

Занятие 5.

**Микробиологическая диагностика заболеваний,
вызываемых анаэробными бактериями (клостридии и
бактероиды)**

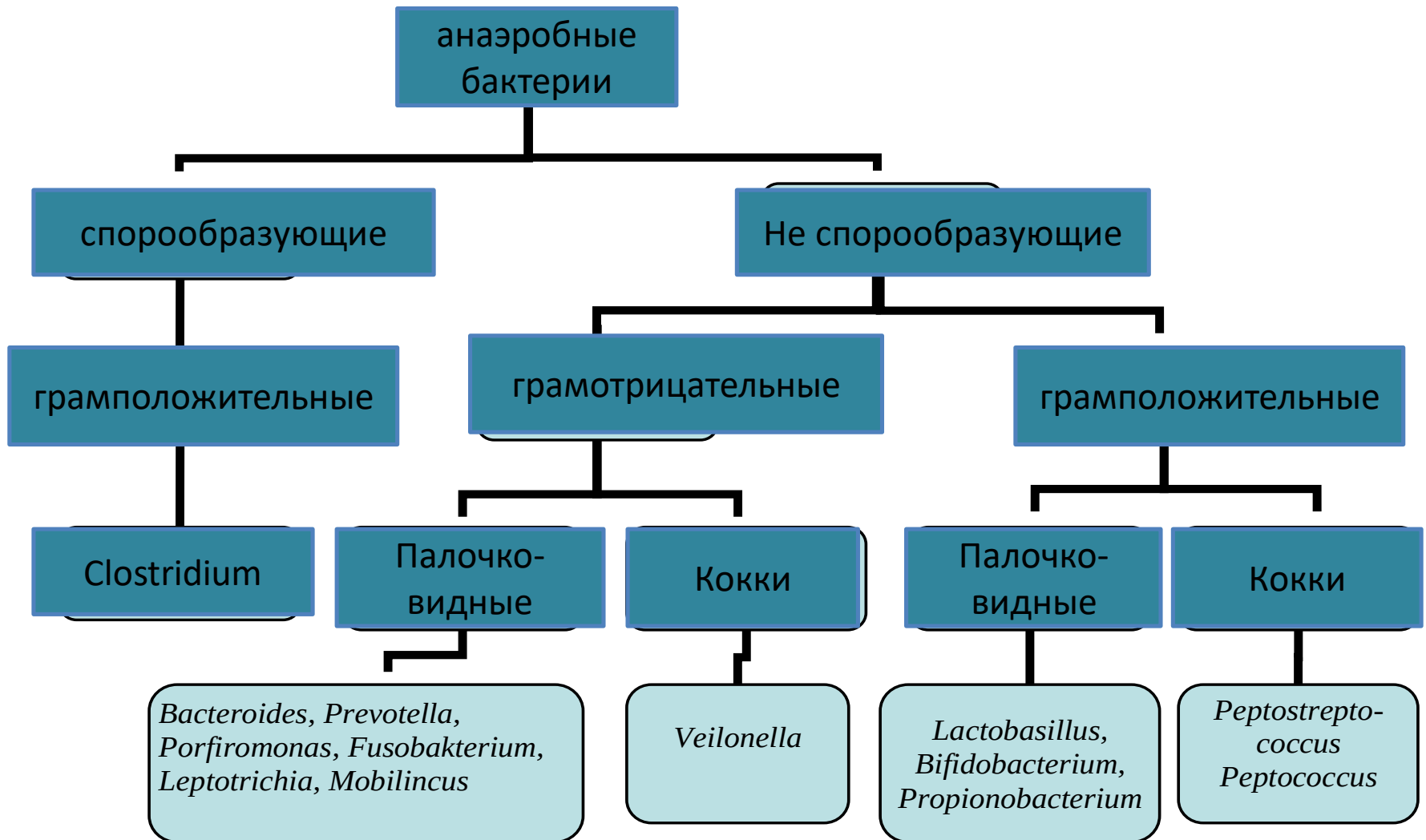
Обсуждаемые вопросы:

- 1. Возбудитель столбняка, морфобиологические особенности, патогенез заболевания, микробиологическая диагностика, принципы специфического лечения и профилактики.
- 2. Возбудитель ботулизма, морфобиологические особенности, патогенез заболевания, микробиологическая диагностика, принципы специфического лечения и профилактики.
- 3. Возбудители газовой анаэробной инфекции, морфобиологические особенности, патогенез заболевания. Другие заболевания, вызванные *C. perfringens* (пищевое отравление, некротический энтерит)
 - Микробиологическая диагностика газовой анаэробной инфекции, принципы специфической профилактики и лечения.
 - *Clostridium difficile*, морфобиологические особенности, патогенез псевдомембранозного колита, микробиологическая диагностика, проблемы профилактики и лечения
- 4. Условно-патогенные анаэробные бактерии, классификация. Морфобиологические особенности бактерий рода *Bacteroides*, принципы микробиологической диагностики вызываемых ими заболеваний.

Цель занятия:

- дать информацию студентам о морфобиологических особенностях патогенных анаэробов, являющихся возбудителями столбняка, ботулизма и газовой анаэробной инфекции, а также бактериями рода *Bacteroides*, методах микробиологической диагностики, принципах лечения и профилактики.вызываемых ими заболеваний.

Классификация анаэробных бактерий



Возбудители газовой гангрены

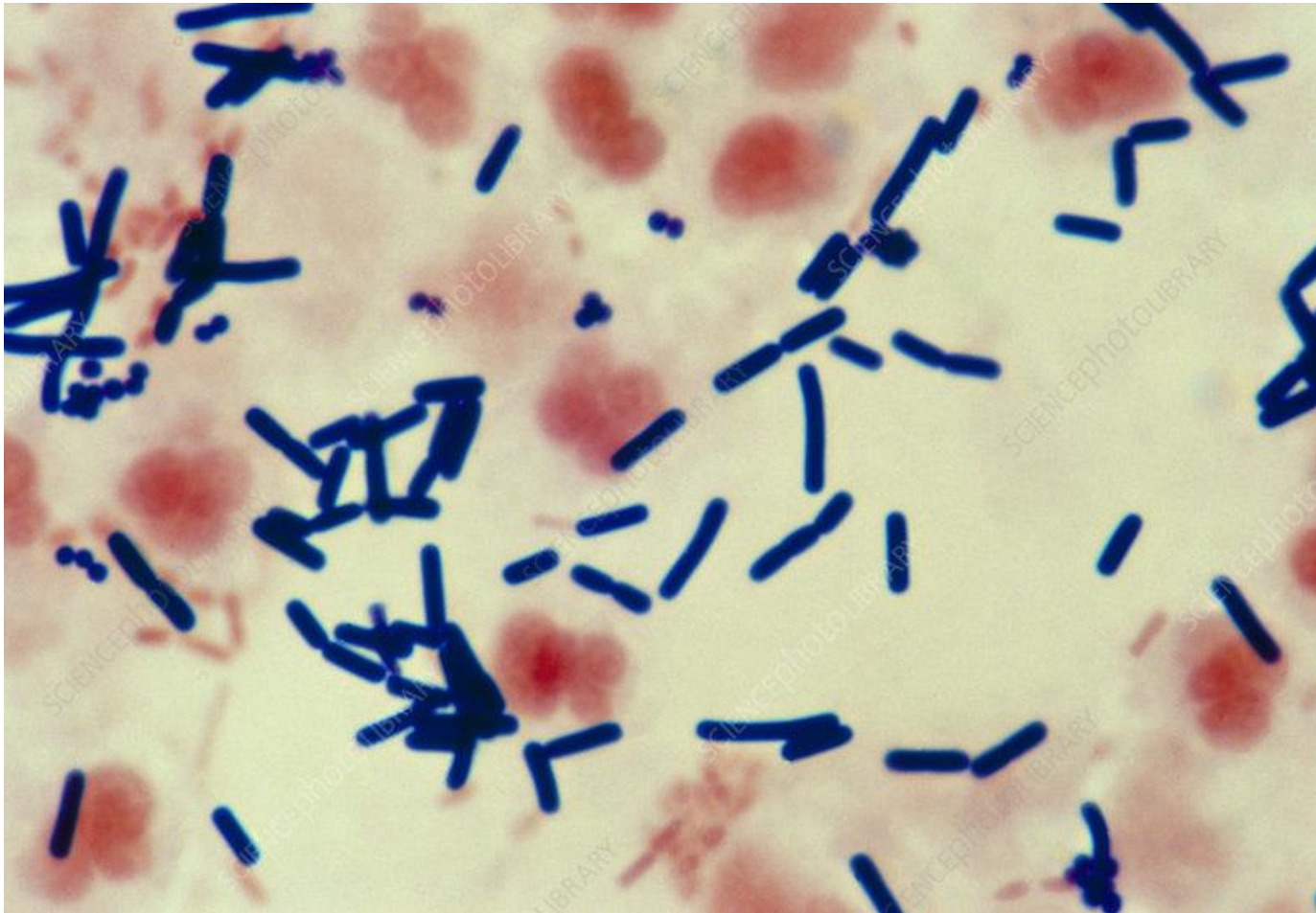
- К возбудителям анаэробной инфекции относятся бактерии рода *Clostridium* семейства *Bacillaceae*. Обычно заболевание обуславливается действием нескольких видов возбудителей рода *Clostridium* в ассоциации с различными аэробными бактериями (стафилококки, стрептококки и др.) .
- Основным возбудителем газовой гангрены (примерно 90%) является *C.perfringens*.

