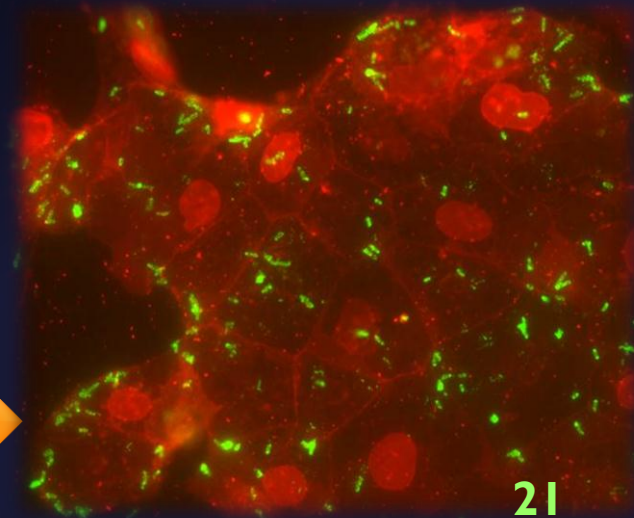
- ♦ Материал микроскопируют, клинический диагноз газовой гангрены подтверждается при обнаружении грам(+) палочек в материале от больного в отсутствии лейкоцитов.
- ♦ Бактериологический метод: обнаружение *C. perfringens* в количестве **10⁵** в 1 г продукта или **10⁶** в 1 г фекалий свидетельствует об их этиологической роли при пищевой токсикоинфекции.
- Идентификация осуществляется набором стандартных тестов – подвижность, серологические реакции, ПЦР и др.
- Токсин раньше идентифицировали с помощью реакции нейтрализации на животных (мышах, морских свинках) – в настоящее время практически **не** используется – **ИФА**.



2020

Выявление в **МФА**
(содержимое субсерозных
кист с большими
палочковидными
бактериями – клостридиями
при кишечной форме
газовой гангрены).

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



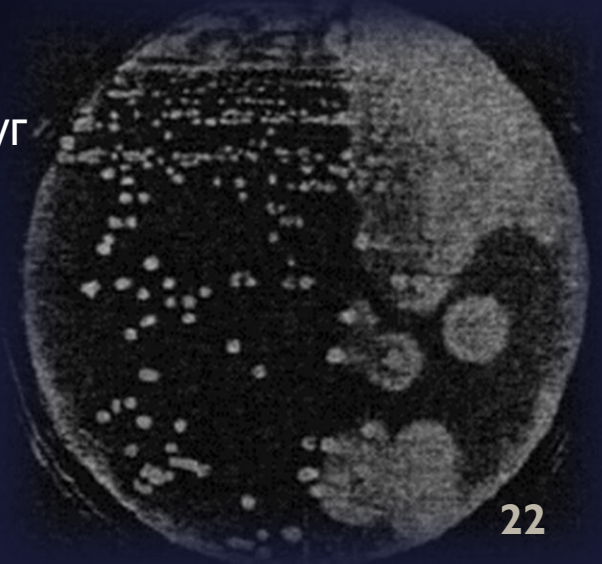
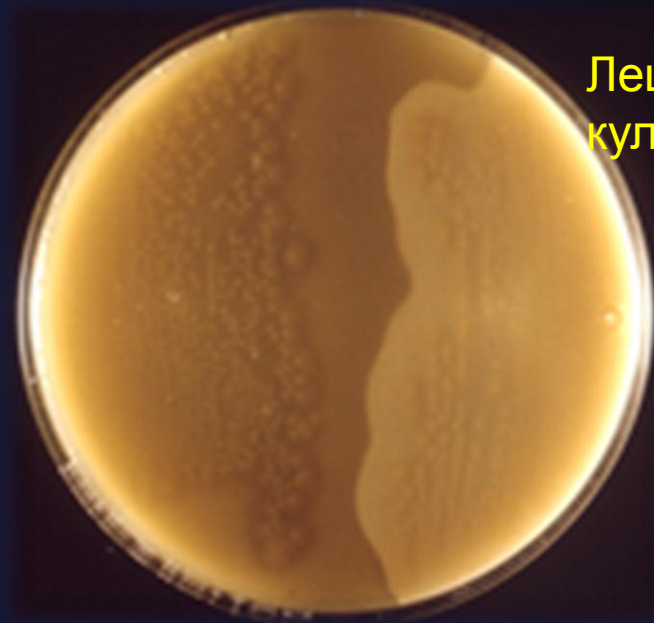
21

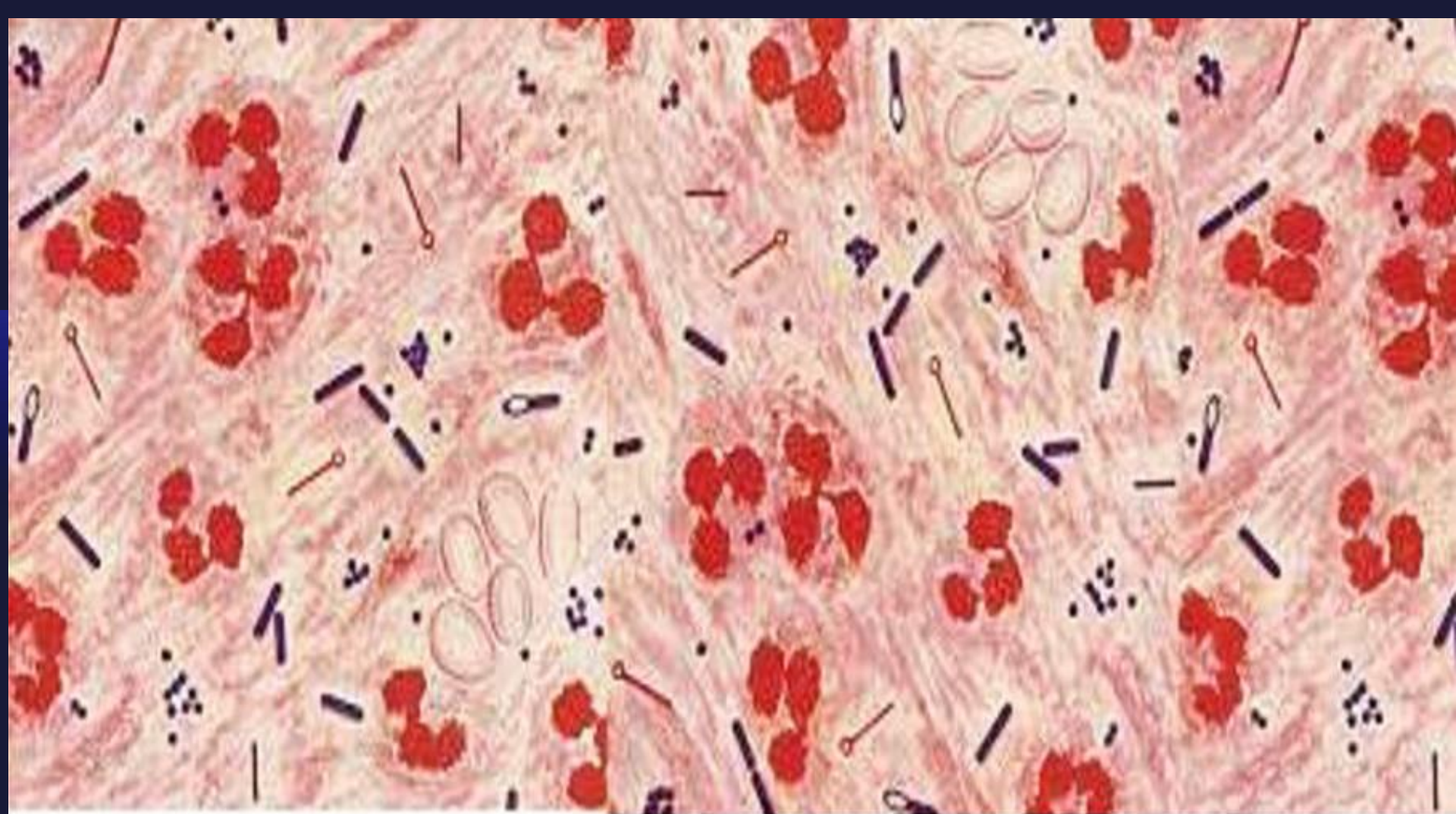
Идентификация *Clostridium perfringens*

- *C. perfringens* также можно идентифицировать по росту на яичном агаре: колонии возбудителя окружены опалесцирующим белым «преципитатом», появляющимся под действием α -токсина (лецитиназы C);
- образование зон преципитации можно ингибировать, наслив на половину чашки специфическую антисыворотку одновременно с посевом тест-культуры.

Лецитиназная (альфа-токсическая) активность в культуре *C. perfringens* типа A:

Зоны преципитации вокруг колоний *C. perfringens* на желточном агаре





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

Лечение газовой гангрены

- ◆ хирургическое – удаление некротических тканей, дренирование (лампасные разрезы), гильотинные ампутации конечности – **основной метод**;
- ◆ промывание открытых ран перекисью водорода, антибиотиками; рану оставляют открытой
- ◆ химиотерапия – применяют антибиотики – неэффективно, т.к. нет кровоснабжения;
- ◆ специфическое – вводят антитоксические (антигангренозные) сыворотки – неэффективно, т.к. нет кровоснабжения
- ◆ гипербарическая оксигенация (в камере с повышенным парциальным содержанием кислорода под давлением).



Профилактика газовой гангрены

Профилактика – своевременная квалифицированная первичная хирургическая обработка загрязненных ран.