Морфо-биологические свойства

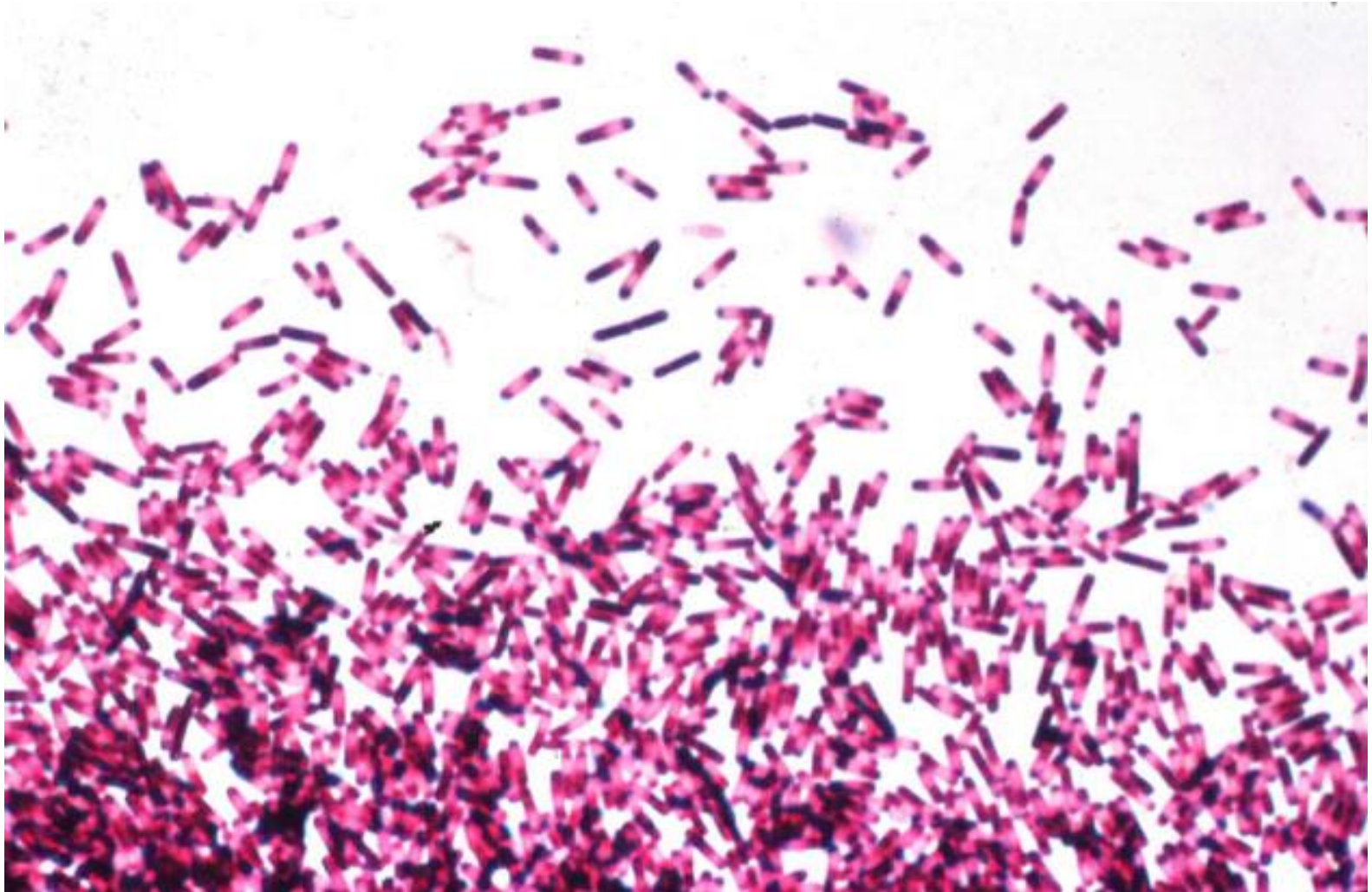
Clostridium perfringens

C. perfringens – крупные, грамположительные, неподвижные, образующие в организме капсулы полиморфные палочки. Образуют споры, расположенные центрально или субтерминально. Биохимически активны. Расщепляют углеводы с образованием кислоты и газа. Протеолитическая активность слабая. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка, напоминающего пену на волнах. Этот феномен известен как **штормовая реакция**.

Clostridium perfringens
(в мазке из содержимого раны)



Clostridium perfringens



Культуральные свойства:

- *C.perfringens* – аэротолерантные анаэробы.
- Растут на питательных средах, приготовленных из гидролизата мяса и казеина при температуре 37-42⁰С, рН 7,2-7,4 в течение 3-8 часов.
- Рост на жидких питательных средах проявляется **помутнением** и интенсивным **газообразованием**.
- При росте в глубине пробирки с агаром вызывает разрыв столбика среды вследствие бурного образования газа.
- Образует S-, R-, а иногда и слизистые М-колонии на твердых питательных средах. В начале культивирования образует прозрачные округлые, куполообразные, с ровными краями S-колонии, затем матовые, серовато-белого цвета. R-колонии неправильной формы, пузырчатые, с неровными краями.

Культуральные свойства:

- На плотных питательных средах с добавлением крови образует колонии с двойной зоной гемолиза. Вокруг колоний полный гемолиз образуется за счет действия гемолизина, на отдалении — неполный за счет действия лецитиназы.

Clostridium perfringens

(рост на среде Китта-Тароцци)



Clostridium perfringens

(колонии на кровяном агаре)



Clostridium perfringens

(разрыв столбика агар вследствие образования газа)



Ферментативная активность:

- *C.perfringens* обладает высокой биохимической, в особенности сахаролитической активностью.
- Углеводы - лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, ксилозу, галактозу, маннозу, крахмал и гликоген расщепляет с образованием кислоты и газа, не сбраживает маннит и дульцит.
- От прочих клостридий отличается способностью восстанавливать нитраты, расщеплять лактозу и образовывать лецитиназу.
- Протеолитическая активность слабая - интенсивно створаживает молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка («штормовая реакция»), медленно разжижает желатин, не разлагает казеин.

Антигенная структура:

- Выделяют 6 серотипов – А, В, С, D, Е, F, различающихся по антигенным свойствам продуцируемых экзотоксинов.
- Серотип **А** является обитателем нормальной микрофлоры кишечника, но может вызывать газовую гангрену и пищевые токсикоинфекции у человека.
- Серотип **В** вызывает кишечные расстройства у ягнят
- Серотип **С** вызывает некротический энтероколит у человека и крупного рогатого скота
- Серотип **D** вызывает энтеротоксинемию у животных.

Факторы патогенности:

- Токсин обладает летальным, некротическим и гемолитическим свойствами и объединяет как минимум 14 факторов, обозначаемых греческими буквами.
- *Альфа (α)-токсин (фосфолипаза C)* - продуцируют все серотипы *C.perfringens*, является основным фактором патогенности всех возбудителей газовой гангрены. α -токсин являясь цитотоксином, обладает лецитиназной активностью .
- *Тета (θ)-токсин* –перфринголизин, *каппа (κ)-токсин* – коллагеназа, *ми (μ)-токсин* –гиалуронидаза, *ни (ν)-токсин*–ДНК-аза и др. в отдельности не оказывают действия, только усиливают действие α -токсина.
- *C.perfringens серотипа А* образуют энтеротоксин, вызывающий пищевые токсикоинфекции .

Экология

- *C. perfringens* обычно обитает в кишечнике человека и животных, откуда распространяется в окружающую среду с фекалиями, поэтому широко распространен в почве, воде и сточных водах.
- Серотип А чаще выявляют в почве и фекалиях.
- *C. perfringens* — одна из санитарно-показательных бактерий почвы.

Источник инфекции и пути передачи:

- Естественный резервуар возбудителя инфекции – почва.
- Путь передачи - контактный. Заражение раны происходит при попадании клостридий с почвы или с загрязненными почвой предметами.
- Газовая гангрена наиболее чаще наблюдается в ранах где развиваются анаэробные условия (в глубоких слоях мышечной ткани, в раневых карманах, некротических тканях).
- Заболеваемость значительно возрастает во время военных действий у раненых. В мирное время чаще заражаются строители, шахтеры, работники сельского хозяйства. Заражение газовой гангреной может развиваться и после автомобильных аварий, операций на брюшной полости, внебольничных абортов

Clostridium perfringens

(вызываемые заболевания)

- *Газовая гангрена*
- *Пищевая токсикоинфекция* (развивается при употреблении пищи, контаминированной *C.perfringens*)
- *Некротический энтерит*

Газовая гангрена

- Споры *Cl.perfringens* после попадания в рану с почвой или инородными телами развиваются и при соответствующих условиях переходят в вегетативные формы. Токсины, выделяемые возбудителями, разрушают здоровые клетки (альфа-токсин) и расширяют зону некроза за счет разрушения соединительной ткани (гиалуронидаза, коллагеназа). Ферментация гликогена в мышечной ткани с образованием молочной кислоты, углекислого газа и водорода вызывает один из основных симптомов газовой гангрены — крепитацию: в результате скопления образовавшегося газа в промежутках между мышцами возникает звук и при пальпации области раны выслушивается похожее на «шуршание снега». Некротические изменения сосудов вызывают образование отека.

Клинические проявления газовой гангрены



Пищевая токсикоинфекция

- В основном вызывается серотипом А *S. perfringens*. Возбудитель не размножается в желудочно-кишечном тракте, бактериальные клетки, попадающие в тонкий кишечник с пищей, в процессе спорообразования выделяют энтеротоксин. Через 6-24 часа после еды проявляется болями в животе, диареей, иногда рвотой и лихорадкой.

Некротический энтерит

- Вызывается *C. perfringens* серотипа С. Причиной этого заболевания, основным симптомом которого является кровавый понос, является бета-токсин, синтезируемый *C. perfringens*, размножающийся в тонком кишечнике.

Микробиологическая диагностика газовой гангрены:

- **Материалы для исследования:** кусочки пораженной ткани, экссудат, гной, раневое отделяемое.
- **Микроскопический метод.** Обнаружение в мазке крупных грамположительных палочек, окрашенных по Граму – диагностический признак возбудителя.
- **Бактериологический метод.** Посев исследуемого материала на тиогликолевую среду, среду Китта-Тароцци и кровяной агар для выделения чистой культуры и идентификации возбудителя.

Микробиологическая диагностика газовой гангрены

- Для идентификации *C.perfringens* проводят инокуляцию в молоко. Бактерии створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов.
- Лецитиназную активность определяют в средах содержащих яичный желток.

Идентификация завершается проведением реакции нейтрализации токсинов со специфическими антитоксическими сыворотками.

***С.perfringens** створаживает молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов (“штормовая реакция”)*



Тест Неглера –при температуре 35°С в анаэробных условиях лецитиназаположительные бактерии образуют непрозрачные поля вокруг штрихов.



Профилактика газовой гангрены

- **Неспецифическая профилактика.** Хирургическая обработка ран, удаление некротизированных тканей и инородных тел, применение антисептиков могут в значительной степени предотвратить развитие заболевания.
- **Специфическая профилактика.** Применяют полианатоксин, содержащий анатоксины наиболее частых возбудителей газовой гангрены.
- С целью экстренной серопрфилактики при травмах вводится поливалентная антитоксическая сыворотка против газовой гангрены.

Лечение газовой гангрены:

- Антибиотики - пенициллин G (бензилпенициллин)
- Специфическое лечение - *антитоксическая сыворотка*

Прочие возбудители газовой гангрены:

- *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *Clostridium histolyticum* - подвижные, за счет перитрихиально расположенных жгутиков, что отличает их от *C.perfringens*; капсулу не образуют.
- *Clostridium sordellii*

Морфо-биологические свойства *Clostridium tetani*

C.tetani – грамположительные палочки с закругленными концами длиной 4-8 мкм и толщиной 0.4-1.0 мкм. Обладают подвижностью за счет перитрихиальных жгутиков; образуют споры округлой, реже овальной формы, расположенные терминально и придающие бактерии вид «барабанной палочки». Не образуют капсулу.

Морфо – биологические свойства

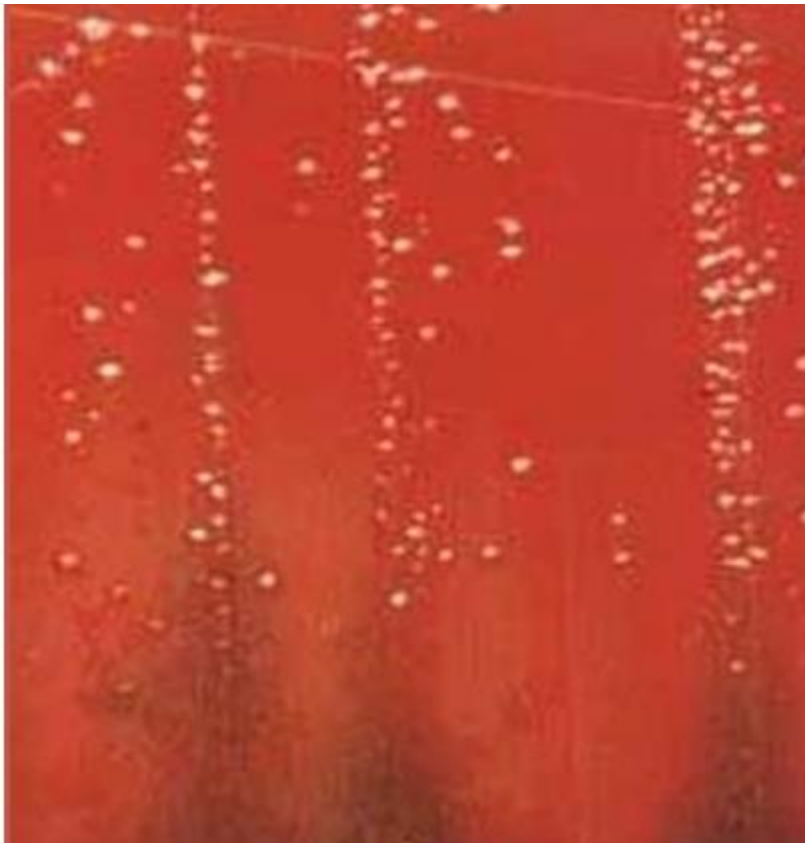
Облигатные анаэробы, хорошо растут на средах с соблюдением анаэробных условий. На средах Китта-Тароцци образуют помутнение, на среде Вильсона-Блера вызывают почернение среды.

Обладают слабой биохимической активностью. Не ферментируют углеводы, проявляют слабые протеолитические свойства. Медленно свертывают молоко и разжижают желатин.

Clostridium tetani



колонии *Clostridium tetani* на кровяном агаре



Clostridium tetani

(биохимические свойства)

- *C. tetani* обладает слабой биохимической активностью. Не расщепляет углеводы, но есть штаммы, ферментирующие глюкозу.
- Обладает слабыми протеолитическими свойствами. Постепенно расщепляет белки и пептоны до аминокислот, восстанавливает нитраты до нитритов, слабо портит молоко, слабо расщепляет желатин.

Clostridium tetani ***(антигенное строение)***

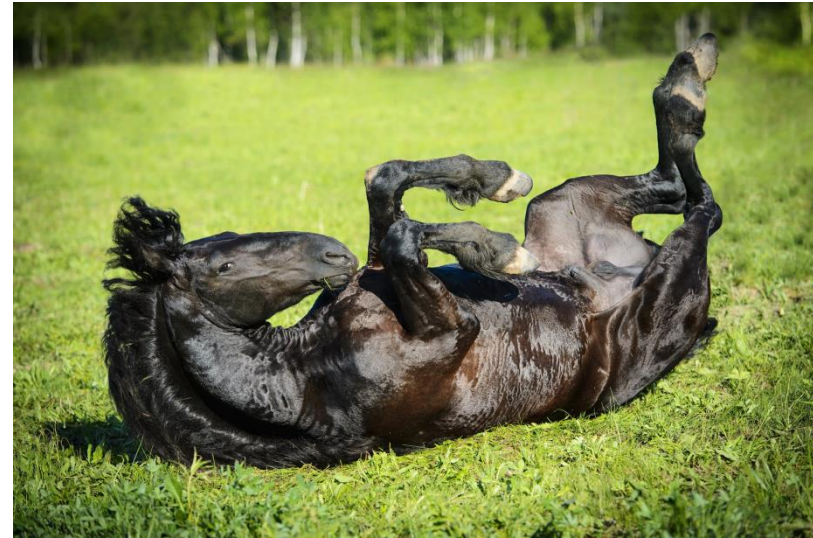
- Имеет О- и Н-антигены. По составу Н-антигена делится на 10 серотипов. Все серотипы имеют один и тот же О-антиген и секретируют экзотоксин с одинаковыми антигенными свойствами.

Устойчивость к факторам внешней среды:

- Вегетативные формы *C. tetani* при 60-70°C разрушаются в течение 30 мин.
- Так как споры стойкие, они долго сохраняются во внешней среде – почве. Может размножаться в почве регионов с теплым климатом.
- Может выдерживать кипячение несколько часов, растворы 5% фенола, 1% формалина убивают через 5-6 часов.

Чувствительность животных к столбняку

- В естественных условиях столбняком болеют лошади и мелкий рогатый скот.
- Из экспериментальных животных к возбудителю столбняка восприимчивы белые мыши, крысы и кролики.
- Столбняк у животных протекает при явлениях спастических сокращений поперечно-полосатой мускулатуры и поражения пирамидальных клеток передних рогов спинного мозга. Вначале в процесс вовлекаются конечности, а затем туловище(восходящий столбняк). Смерть наступает вследствие паралича сердечной мышцы.



Экология

- *C. tetani* широко распространена в окружающей среде — в почве, сюда она попадает с фекалиями людей и животных. Поэтому почвы, удобренные навозом, особенно богаты спорами.
- Столбняк чаще встречается в регионах с теплым климатом, где есть условия для длительного выживания спор, превращения их в вегетативные формы и размножения.