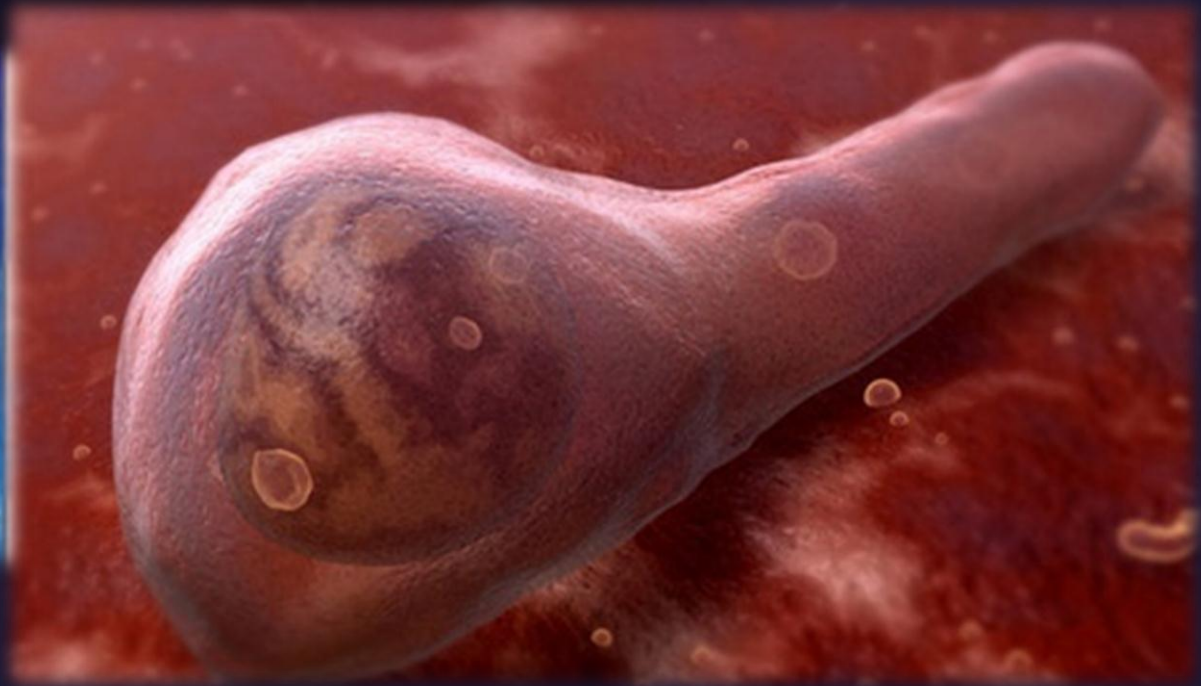
Специфическая профилактика – анатоксины *C. perfringens* и *C. novyi* в составе **секстанатоксина** для профилактики газовой гангрены – неэффективны, т.к. отсутствует кровоснабжение пораженных тканей, антитела не доходят до очага поражения; и интоксикация носит сложный характер, включая действие продуктов тканевого распада.



Столбняк (возбудитель – *Clostridium tetani*)

Тяжелая раневая анаэробная токсинемическая инфекция;
характеризуется поражением нервной системы, приступами
тонических и клонических судорог.

Патогенез обусловлен нейротоксическим действием
бактериального экзотоксина (*тетаноспазмина*).



- ♦ Ведущее проявление – судорожный синдром, включающий болезненное сокращение мышц (*тетанус*) и длительное напряжение мышц (*мышечная ригидность*). Характерные проявления мышечной ригидности: *опистонус* (тетанический спазм) и *risus sardonicus* (*risus caninus*) – подобие оскала из-за спазма лицевых мышц



Возбудитель столбняка *Clostridium tetani*

- ◆ Столбняк известен с древности, первое чёткое описание клинической картины дано Гиппократом (от столбняка умер его сын)
- ◆ **Чистую культуру** микроорганизма выделил в 1887 г. японский бактериолог Китазато, он же в 1890 г. получил столбнячный **ТОКСИН** и совместно с Э. Берингом предложил для лечения столбняка антитоксическую противостолбнячную **сыворотку**.
- ◆ В 1923-1926 гг. французскому исследователю Г. Рамону удалось получить столбнячный **анатоксин**, который в дальнейшем стал применяться для профилактики заболевания.



Возбудитель столбняка *Clostridium tetani*

- ◆ *C. tetani* — нормальный обитатель кишечника животных и человека, попадает в почву с фекалиями, надолго инфицирует ее, преобразуясь в спорную форму.
- ◆ Возможно, столбнячные бациллы не размножаются в кишечнике, проходя транзитом в виде спор.
- ◆ Не исключена и вегетация, о чем говорят следы антитоксина в сыворотке здоровых животных. Но если это и так, **столбняк никогда не возникает при всасывании токсина из кишечника, тем более что вызвать заболевание путем перорального введения токсина не удастся.**



C. tetani

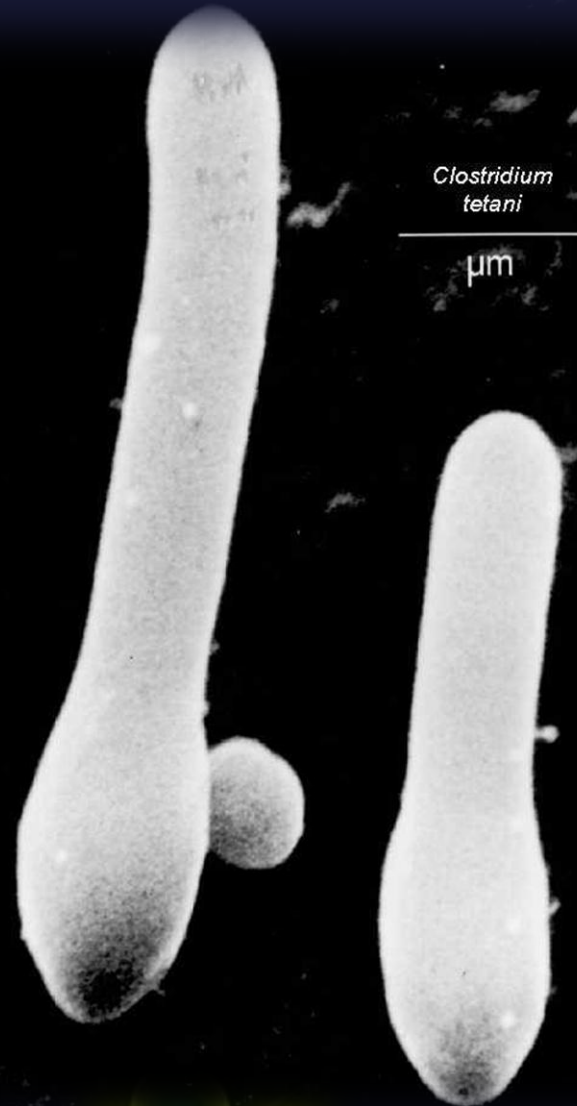
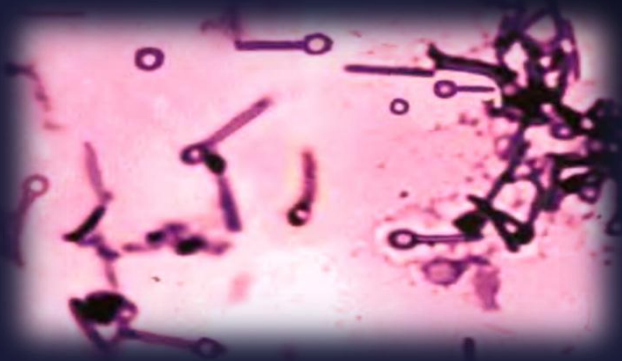
- ◆ Естественный резервуар и источник инфекции – почва, толстая кишка человека, с/х и диких животных).
- ◆ Входные ворота инфекции – травмированная кожа и слизистые.
- ◆ **Столбняк** развивается как **раневая инфекция**, но далеко не каждое ранение создает условия для прорастания спор и размножения бактерий. *C. tetani* принадлежит к числу **наиболее строгих анаэробов**, и во многих случаях это спасает от фатальных последствий.
- ◆ Столбняк никогда не возникает при всасывании токсина из кишечника, и вызвать заболевание путем перорального введения токсина не удастся.