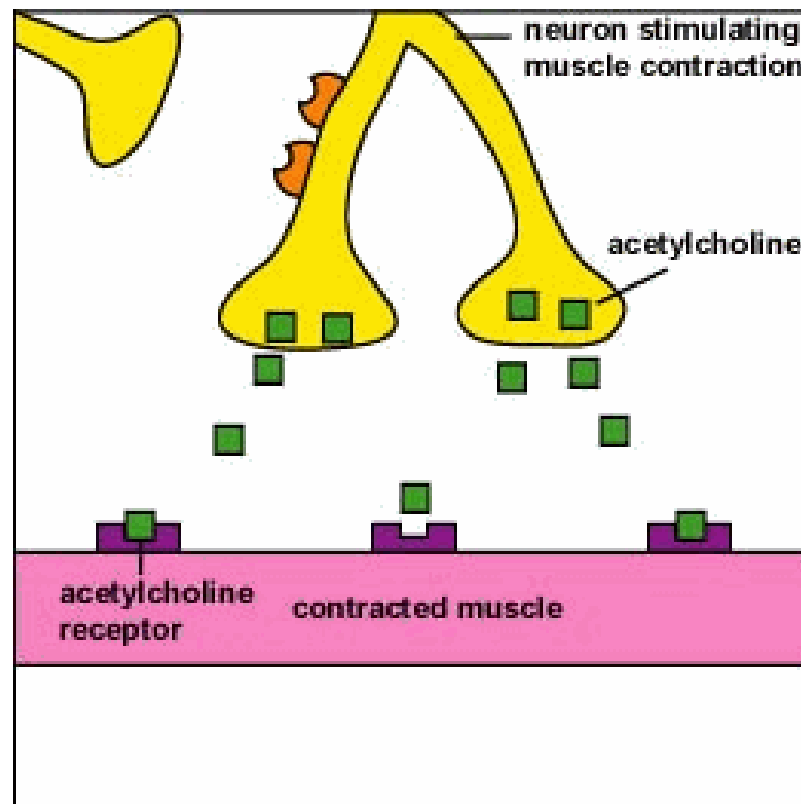
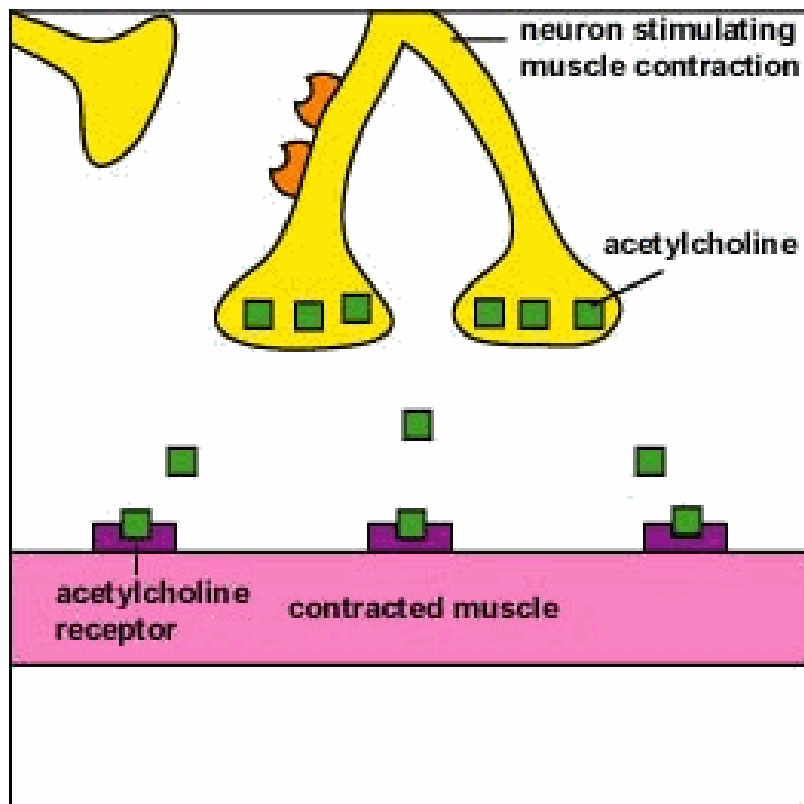
Источник инфекции и пути передачи

- Входные ворота инфекции - поврежденная кожа и слизистые оболочки
- Столбняк острая раневая токсинемическая инфекция. Больше половины заболевших это лица, живущие в сельской местности, работники сельского хозяйства, занимающиеся строительством дорог, домов и др.
- Наибольшую опасность представляют загрязненные почвой глубокие, слепые и пазушные раны, где создаются благоприятные условия для развития анаэробной инфекции.

Факторы патогенности и патогенез

- ***Тетаноспазмин (экзотоксин)*** поступает в кровь из первичного очага инфекции. Связываясь с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов, проникает в них и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС, где может внедриться в тормозящие нейроны. Механизм действия токсина связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности глицина и γ -аминомасляной кислоты, что вызывает перевозбуждение моторных нейронов и ведет к спастическим параличам, гиперрефлексии и судорогам.

Механизм действия тетаноспазмина



Клинические проявления столбняка:

- Инкубационный период составляет 1-2 недели. Основным проявлением заболевания является судорожный синдром, сопровождающийся болезненным мышечным **спазмом** (столбняк) и длительным напряжением мышц (мышечная ригидность).
- У человека заболевание проявляется нисходящим столбняком. Судороги мышц шеи и жевательных мышц (**тризм**) — одно из первых проявлений столбняка у человека. Затем появляется спазм мимических мышц лица — симптом форсированного (сардонического) смеха, затем спазмы распространяются на мышцы туловища и конечностей.
- Поскольку мышцы спины сильнее мышц живота, наблюдается состояние **опистотонуса**, которое сопровождается изгибом позвоночника назад: больной, лежа на спине, находится в положении «мостик», касаясь шейного и пяточного отделов.

Клинические проявления столбняка:

- *C. tetani* может заразить новорожденных детей через пуповину, в этом случае возникает «столбняк новорожденных». Клинические проявления столбняка у новорожденных такие же, как и у взрослых.

Клинические проявления столбняка:



Иммунитет

- Поскольку токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже дозы иммуногенной, иммунитет не формируется и отмечаются повторные случаи заболевания .
- Однако обратная зависимость смертности от болезни от продолжительности ее инкубационного периода позволяет предположить, что роль могут играть антитоксические антитела к токсину.
- С другой стороны, летальные исходы чаще встречаются на ранних стадиях заболевания.

Микробиологическая диагностика:

При столбняке обычно микробиологическая диагностика не проводится в виду выраженной картины болезни.

- С другой стороны, не всегда удастся обнаружить возбудителя на месте входных ворот инфекции .
- Большое значение в выявлении входных ворот инфекции имеют анамнестические данные.

Лечение

- Специфическое лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина антитоксином.
- С этой целью используют противостолбнячную антитоксическую сыворотку, либо противостолбнячный иммуноглобулин

профилактика

- **Неспецифические профилактические** меры. Большое значение имеет хирургическая обработка ран при травмах. Могут быть использованы Антибиотики – пенициллин G, цефалоспорины, метронидазол и др., чтобы ослабить развитие возбудителя, а также другой микрофлоры.
- **Специфическая профилактика** столбняка основана на создании искусственного активного иммунитета. Для этого используют столбнячный анатоксин (токсоид), адсорбированный в гидроксиде алюминия. Столбнячный анатоксин входит в состав многих вакцин - адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины (АКДС), адсорбированной дифтерийно-столбнячной вакцины (АДС) и секстанатоксиновых вакцин.
- Первичную вакцинацию проводят детям в 3-месячном возрасте с АКДС 3 раза с интервалом 30-40 дней. Затем проводят периодическую ревакцинацию согласно календарю прививок.
- Травмы, ожоги и обморожения, укусы животных, внебольничные аборты и др. в таких случаях проводят экстренную профилактику столбняка **анатоксином**. Для непривитых совместно со столбнячным анатоксином применяют донорский иммуноглобулин или **противостолбнячную антитоксическую сыворотку**.

Clostridium botulinum

Морфо-биологические свойства:

C.botulinum — подвижные полиморфные палочки с закругленными концами размером 4-9х0.6-1.0 мкм. Молодые культуры окрашиваются грамположительно, старые культуры —грамотрицательно. Капсулу не образуют. При неблагоприятных условиях образуют споры, располагающиеся субтерминально, что придает бактериям форму «теннисной ракетки»

Морфо-биологические свойства

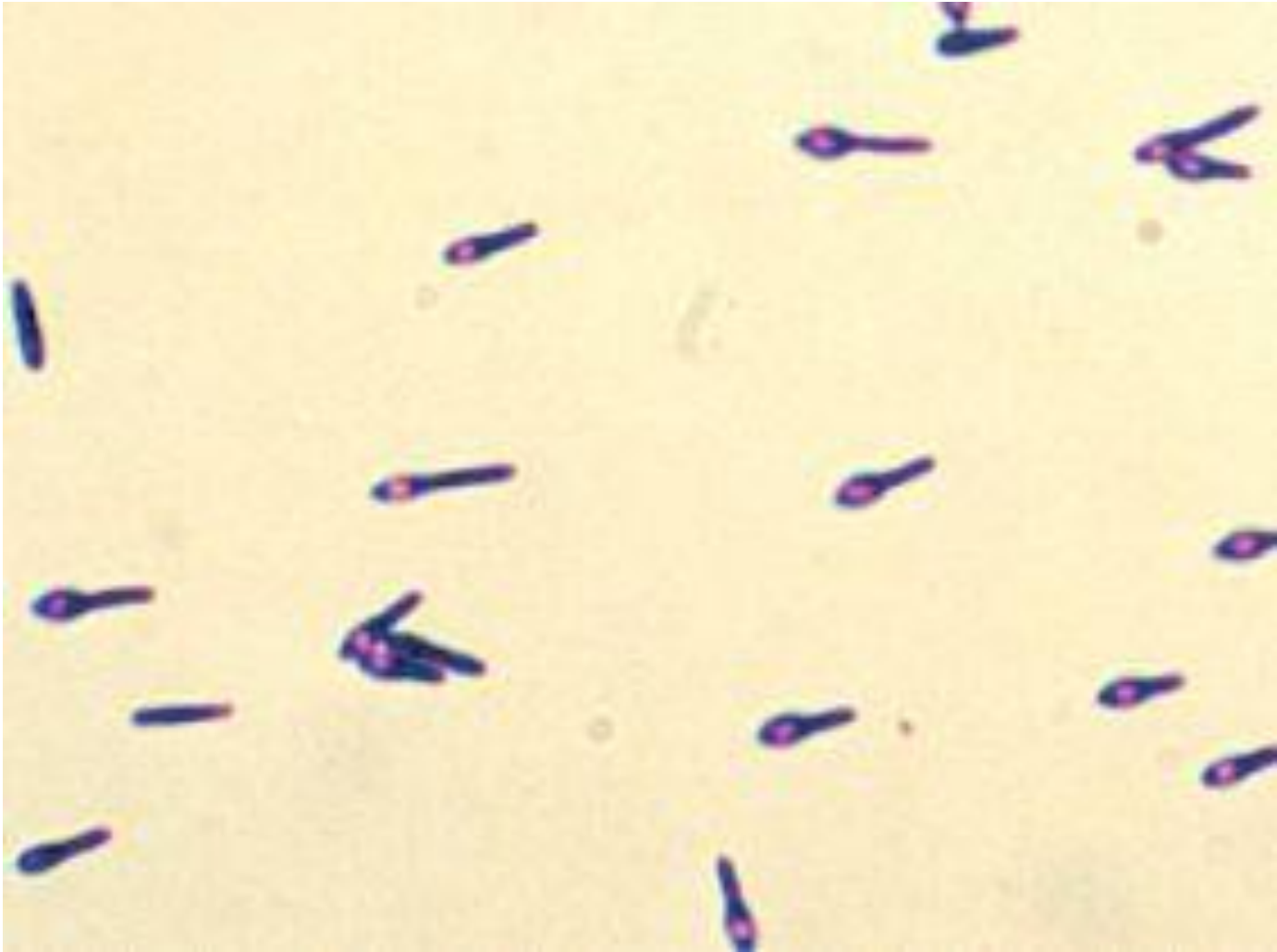
Облигатные анаэробы. На кровяном агаре с глюкозой образуют колонии неправильной формы с нитевидными ответвлениями и зоной гемолиза. На кровяном агаре образуют S-колонии в виде капелек росы, или R-колонии с неровными краями. На жидких средах (среда Китта-Тароцци, печеночный бульон) вызывают помутнение среды и газообразование.

Биохимически активны: ферментируют углеводы до кислоты и газа, сбраживают молоко, образуют желатиназу, лецитиназу, сероводород и аммиак .

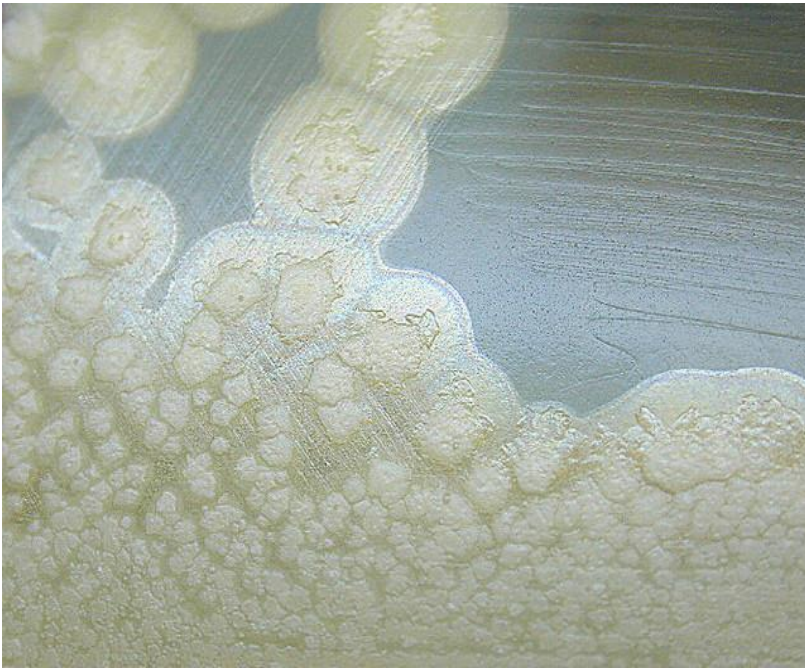
Clostridium botulinum **(биохимические свойства)**

- *C. botulinum* биохимически активен. Расщепляет многие углеводы — лактозу, глюкозу, мальтозу, глицерин — с образованием кислоты и газа.
- Вырабатывает желатиназу, лецитиназу, аммиак и сероводород.

Clostridium botulinum



КОЛОНИИ
Clostridium botulinum



Антигенная структура

Серологическая идентификация *C.botulinum* основана на выявлении продуцируемого ими экзотоксина, по их антигенной структуре бактерии разделяют на 8 сероваров: А, В, С1, С2, D, Е, F и G .

Устойчивость к факторам окружающей среды

- Вегетативные формы *C.botulinium* при 80 С разрушаются в течение 30 мин.
- споры устойчивые и долго сохраняются во внешней среде – почве.
- Устойчивы к кипячению в течение нескольких часов (до 5 часов), а в 5% растворе фенола сохраняется сутки. Споры при температуре 160-170°C разрушаются в течение 60-120 мин. во время

Экология, источник инфекции и пути передачи:

- *C.botulinium* широко распространен в почве и воде (загрязнение испражнениями животных и рыб).
- Из почвы споры могут попадать на продукты питания (в частности, мясные, рыбные, овощные консервы домашнего приготовления), где при возникновении анаэробных условий прорастают и выделяют экзотоксин. Употребление в пищу этих продуктов приводит к тяжелой пищевой токсикоинфекции - ботулизму.
- Наиболее часто заболевания вызывают типы А, В, и Е. Тип F редко вызывает заболевания у человека. Бактерии типа Е в основном вызывают заболевания при использовании в пищу рыбных продуктов.

Употребление в пищу консервированных мясных, рыбных и овощных продуктов представляют наибольшую опасность ботулизма !



Факторы патогенности:

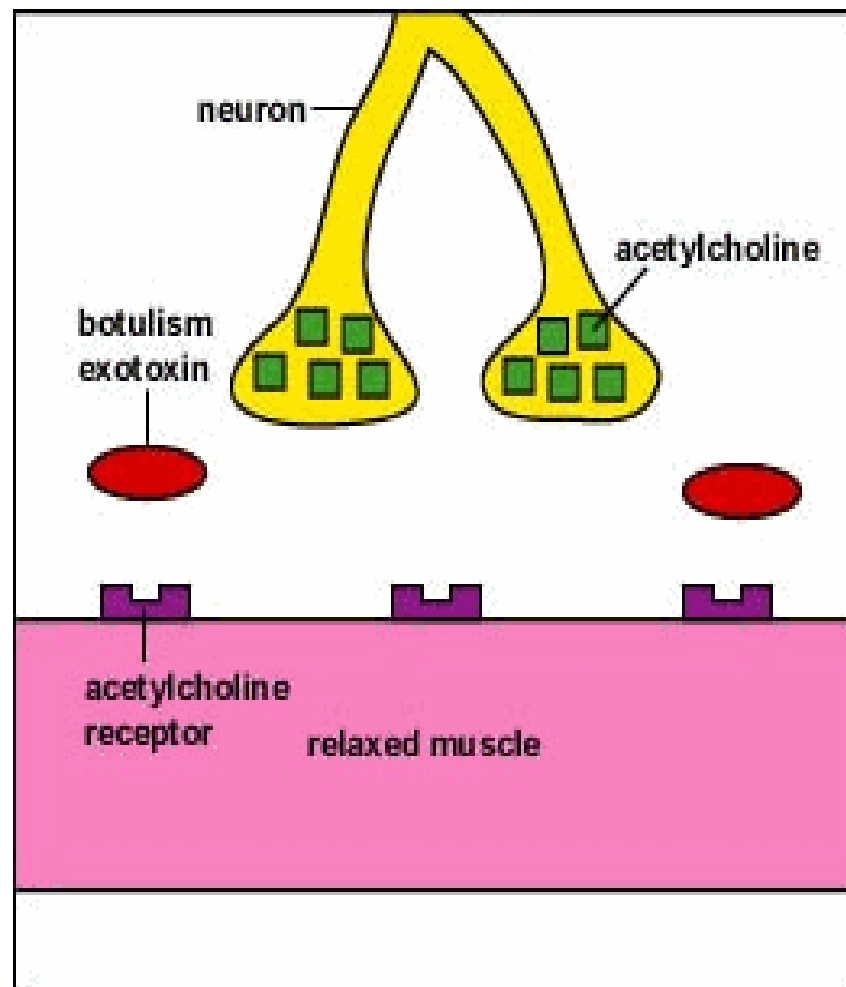
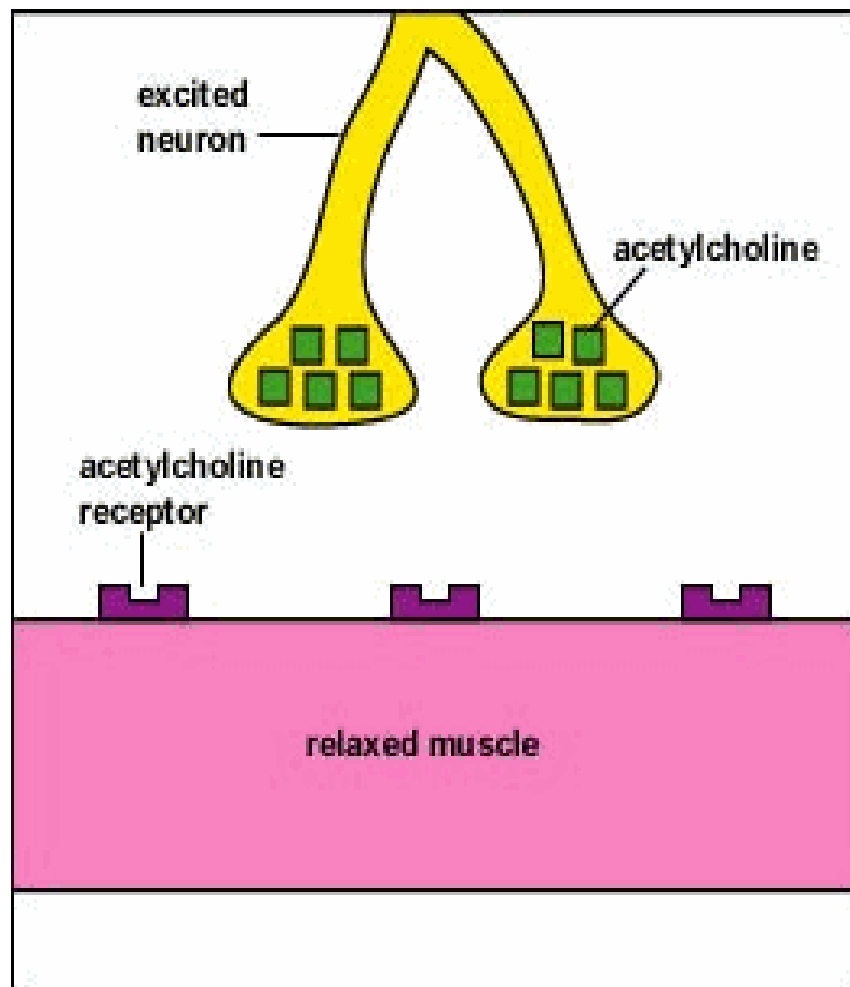
- *C.botulinium* в процессе размножения или при аутолизе вырабатывают экзотоксин — ботулотоксин.