Спора *C. tetani*

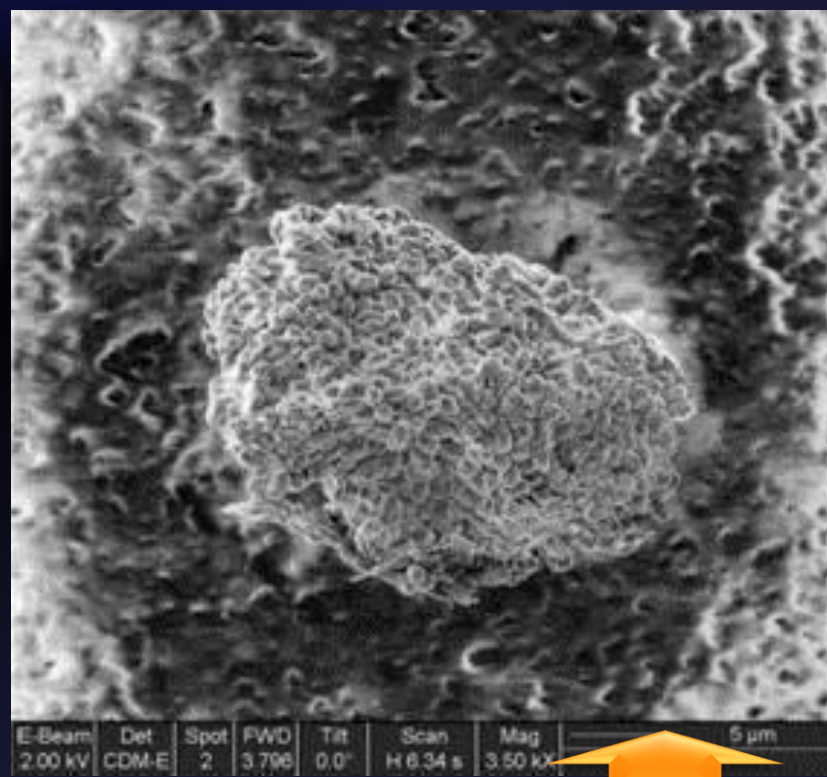
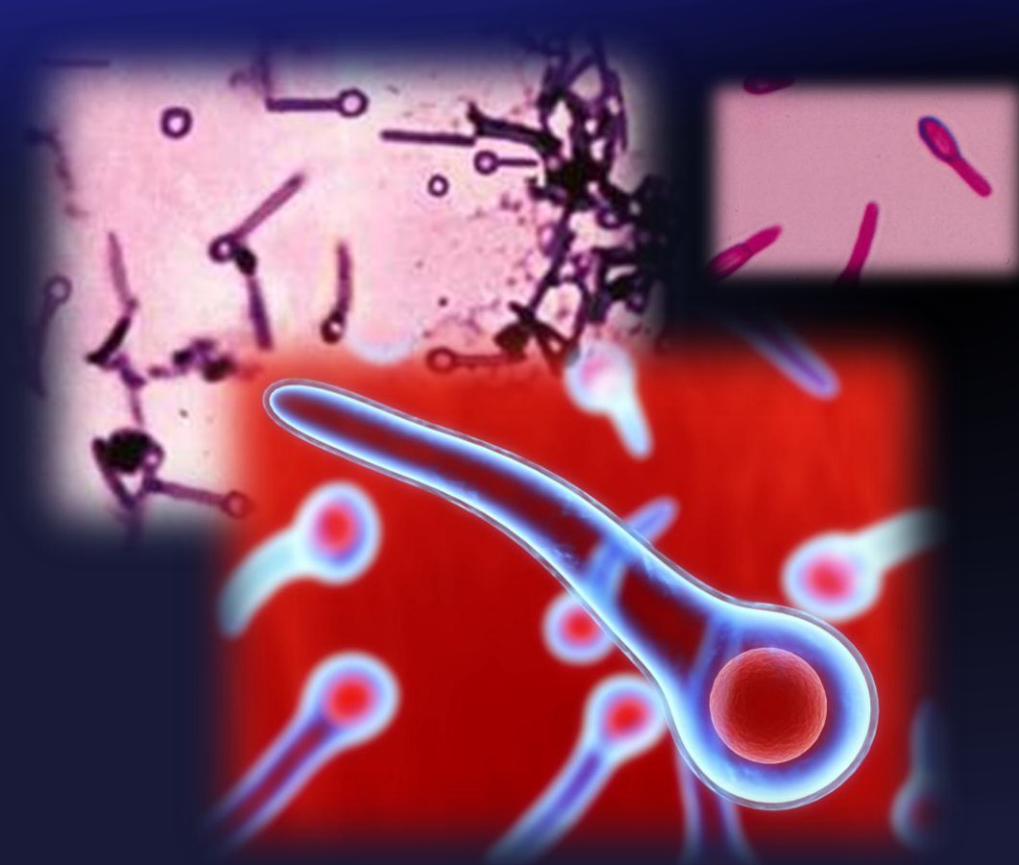


- ◆ Вегетативные клетки бактерий представляют собой грам(+) палочки с закругленными концами; располагаются одиночно или цепочками;
- ◆ подвижны (содержат 20 и более жгутиков, расположенных по периферии клетки – перитрих),
- ◆ продуцируют экзотоксин.



Столбняк

- ◆ **Споры** имеют многослойную оболочку. Расположены терминально, диаметр их больше, чем у вегетативной клетки, поэтому при спорообразовании бактерии имеют форму барабанных палочек (теннисной ракетки).



Электронная микрофотография споры возбудителя столбняка

Культуральные свойства *Clostridium tetani*

- ◆ На мясо-пептонном агаре и желатине в строго анаэробных условиях возбудитель растет медленно;
- ◆ 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.
- ◆ При посеве столбиком в полужидкий агар через 24-48 ч формирует колонии в виде **чечевичек** (R-форма) или **пушинок** с плотным коричневым центром (S-форма).
- ◆ Благоприятные условия для роста *C. tetani* имеют также сахарно-кровяной агар и среда Китта-Тароцци.

Биохимическая активность *C. tetani* низкая. Сахара большинство штаммов не ферментирует, протеолитические свойства слабые.



- ◆ **Резистентность к факторам окружающей среды.** Споры отличается высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям; выдерживают кипячение в течение 0,5-3 ч (по разным данным). Не чувствительны к низким температурам (-40 -60 °С), рассеянному солнечному свету.
- ◆ **Патогенность для животных.** Столбняком болеют лошади и мелкий рогатый скот, белые мыши, морские свинки, крысы, кролики, хомяки. Многие животные являются носителями столбняка.
- ◆ **Столбнячный токсин** принадлежит к классике микробной токсикологии, уступая по биологической активности только ботулотоксину.
- ◆ Смертельная доза для мыши составляет всего 3×10^{-11} г, то есть **1 мг достаточно, чтобы убить 50-70 млн мышей (!)**
- ◆ Столбняк у животных протекает при явлениях спастических сокращений поперечнополосатой мускулатуры. Процесс носит **восходящий** характер – вначале в процесс вовлекаются конечности, а затем туловище.

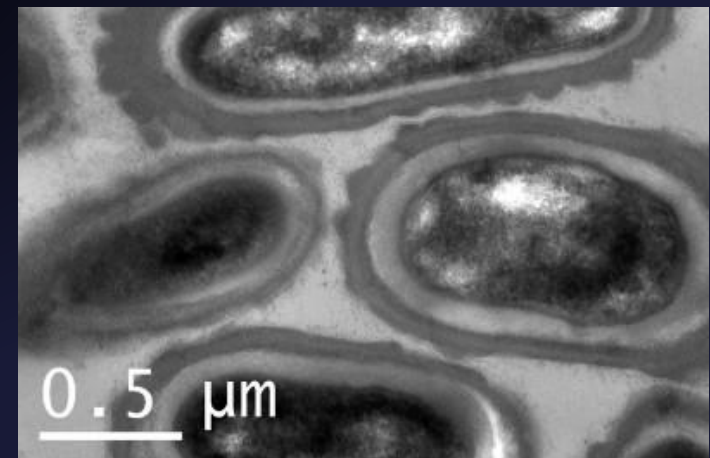
Антигенный состав *C. tetani*



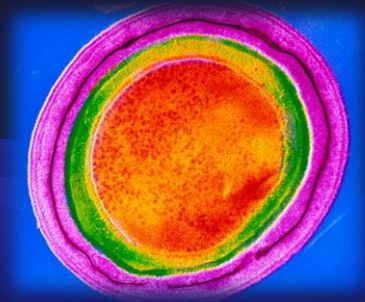
- ◆ Имеют О- и Н-антигены, по этим Аг подразделяются на десятки серотипов.
- ◆ Но это не имеет практического значения, так как все разновидности вырабатывают **идентичный нейротоксин** (в отличие от возбудителя ботулизма), что обеспечивает единство патогенеза и унификацию иммунопрофилактики.



Споры *C. tetani* с почвой попадают в рану



Факторы патогенности *C. tetani*



- ◆ **Патогенность** обусловлена способностью *C. tetani* продуцировать мощный экзотоксин – **тетаноспазмин** (нейротоксин) и **тетанолизин** (тетаногемолизин).
- ◆ Действие этих токсинов (в особенности **тетаноспазмина**) вызывает столбняк у человека и животных.
- ◆ Тетанолизин – слабо изучен
- ◆ Способность к токсинообразованию закодирована в **плазмиде** и неодинаково выражена у разных штаммов – от нетоксигенных до высокотоксигенных вариантов.
- ◆ Токсин накапливается **внутри бактериальных клеток** и **высвобождается при аутолизе клеток и образовании спор.**

Факторы патогенности *Clostridium tetani*

Факторы вирулентности		Биологический эффект
Столбнячный экзотоксин	тетанолизин	Плохо изучен Лизис эритроцитов
	тетаноспазмин	Спастическое действие (непроизвольное сокращение поперечно-полосатых мышц) из-за поражения синапсов

Патогенез столбнячной инфекции

- ◆ Столбняк – токсинемическая инфекция, основным фактором патогенеза которой является столбнячный экзотоксин.
- ◆ Возбудитель остается в ткани на месте входных ворот; продуцирует экзотоксин, который поступает в кровь и распространяется по кровеносным и лимфатическим сосудам, а также по нервным стволам, и достигает спинного и продолговатого мозга.
- ◆ Токсин фиксируется на поверхности отростков нейронов, проникает в них за счет лиганд-опосредованного эндоцитоза и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС.
- ◆ В результате *нарушается проведение импульсов по нервным волокнам*.