Ботулотоксин — белок с молекулярной массой 150 кДа состоит из двух связанных дисульфидной связью белковых субъединиц (тяжелой и легкой цепи). Токсин термолабилен, для полной инактивации необходимо кипячение в течение 20 минут.

Действие ботулотоксина

- Ботулотоксин – функциональный блокатор. Всасывание ботулотоксина происходит в желудке и частично в тонком кишечнике, откуда с током крови токсин попадает в органы и ткани. Ботулотоксин связывается с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и проникает в нейроны путем эндоцитоза.
- Легкая цепь (А-компонент) ботулотоксина, отвечающая за токсигенность, блокирует выброс ацетилхолина в нервно-мышечных окончаниях двигательных нервов (расщепляет синаптобrevин, синтаксин, целлюбrevин), что обуславливает характерные параличи мышц.

Механизм действия ботулотоксина



Клинические проявления ботулизма

- Первые симптомы заболевания проявляются после короткого инкубационного периода, примерно 1-3 дня, иногда несколько часов в виде тошноты, рвоты, болей в животе.
- При этом возникают головная боль и нервно-паралитические симптомы — нарушение глотания, глазные симптомы — диплопия (двоение в глазах), птоз (опущение век), анизокория (поражение сфинктера зрачка). Позже возникает паралич шеи, конечностей, дыхательной и сердечной мышц.
- Ботулизм у детей до 6 месяцев имеет легкое течение. В тяжелых случаях клинические признаки аналогичны таковым у взрослых, но смертность не очень высока. Ботулизм является одной из основных причин синдрома внезапной детской смерти (СВДС).
- У грудных детей ботулизм проявляется как инфекционный процесс, то есть выделение токсина происходит в результате вегетации спор, попавших в толстую кишку.
- Раневой ботулизм может возникать в ряде случаев из-за того, что возбудитель поражает область раны, размножается в ней и выделяет токсины.

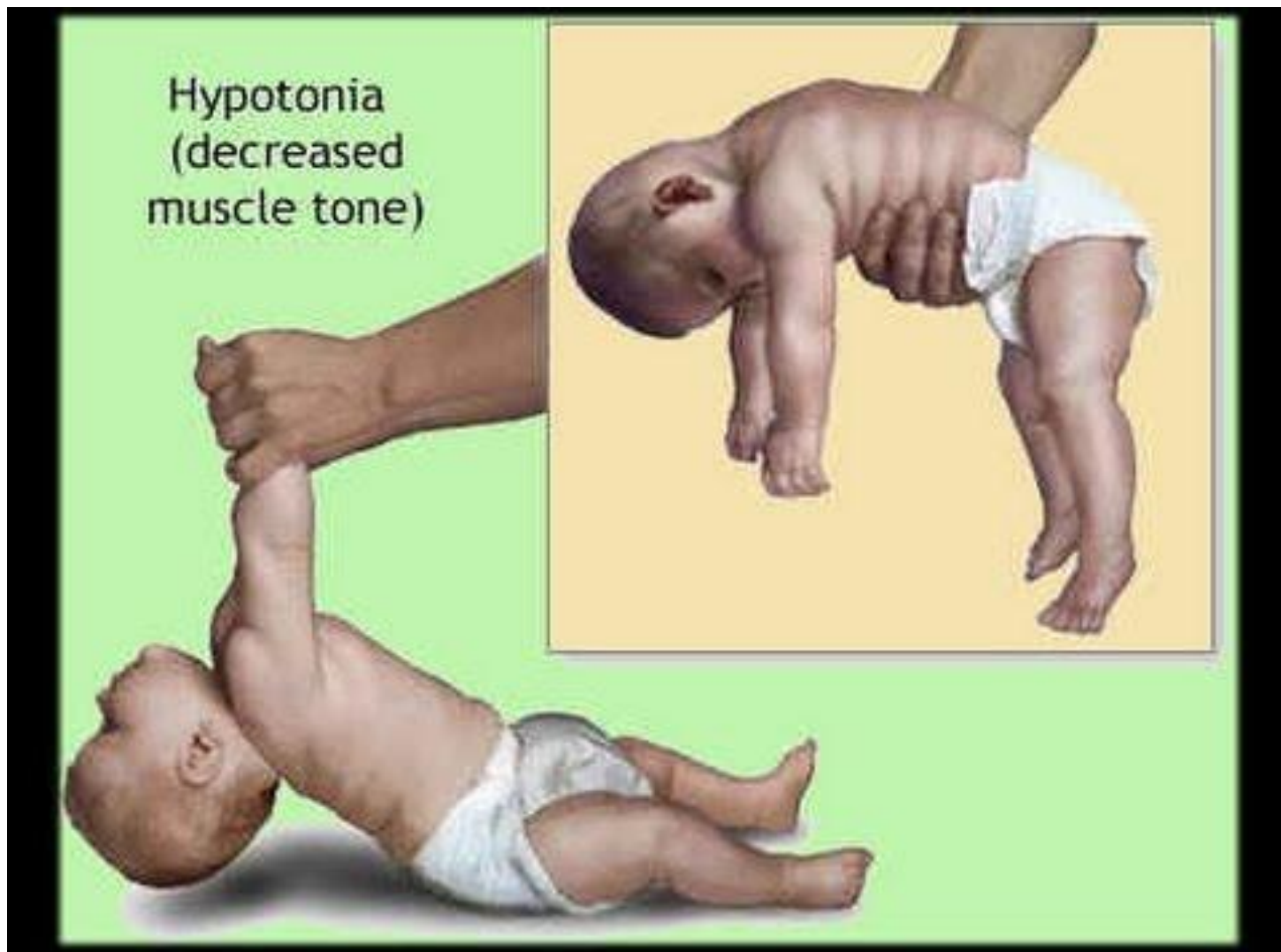
Клинические проявления ботулизма

нервно-паралитические явления — нарушение глотания, диплопия (двоение в глазах), птоз (опущение век), анизокория (поражение сфинктера зрачка).



Опущение век - птоз

Ботулизм у младенцев



Микробиологическая диагностика:

- Исследованию подлежат остатки пищевых продуктов, рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, моча, кровь, секционный материал.
- **Биологическая проба** - проводится для обнаружения токсина на белых мышах или морских свинках

Реакция нейтрализации – определение ботулотоксина и его типа: белым мышам вводят смесь исследуемого материала с диагностической антитоксической сывороткой типов А, В, Е и F.

- **Реакция пассивной гемагглютинации, радиоиммунный метод** - позволяют определить ботулотоксин в исследуемом материале.
- **Выделение культуры возбудителя** – проводят для уточнения диагноза ботулизма у младенцев при помощи бактериологического метода исследования испражнений.

Лечение:

- Для лечения больному внутривенно вводят (по Безредко) поливалентную (типов А, В и Е) антитоксическую сыворотку.
- После лабораторного выявления типа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа.

Профилактика

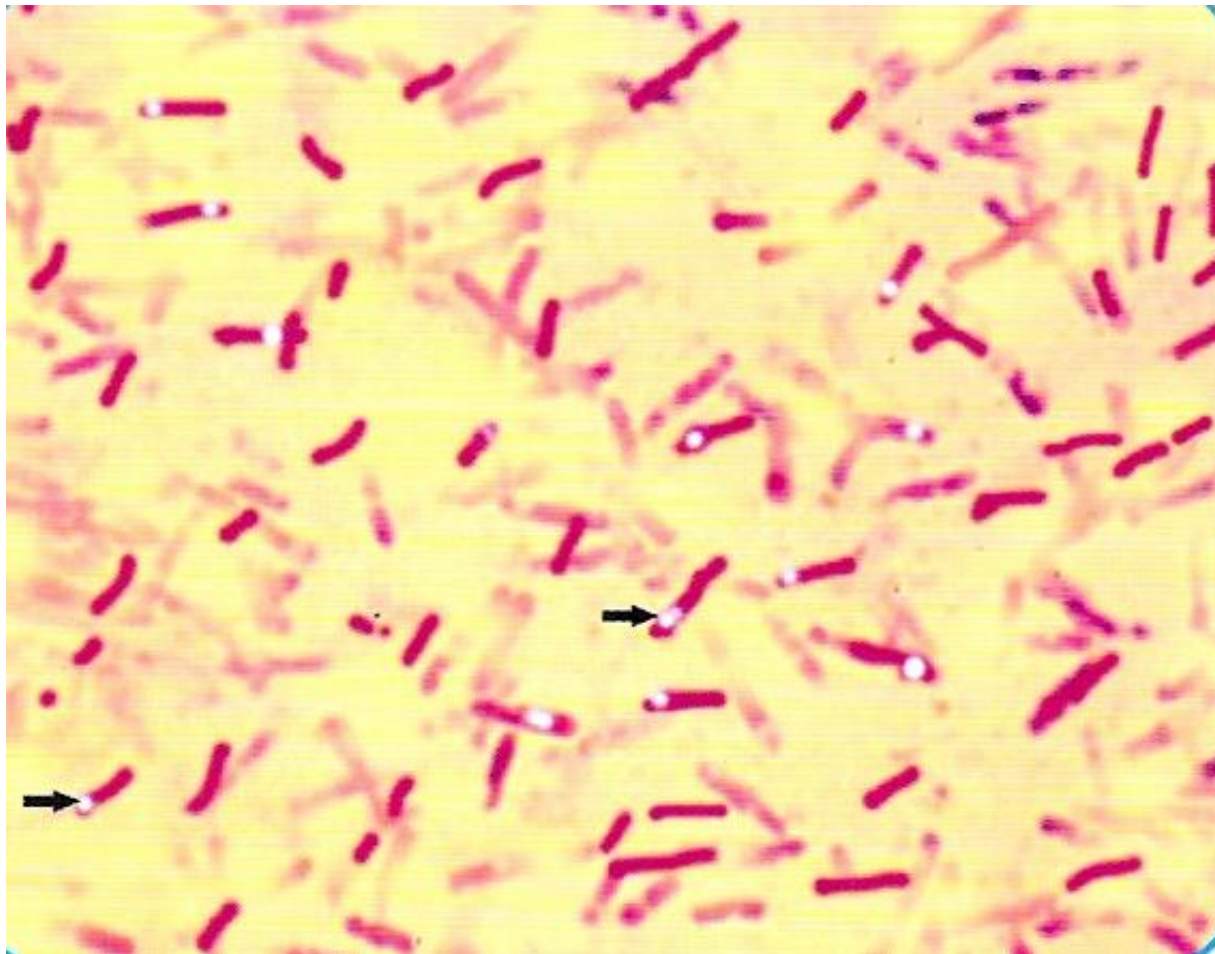
- **Неспецифическая профилактика** - при производстве консервированных (мясных, рыбных, овощных) продуктов необходимо соблюдать санитарно-гигиенические условия стерилизации и их хранения, исключающие накопление токсина в продукте.
- **Специфическая профилактика** - применяют ботулинический полианатоксин, содержащий анатоксины А, В и Е.
- Для экстренной профилактики используется поливалентная антитоксическая сыворотка.