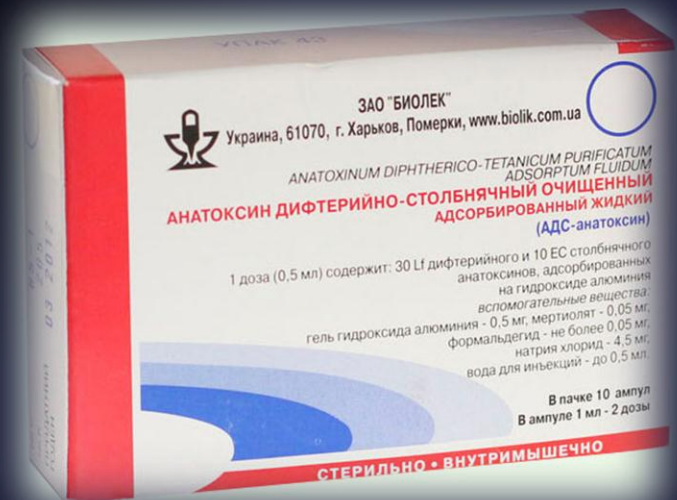
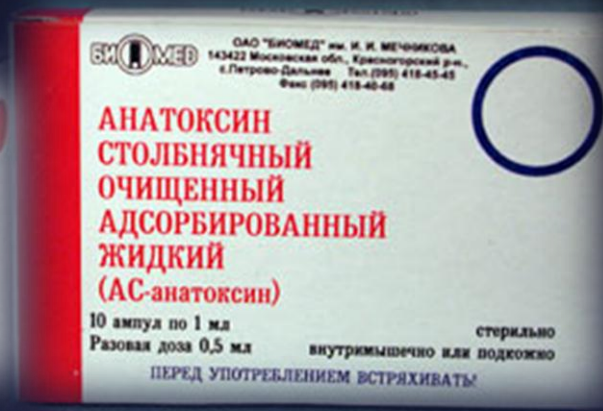
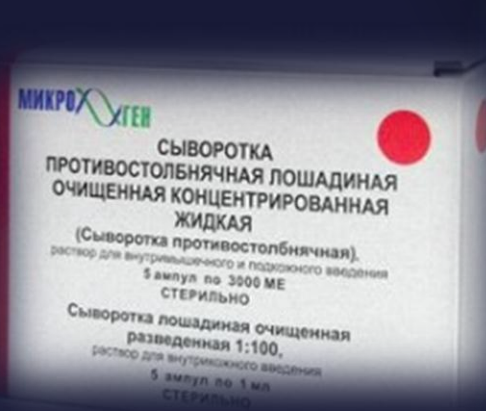
Клинические проявления столбняка

- ◆ Инкубационный период – 6-14 дней.
- ◆ Лёгкая форма (локальный столбняк) характеризуется периодическими спазмами в пораженной области.
- ◆ Генерализованный столбняк – наиболее часто встречаемая форма с характерными мышечными спазмами (тризм, *risus sardonicus* и опистотонус) – триада Гиппократата.
- ◆ *Мозговые проявления* включают поражения черепных нервов (наиболее часто – VII), характерны тонические спазмы лица и глотки.



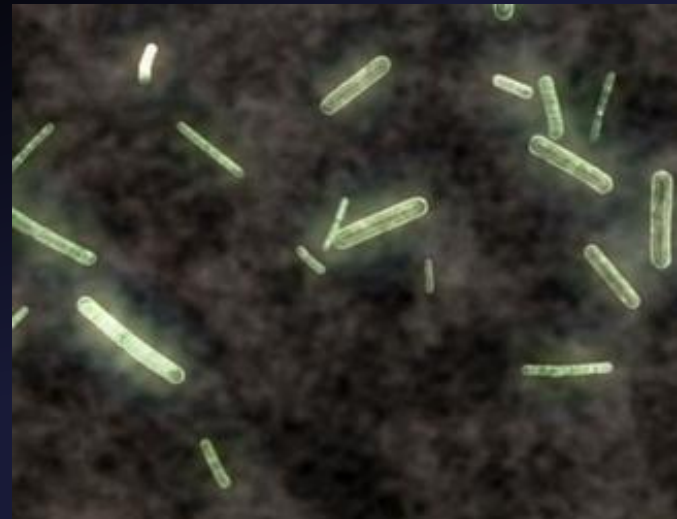
Иммунитет к столбняку

- ◆ Естественный иммунитет у человека к столбняку отсутствует.
- ◆ Постинфекционный – не формируется, поскольку **токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже дозы иммуногенной**;
- ◆ Искусственный – для активной иммунопрофилактики столбняка применяют **столбнячный анатоксин** (обезвреженный токсин); первичную вакцинацию проводят детям в возрасте с 5-6 мес до 5 лет (курс включает 3 инъекции с интервалом 30-40 сут); в случае заболевания применяют **столбнячный антитоксин** – гипериммунную человеческую антисыворотку (экстренная профилактика).



Выделение возбудителя столбняка проводят по стандартной схеме:

- ◆ **бактериоскопия исходного материала;**
- ◆ посев для выделения возбудителя и его идентификации;
- ◆ **обнаружение столбнячного токсина.**



Микробиологическая диагностика столбняка

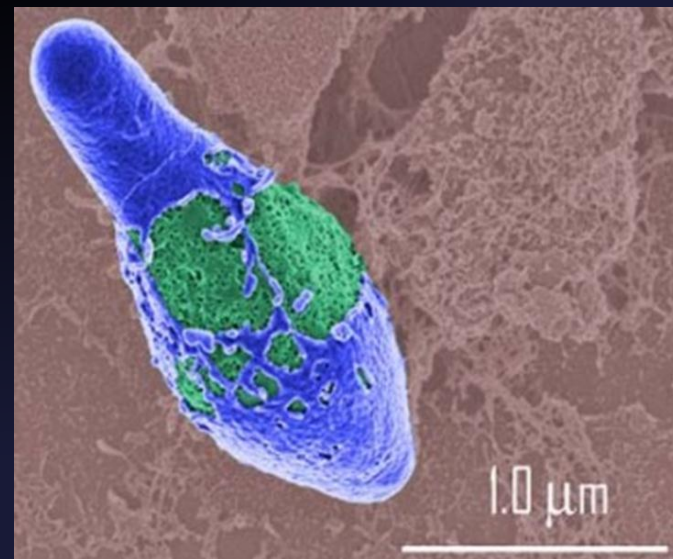
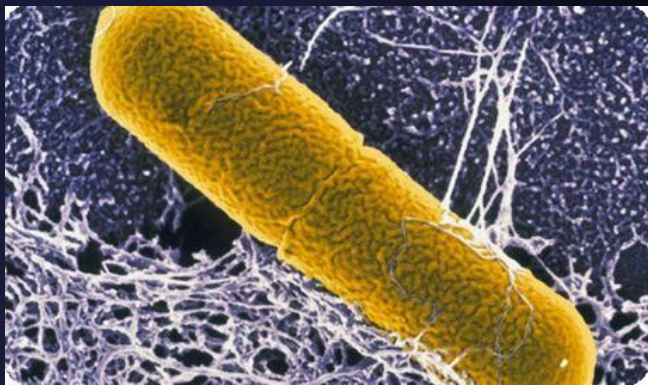
- Микроскопический метод: исследуют материал, взятый в месте ранения.
- Бактериологический метод: материал от больного или трупа, перевязочный и шовный хирургический материал исследуют в анаэробных условиях.
- Иммуносерологические тесты для обнаружения токсина как антигена (РНГА, ИФА, ЛА, КоАг – коаггутинация, РП – реакция преципитации в геле)
- Биологическая проба для обнаружения токсина. Токсины клостридий смертельны, что достоверно можно установить только по летальному эффекту и его нейтрализации на лаб. животных (б.м.) в реакции биологической нейтрализации (**РБН**) с соответствующими антитоксическими сыворотками (исследуют материал от больного или трупа).

Биологическая проба для обнаружения в исследуемом материале столбнячного токсина

- ◆ исследуемый материал гомогенизируют, добавляют двойной объем физраствора, инкубируют 1 ч при комнатной температуре, фильтруют;
- ◆ часть фильтрата смешивают с противостолбнячной сывороткой (для нейтрализации токсина) из расчета 0,5 мл (200 АЕ/мл) сыворотки на 1 мл экстракта и инкубируют 40 мин;
- ◆ затем одной группе мышей вводят экстракт без предварительной инкубации с сывороткой, а другой группе - проинкубированную смесь.

При наличии токсина у животных первой группы (без нейтрализации сывороткой) развиваются симптомы столбняка.

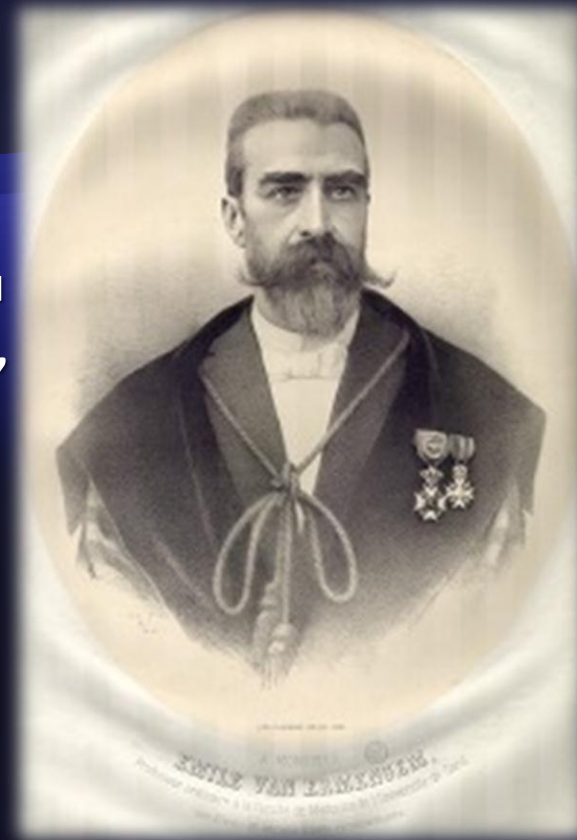
Ботулизм – тяжёлая, часто фатально заканчивающаяся, острая пищевая токсикоинфекция, протекающая с преимущественным поражением центральной и вегетативной нервной системы.



Ботулизм – история

В конце XIX века в Бельгии 34 музыканта, готовившихся к выступлению, съели сырую ветчину домашнего приготовления. В течение суток у большинства из них начали проявляться симптомы ботулизма. В результате 3 человека погибли, а ещё 10 находились в больнице в течение недели в тяжелом состоянии. Из остатков ветчины и из селезенки пострадавших бактериолог Эмиль ван Эрменгем выделил возбудитель и назвал его *Vacillus botulinus*. Также он установил, что токсин образуется не в организме больного, а в толще ветчины.

Эмиль ван Эрменгем,
1851-1932

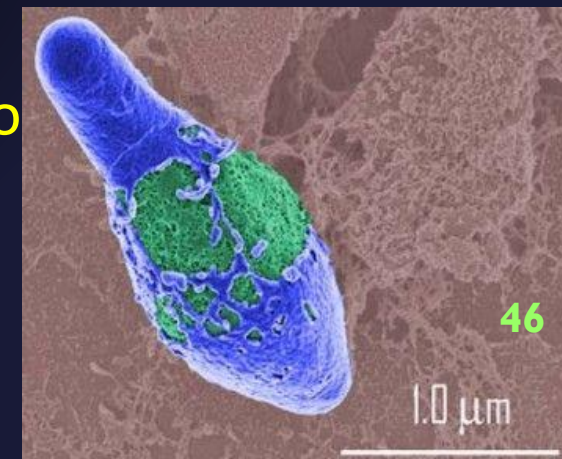


Clostridium botulinum – вид бактерий рода *Clostridium*; вызывает ботулизм – пищевую интоксикацию с преимущественным поражением центральной нервной системы.

Болезнь возникает в результате употребления пищевых продуктов, содержащих токсины *C. botulinum*.

Таксономия и классификация *Clostridium botulinum*

- Сем. – *Clostridiaceae*, Под – *Clostridium*.
- Возбудители ботулизма – *C. botulinum* – классифицируются как один вид, однако это неоднородная группа бактерий, продуцирующих фармакологически сходный, но антигенно различный токсин. Известно 8 серологических вариантов ботулинического токсина и, соответственно, 8 серотипов *C. botulinum* – **A**, **B**, C1, C2, D, **E**, **F**, G.
- Человек поражается только токсинами **A**, **B**, **E** и **F**, безвредными для млекопитающих и птиц.
- Особенно опасен токсин **A**, смертельная доза которого для человека составляет всего 10^{-8} г (6 кг достаточно, чтобы отравить все человечество на Земле!).



Возбудитель ботулизма (сем. – *Bacillaceae*, род – *Clostridium*, вид – *C. botulinum*)

- *C. botulinum*, являясь сапрофитом, распространен повсеместно (в почве, гниющих растениях, иле озёр и т.д.). Пищеварительный тракт птиц, млекопитающих и рыб нередко содержит эти клостридии, но обычно это транзиторное состояние.
- Естественный резервуар и источник возбудителя – почва и различные животные.
- Механизм передачи – фекально-оральный,
- Путь передачи – алиментарный. Споры, попадая в пищевые продукты (мясные, овощные, особенно консервированные), прорастают, образуют токсин, который при употреблении пищи вызывает отравление.



Редкие формы ботулизма – раневой и младенческий

Детский.

У детей 3-8 мес. жизни ботулизм возникает в результате проникновения клостридий при родах через пупочный канатик. Болезнь протекает вяло вследствие поступления в организм малого количества токсина. Является причиной внезапной детской смертности.

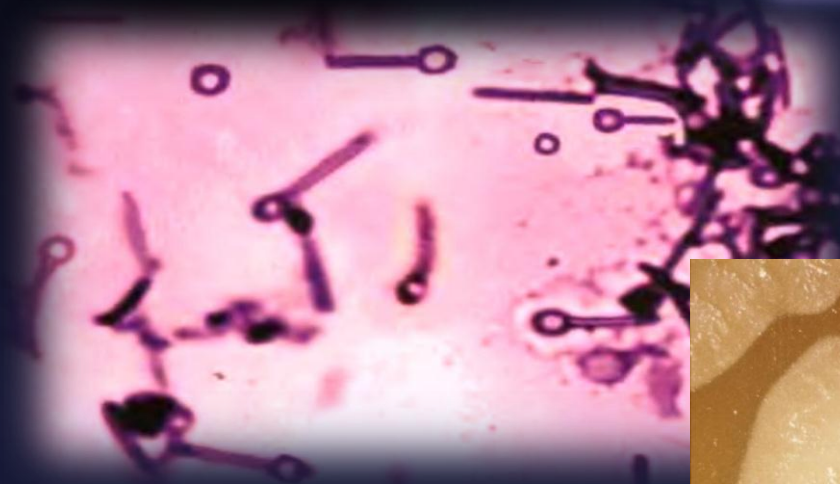
Не рекомендуется давать мед детям до года, так как в нем могут находиться споры бактерии *C. botulinum*. Попав в желудочно-кишечный тракт, споры прорастают в вегетативные формы, которые вырабатывают токсин.

Раневой ботулизм. При травмах в размозжённых, некротизированных тканях, лишённых доступа кислорода, создаются анаэробные условия, при которых происходит прорастание спор и **аккумуляция ботулотоксина.**

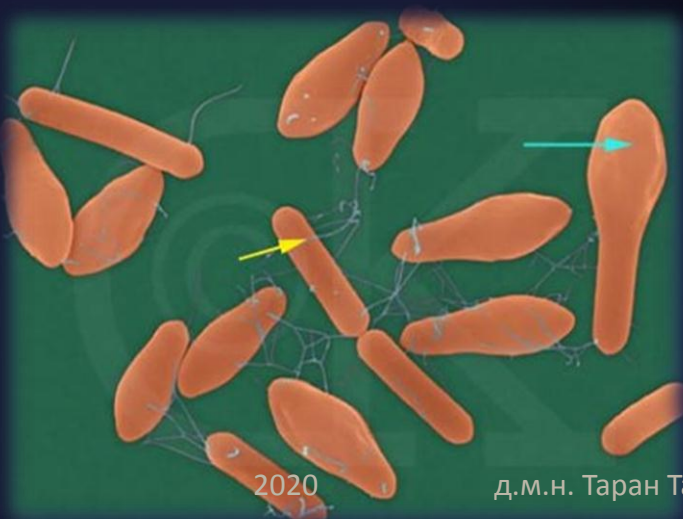


Морфология клостридий ботулизма

- Вегетативные клетки – крупные полиморфные палочки с закругленными концами, грам(+)
- Споры овальные, крупные, расположены субтерминально, поэтому возбудитель (со спорой) имеет форму теннисной ракетки.
- Не образуют капсулу.
- Подвижны (перитрихи).
- Облигатные анаэробы.

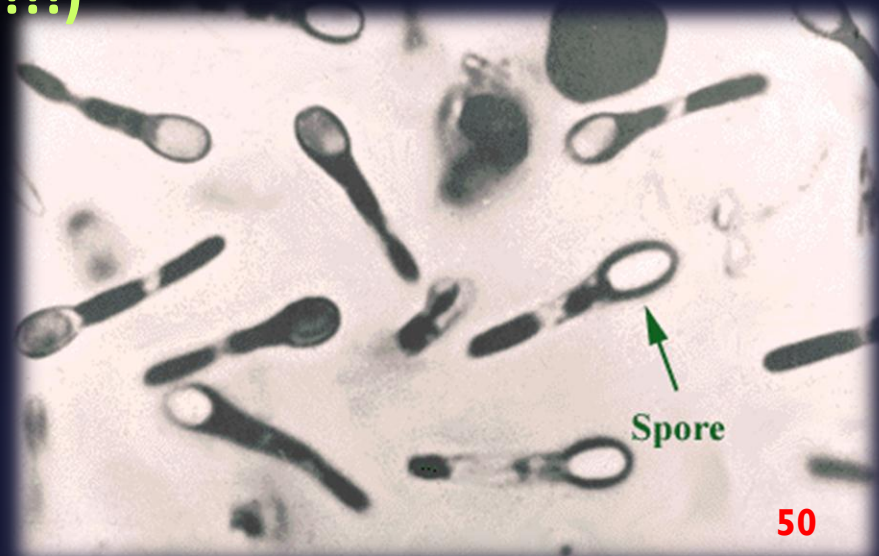


Споры



Антигенный состав и биохимические свойства *C. botulinum*

- У *C. botulinum* имеются группоспецифические жгутиковые (H-Аг) и типоспецифические соматические (O-Аг), не проявляющие токсических свойств - изучение антигенной структуры бактерий при идентификации не проводится.
- По структуре **ЭКЗОТОКСИНОВ** *C. botulinum* разделяют на 8 сероваров – А, В, $C_{1(\alpha)}$, $C_{2(\beta)}$, D, E, F и G.
- По биохимическим свойствам выделяют 4 группы клостридий ботулизма, но при идентификации они не определяются (**только токсин имеет значение!!!**)



Резистентность *C. botulinum*

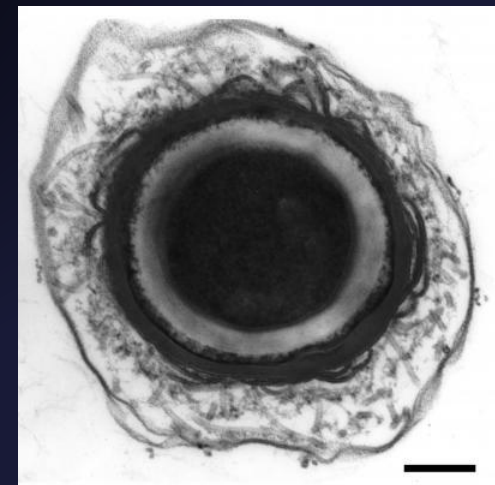
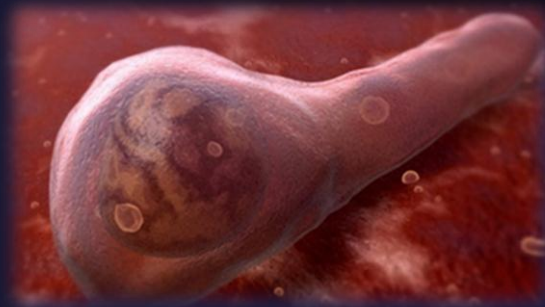
- Споры очень хорошо переносят низкие температуры (не погибают даже при минус 190 °С), в высушенном состоянии сохраняют жизнеспособность десятилетиями.
- Споры устойчивы к нагреванию (особенно тип А). Споры типов А и В переносят кипячение в теч. 5 ч, при 105 °С погибают через 1-2 ч, при 120 °С – через 20-30 мин. Встречаются штаммы, споры которых переносят температуру 120 °С в течение нескольких часов.

Инактивация спор может быть достигнута автоклавированием при 160-170 °С в течение 60-120 мин.