Морфо-биологические особенности *Clostridium difficile*

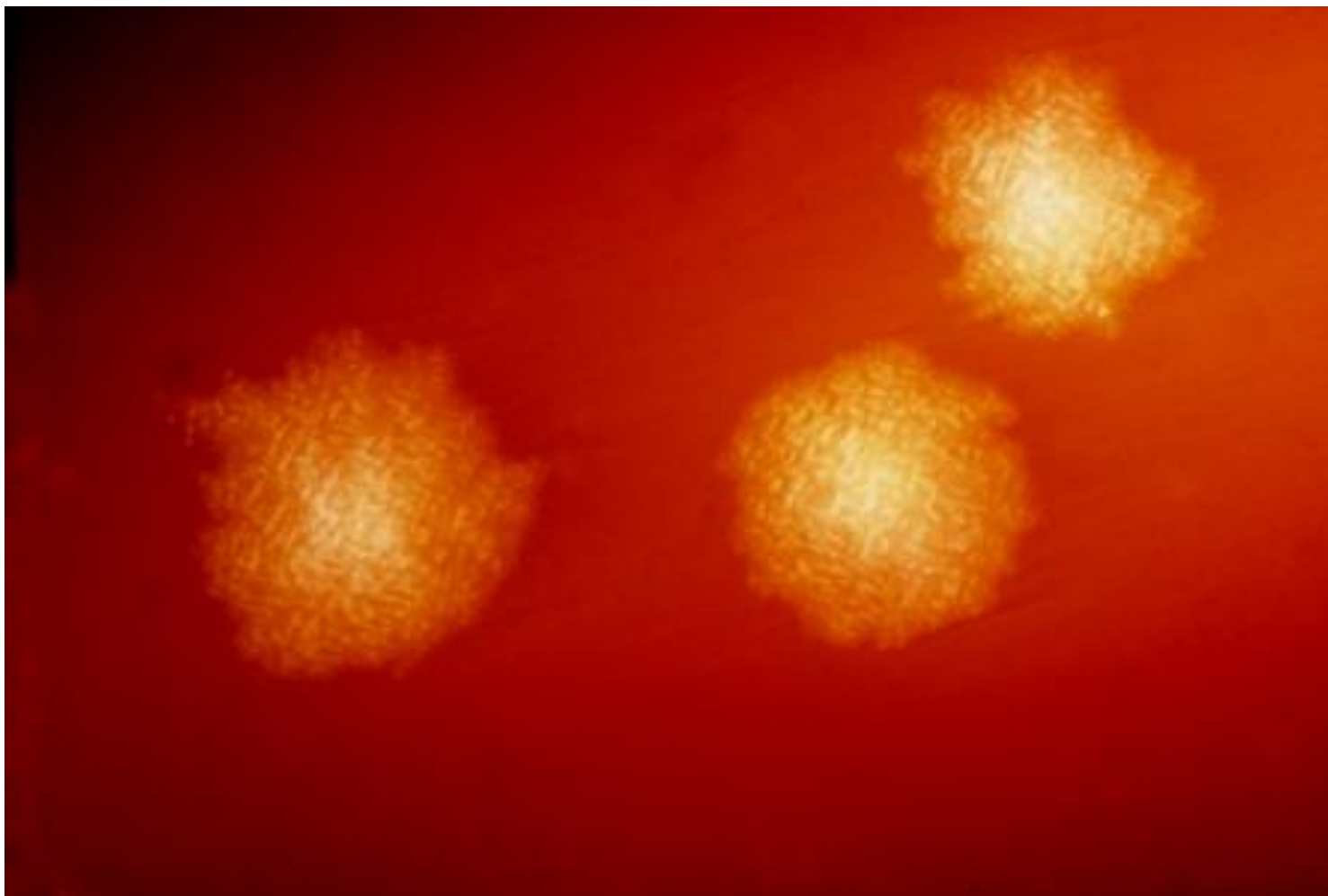
C.difficile — грамположительные, овальные, подвижные, палочковидные бактерии. Образуют субтерминально или центрально расположенные споры. Образуют капсулу in vivo. Облигатные анаэробы. В селективной среде — на желточно-фруктозном агаре с добавлением циклосерина и цефокситина — образуют мутные стекловидные желтые колонии. На кровяном агаре образуют негемолитические колонии с запахом «лошадиного навоза».

Биохимически мало активны. Из углеводов расщепляет глюкозу и маннит, гидролизует желатин, образует индол, не обладает лецитиназной и липазной активностью.

Clostridium difficile
(мазок из чистой культуры)



Clostridium difficile
(колонии на селективной среде)



Экология

- *C. difficile* — повсеместно распространенная бактерия, встречающаяся в окружающей среде — почве, воде, кишечнике человека и животных.
- Носительство *C.difficile* парадоксально велико (до 90%) у новорожденных, но случаи заболевания у них наблюдаются редко. Предполагается, что токсин *C.difficile* не может взаимодействовать с энтероцитами новорожденных.
- С увеличением возраста при развитии нормальной микрофлоры число носителей снижается и среди взрослых не превышает 3%.

Патогенность

- ***C.difficile*** вызывает **псевдомембранозный энтероколит** клинически проявляющийся диареей. Заболевание возникает в результате дисбаланса между анаэробными бактериями – бактероидами и бифидобактериями, играющими важную роль в формировании колонизационной резистентности, возникшего на фоне нерациональной антибиотикотерапии.
- *C.difficile* вырабатывает два экзотоксина.
 - ***А токсин*** оказывает энтеротоксическое, а также цитотоксическое действие. Связывается с эпителием кишечника через специфические рецепторы к микроворсинкам
 - ***В токсин*** - цитотоксическое действие.

Псевдомембранозный колит

- Псевдомембранозный колит проявляется коликообразными болями в области живота, жидким или кровянистым поносом, лейкоцитозом и гипертермией.
- Эндоскопически можно выявить некротизированные остатки слизистой, фибрин, лейкоциты которые образуют *псевдомембрану* в пораженной части кишечника.

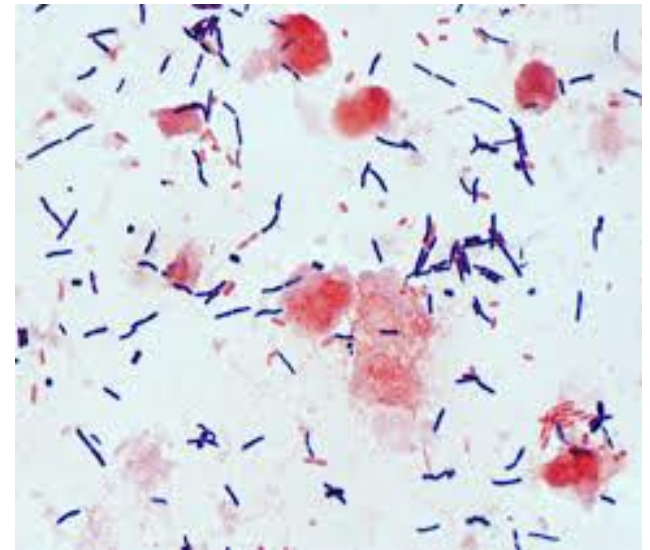
Псевдомембранозный колит

(эндоскопия слизистой кишечника)