- Прорастание спор подавляется в кислой (рН 4,5) среде (соответствует 2 % раствору уксуса в маринадах) и при 10% концентрации хлористого натрия (полезно помнить при солении рыбы).
- Абсолютным условием для токсинообразования служит отсутствие кислорода (закатанные банки с консервами, герметизация в полиэтиленовых пакетах, размножение внутри мясного фарша и пр.).
- ***Токсины термолабильны, но для полной инактивации требуется кипячение в течение 20 мин.***

Патогенность для животных и человека

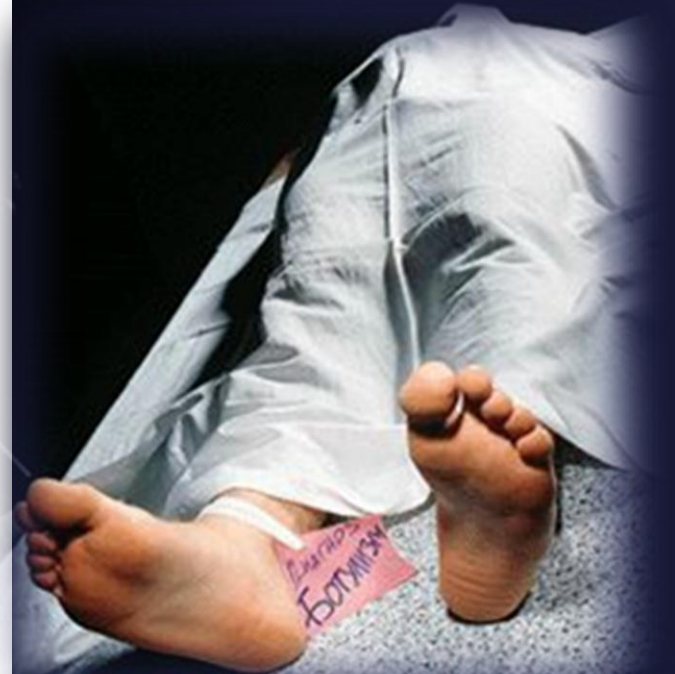
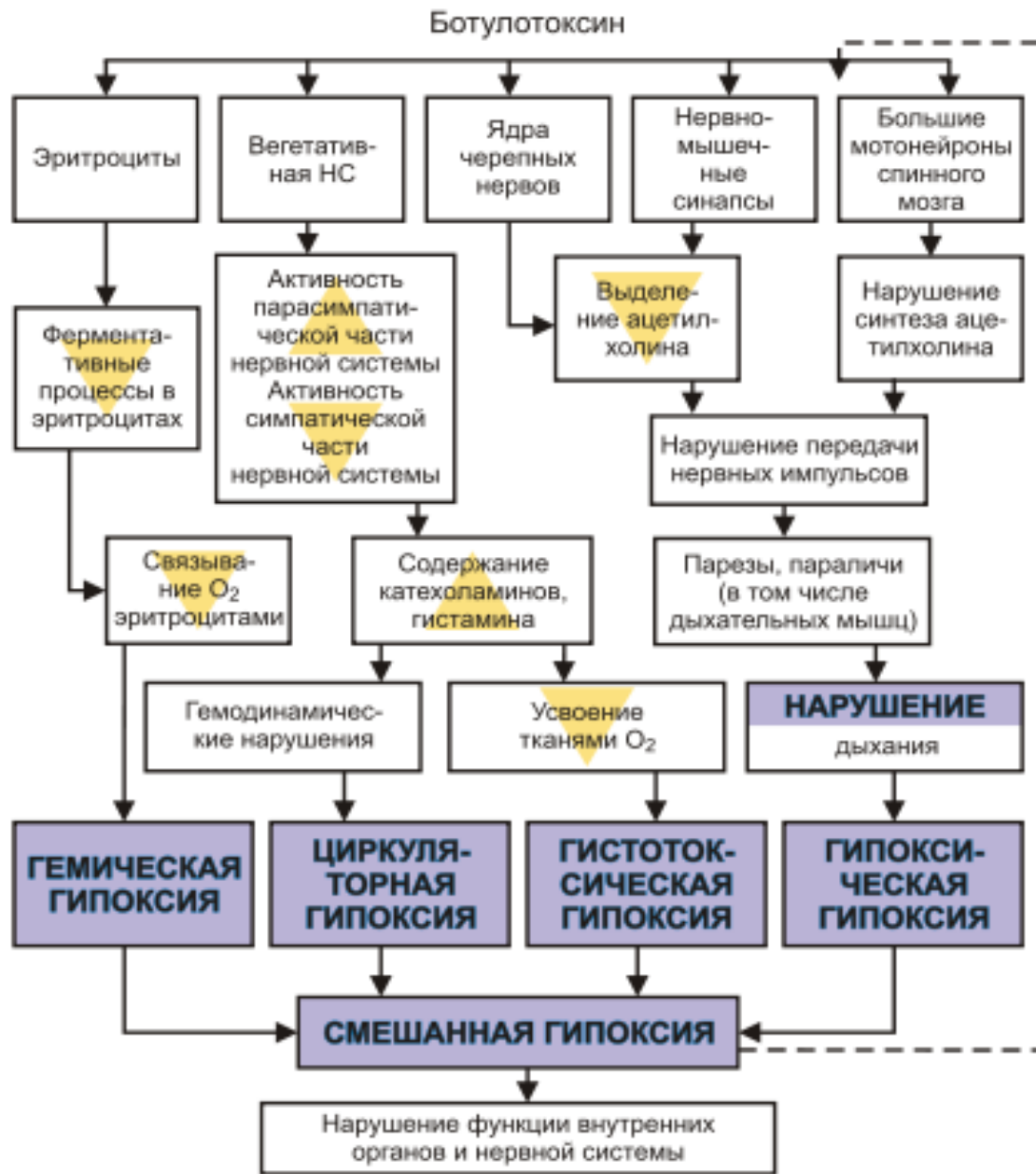
- Несмотря на статус самого сильного биологического яда (ботулотоксин в 15-100 тыс. раз токсичнее зарина!), восприимчивость к ботулотоксину значительно варьируется среди позвоночных животных.
- Заболевание у **человека** вызывают токсины типов **A, B, E** и очень редко **F**;
бактерии типов **C** и **B** - заболевания **животных и птиц** (редко от больных животных выделяют тип **A**); патогенность типа **G** для человека и животных **не доказана**.



Факторы патогенности, патогенез ботулизма

- Клостридии ботулизма продуцируют экзотоксин – ботулинический, обладающий нейротропным действием.
- Относится к *бинарным* токсинам – состоит из двух субъединиц, одна из которых (**В**) отвечает за адсорбцию на рецепторах чувствительных клеток – нейронов, другая (**А**) – за проникновение в них путем эндоцитоза и развитие последующих событий.
- Токсин быстро всасывается из верхних отделов ЖКТ в кровь и попадает на нервно-мышечные синапсы; связывается с мембраной синапсомы; проникает в нервную клетку путем эндоцитоза.
- Механизм действия ботулотоксина состоит в ингибции кальций-зависимого освобождения ацетилхолина, **блокаде функциональной активности нейрона.**

Схема патогенеза ботулизма

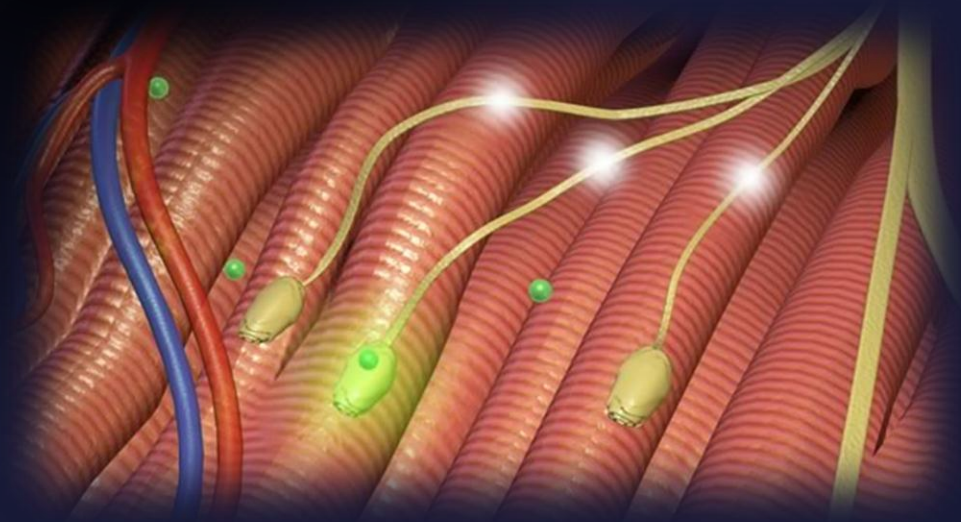


▲ — усиление, активация
▼ — ослабление, угнетение

Клинические стадии ботулизма

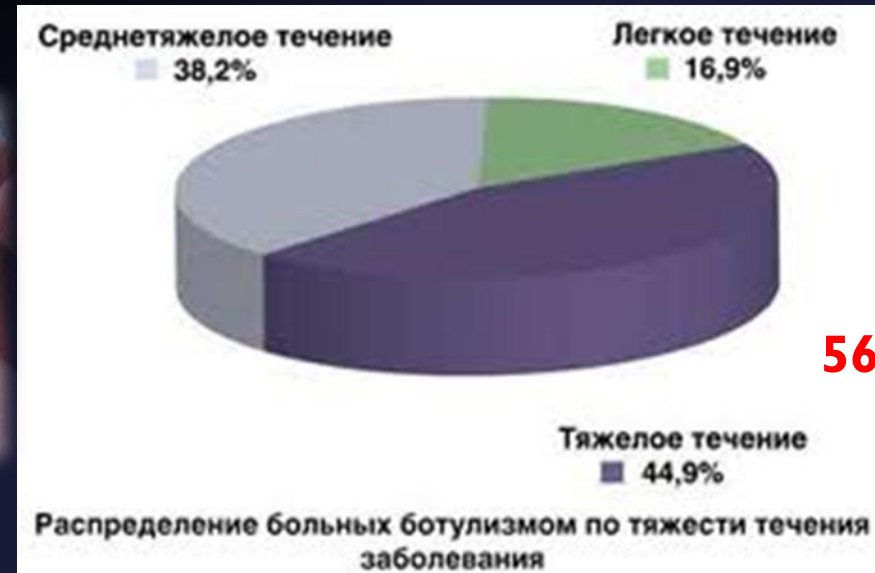
- Инкубационный период. В большинстве случаев бывает коротким и составляет 4-6 ч.
- Продромальный (начальный) период.
- По характеру основных клинических проявлений условно выделяют варианты ботулизма:
 - Гастроэнтеритический вариант.
 - «Глазной» вариант.
 - Вариант острой дыхательной недостаточности.
- Разгар болезни
- Исход болезни

Периферические поражения
нервно-мышечной передачи
при ботулизме



Ботулизм

- Вовлечение краниальных нервов ведет к **диплопии** (двойное видение), **дисфагии** (затруднение глотания) и **дисфонии** (затруднение речи).
- Зрачки расширены и неподвижны, опущение верхнего века.
- Из-за ослабления или даже прекращения секреции слюны возникает сухость во рту, падает тонус мышц шеи и туловища.
- Летальность достигает 20-40% на фоне паралича дыхательных мышц или сердечной недостаточности.
- Сознание сохраняется вплоть до смерти (токсин не проникает через гематоэнцефалический барьер).

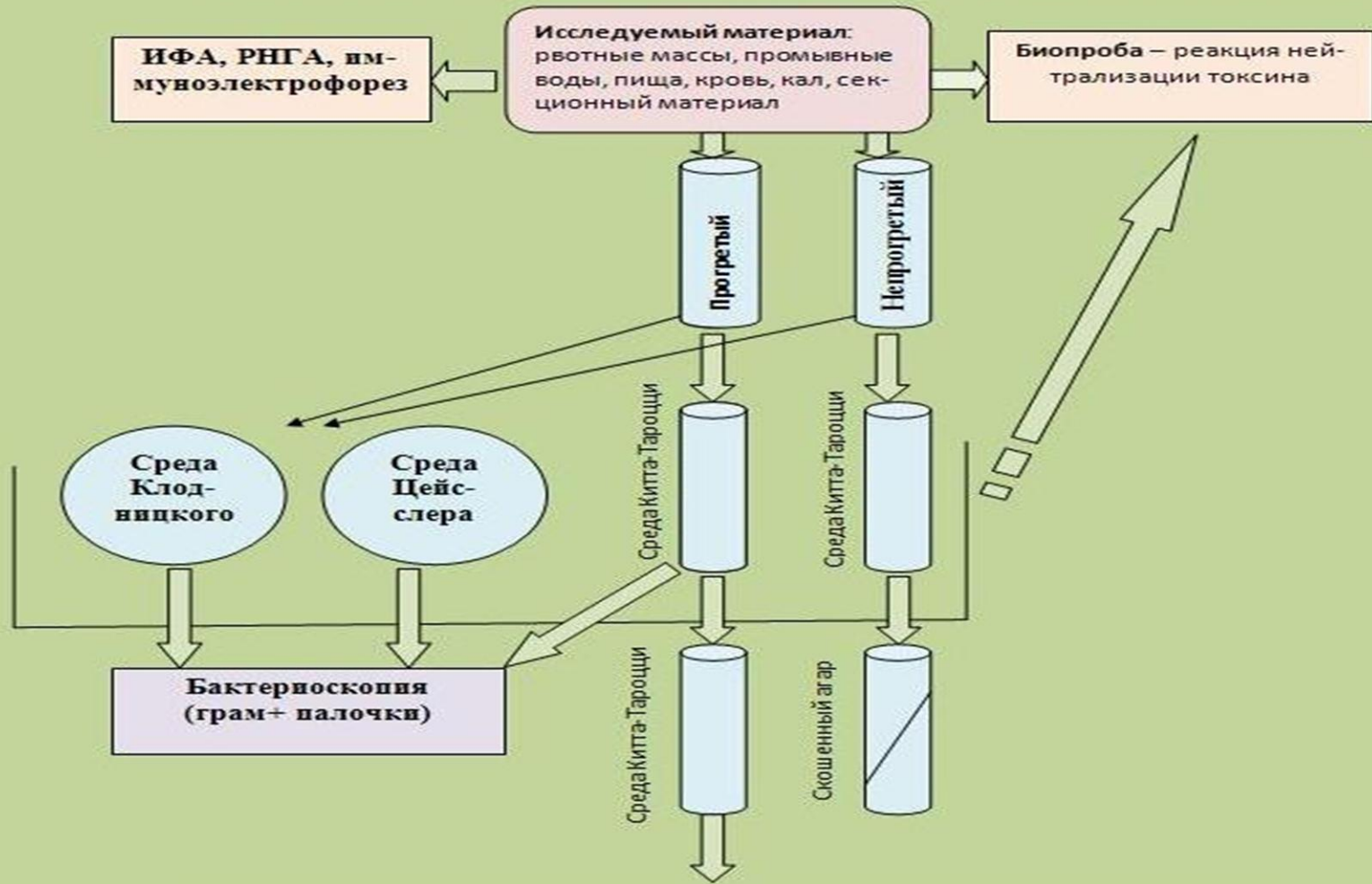


56

Иммунитет к ботулизму

- Динамика заболевания не сопровождается выработкой значимых титров АТ, что связано с незначительной (с точки зрения иммуногенных свойств) дозой токсина, вызвавшей поражение – перенесенное заболевание не оставляет значимого антитоксического иммунитета.
- У выздоровевших пациентов в сыворотке определяют АТ к токсину и микробным клеткам, что свидетельствует о комплексном характере иммунного ответа, направленного как на связывание токсина, так и на элиминацию возбудителя.
- Следовательно, ботулизм можно рассматривать не только как интоксикацию, но и как токсикоинфекцию (конечно, не отрицая ведущей роли токсина в патогенезе заболевания).

Принципиальная схема бак. выделения *C. botulinum*



Биологическая проба на мышах

- Берут не менее 5 мышей.
- Одну из них заражают только исследуемым материалом, а каждую из остальных четырех – смесью материала с 200 АЕ антитоксической сыворотки соответствующего типа — А, В, С и Е.
- Смесь при комнатной температуре выдерживают 40 мин для нейтрализации токсина антитоксином.
- При наличии в исследуемом материале ботулинического токсина погибают все мыши, кроме той, которой была введена смесь материала с антитоксической сывороткой, нейтрализовавшей действие гомологичного типа токсина.

- Для **экспресс-индикации** токсинов ставят РПГА с антительным диагностикумом (эритроциты, сенсibilизированные антитоксинами соответствующих типов). Современные перспективные методы основаны на индикации токсинов в ИФА, РИА или ПЦР.
- Высококочувствительный и специфический метод обнаружения ботулинического токсина основан на его способности **подавлять активность фагоцитов**. В присутствии соответствующей антитоксической сыворотки лейкотоксическое свойство токсина нейтрализуется.



2020

Специфическая профилактика и лечение

- Активная иммунизация. Для вакцинопрофилактики ботулизма применяют **ботулинический полианатоксин**, входящий в состав комплексной вакцины для профилактики анаэробных инфекций.
- Пассивная иммунизация (серофилактика и серотерапия). Следуя патогенетической логике, больным вводят *антитоксические сыворотки* против токсинов (**А, В и Е**), доминирующих при ботулизме у человека. Но, обладая профилактическим эффектом, они приносят **мало пользы в борьбе с уже развившимся заболеванием**. Как и при столбняке, **токсин, транслоцированный в нейроны, недоступен для антител**.
- Для экстренной профилактики используется лошадиная поливалентная сыворотка (типов А, В, С, Е), выпускаемая в жидком и сухом виде. Однократного введения обычно бывает недостаточно, поэтому ее вводят ежедневно до достижения клинического эффекта.
- После лабораторного выявления серотипа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа (типоспецифическую).

Применение ботулотоксина с лечебной целью

- ◆ Показания к применению ботулотоксина чрезвычайно широкие, он эффективен для временного устранения любых проявлений мышечной гиперактивности: дистонии, спастичности, тремора, других гиперкинезов, а также спазмов гладких мышечных волокон (ахалазия кардии, асинергия сфинктера мочевого пузыря, трещины анального прохода, вагинизм).
- ◆ Отдельной широкой сферой применения является косметология, где ботулотоксин зарекомендовал себя как эффективное средство для разглаживания гиперкинетических морщин.
- ◆ Ботулинический нейротоксин типа A-гемагглютинин комплекс используется в современной косметологии под торговыми названиями «Ботокс», «Диспорт» и «Лантокс».



2020



д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



Боевое применение ботулотоксина

- ◆ В XX веке при подготовке к химической и бактериологической войне разрабатывались методы производства **токсина** ботулизма для военных и диверсионных целей.
- ◆ В США во время **Второй мировой войны ботулотоксин** рассматривался как перспективное биологическое оружие, но позднее Соединённые Штаты отказались от его разработки.
- ◆ В военных центрах США, Англии и Канады рассматривался именно **ботулотоксин типа А**, который наиболее опасен для человека.
- ◆ Существует версия, что **ботулотоксин** был применён при убийстве **Рейнхарда Гейдриха** бойцами чехословацкого сопротивления, которых подготовили британские спецслужбы.
- ◆ В 1971 г. Генеральная ассамблея ООН одобрила **конвенцию о запрете разработки, производства и накопления запасов токсического оружия и об их уничтожении**. Участниками конвенции (1985 г.) является 101 государство.

Боевое применение ботулотоксина

- В результате многолетних исследований в 1975 г. **ботулотоксин типа А** был принят на вооружение армии США под шифром **XR**, запасы которого хранятся в арсенале Пайн-Блафф в штате Арканзас.
- **Токсичность** при ингаляции для человека LD_{50} 0,00002 мг·мин/л для сухого XR и 0,0001 мг·мин/л – для его рецептур. Летальный исход может наступить в течение трёх суток. В воздухе аэрозоль эффективен как биооружие в течение 12 часов.
- **Дегазировать XR** можно только с помощью водных растворов **активного хлора** 100-350 мг/л, например 0,1-0,2 % растворами хлораминов или гипохлоритов. Особенно легко **дезактивируют XR** растворы **формальдегида** (токсичность снижается на 99 % в течение минуты).
- Наиболее опасно для популяции биологическое оружие в виде **аэрозоля**, т.к. **токсин** хорошо **всасывается** со слизистых оболочек глаз и верхних дыхательных путей.
- Защита от аэрозоля XR надёжно обеспечивается противогазами и респираторами.

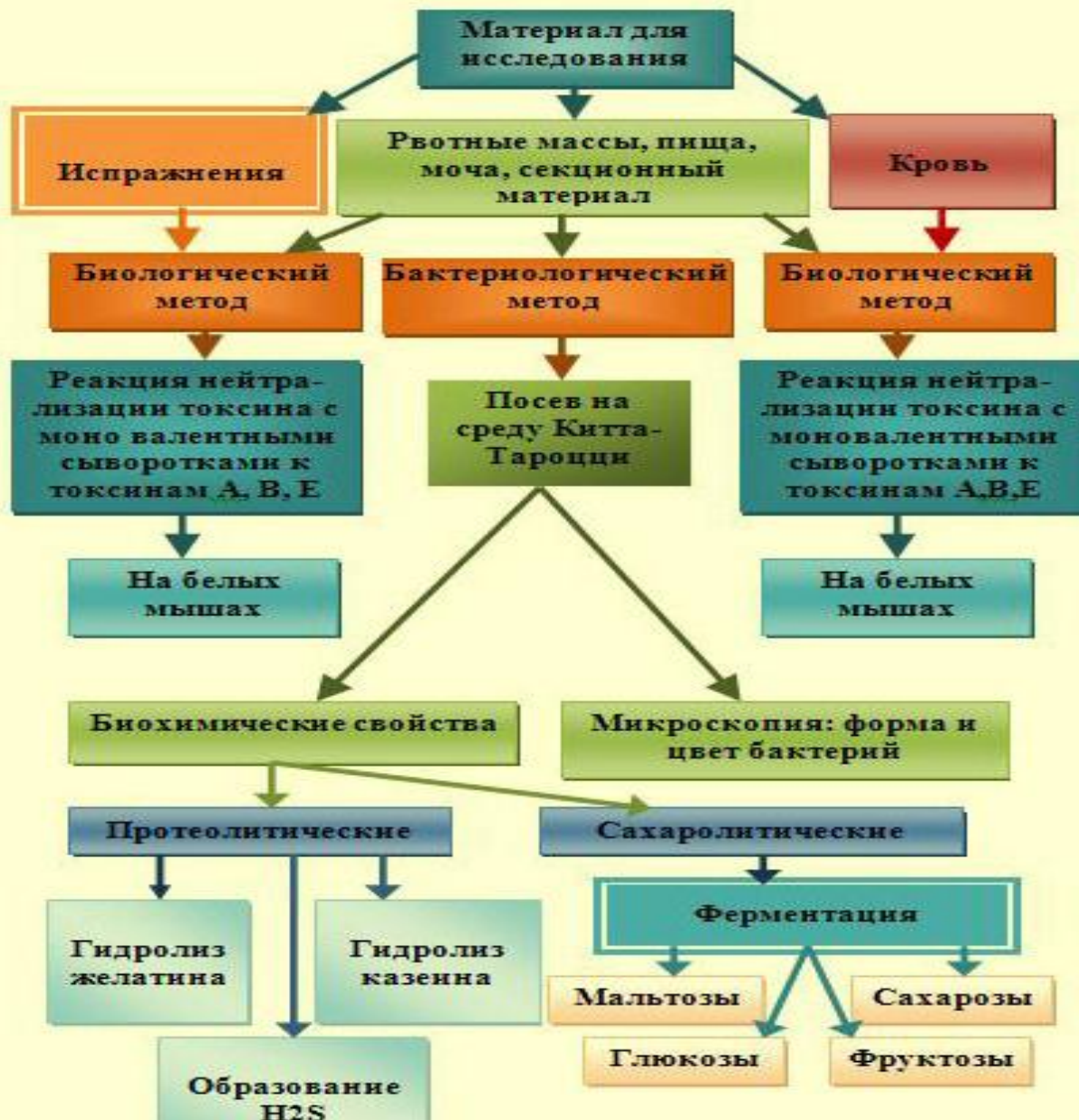


Благодарю за внимание

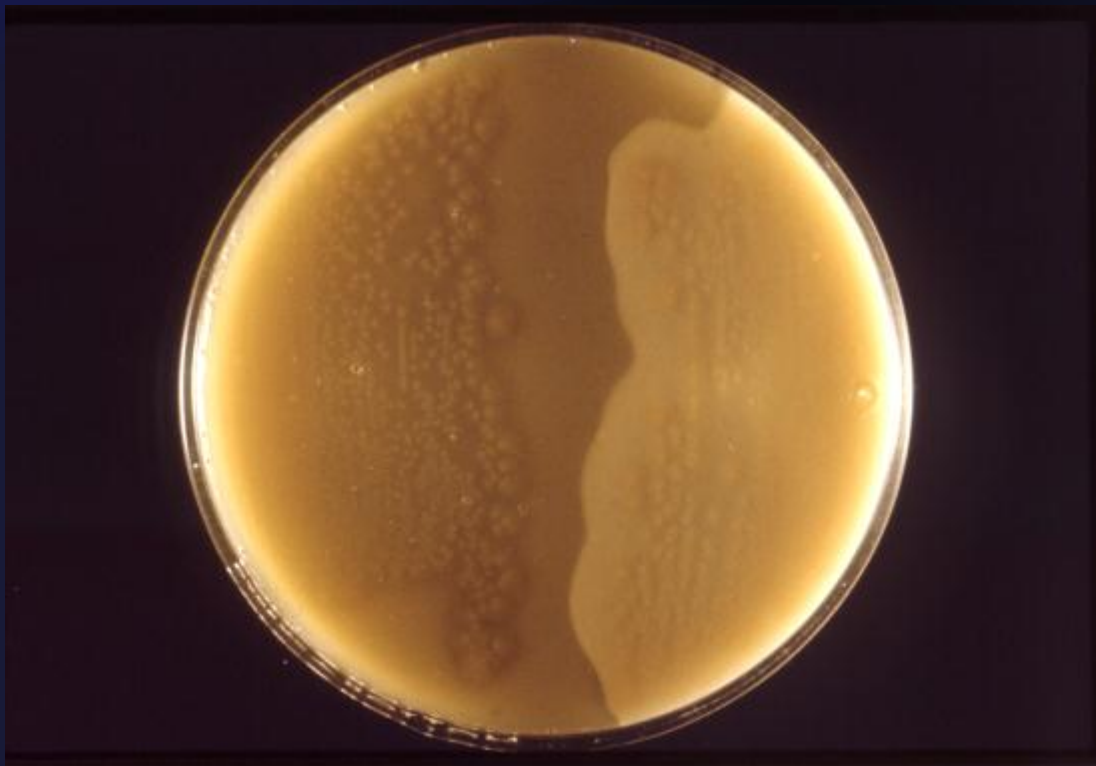


Благодарю за внимание

Лаб. диагностика ботулизма

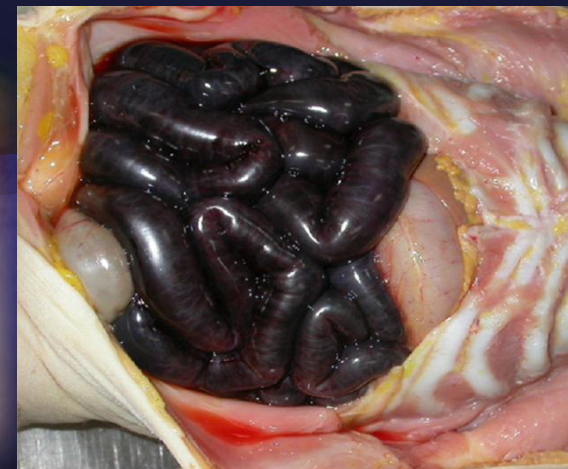


Газовая гангрена, лецитиназная активность

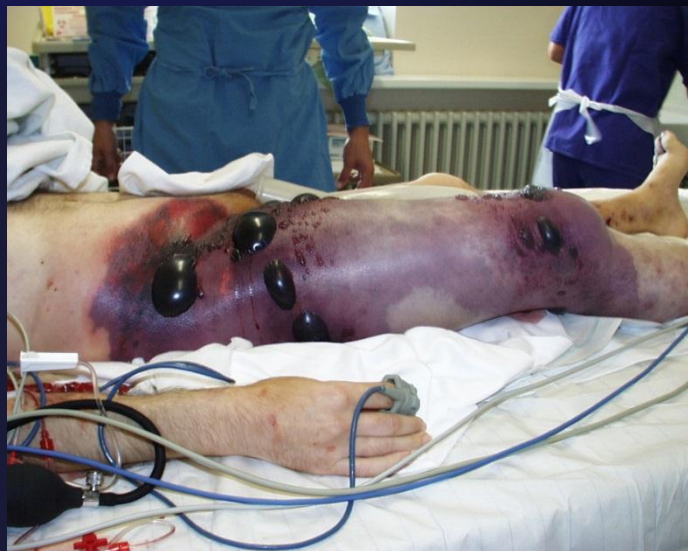




gangrene



wet gangrene of the intestine



Ткани, как правило, черного цвета из-за распада гемоглобина и осаждения серосодержащих соединений бактериями.

◆ Rickettsia tsutsugamushi Bacteria