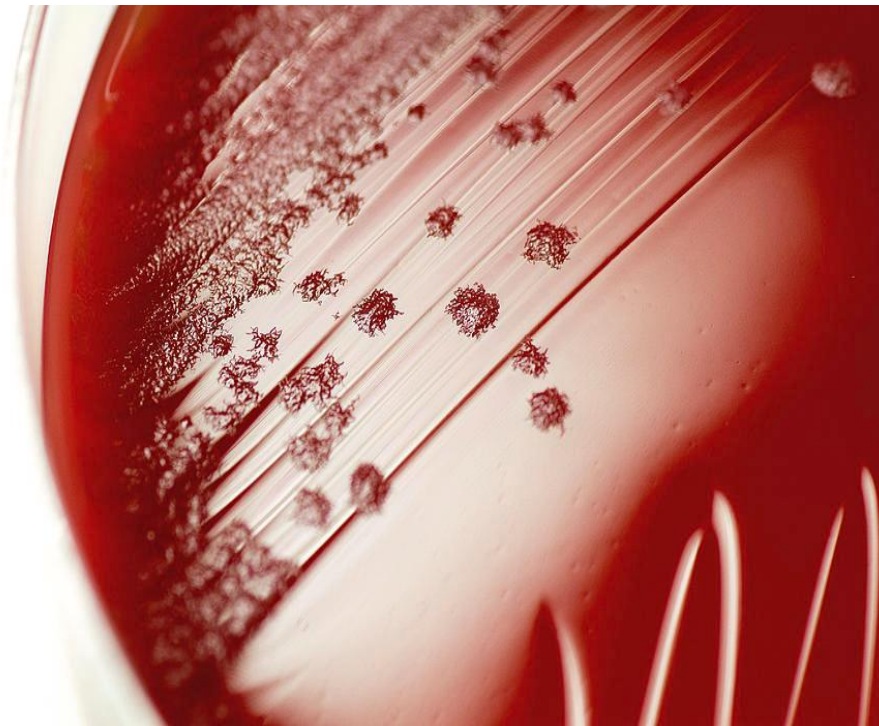
Микробиологическая диагностика

- Проводится путем *микроскопического* и *бактериологического* исследования кала.
- При *микроскопическом* исследовании обнаруживаются крупные грамположительные бактерии.



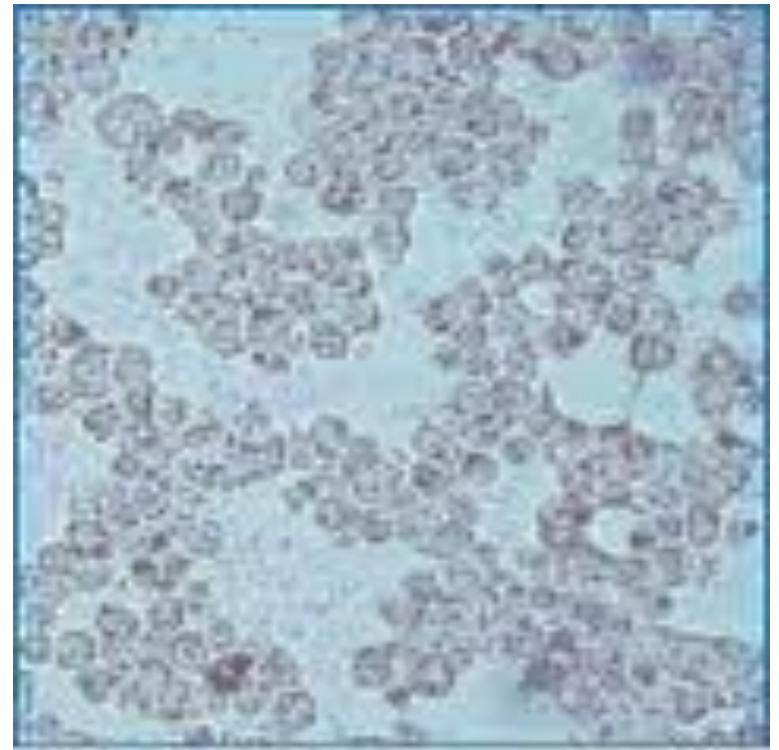
Микробиологическая диагностика

- **Бактериологический метод** основывается на культивировании материала в селективных питательных средах в анаэробных условиях. Посев производится на желточно-фруктозный агар с добавлением циклосерина и цефокситина (ССФА агар). Бактерии образуют матовые стекловидные желтые колонии.



Воздействие токсина *C.difficile* на чувствительные клетки (эмбриональные фибробласты человека)

Выявление токсинов *C.difficile* в кале основывается на определении влияния на культуру клеток (эмбриональные фибробласты) и имеет важное диагностическое значение.

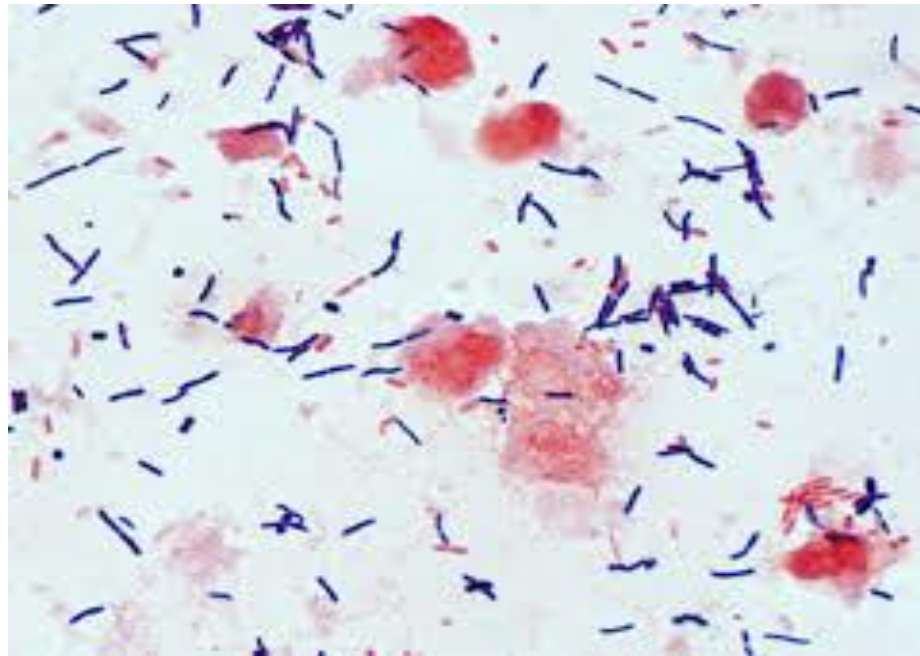


микротесты для обнаружения токсина C.difficile
в кале.



Микробиологическая диагностика

- Микроскопическое и бактериологическое исследование кала.
- *При микроскопическом исследовании* обнаруживаются крупные грамположительные бактерии.



C.difficile (мазок из чистой культуры окрашенной по Граму)

Лечение

- Ванкомицин и метронидазол
- *Энтерол* препарат, содержащий дрожжевые грибы (*Saccharomyces boulardi*) .

Не образующие спор анаэробные бактерии:

Грамотрицательные анаэробные бактерии:

- *Bacteroides*
- *Prevotella*
- *Porphyromonas*
- *Fusobacterium*
- *Leptotrichia*
- *Mobilincus*

Бактероиды (род *Bacteroides*)

- *Входят в семейство Bacteroidaceae*
- Являются представителями нормальной микрофлоры слизистой ротовой полости, верхних дыхательных путей, кишечника и половых органов.

Принципы классификации бактериоидов

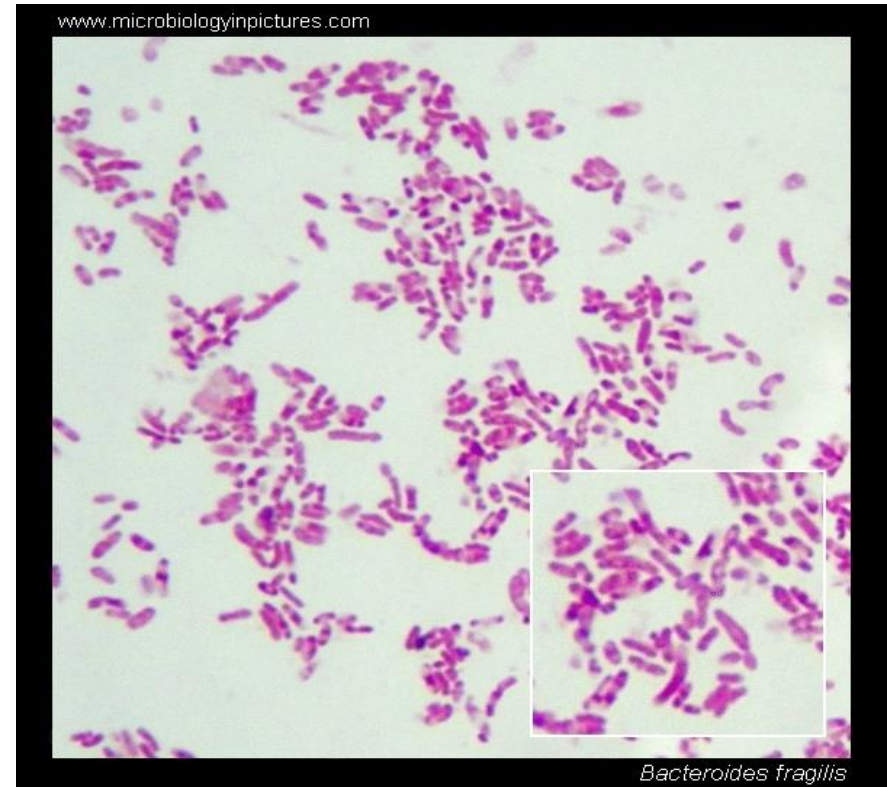
- Рост на средах с содержанием желчных солей
- Пигментообразование
- Чувствительность к антибиотикам (канамицин, ванкомицин и колистин)
- *Бактерии группы B.fragilis устойчивы к желчным солям, не образуют пигмент, резистентны к канамицину, ванкомицину и колистину .*
- *Бактероиды, не относящиеся к группе B.fragilis, чувствительны к желчным солям, характеризуются образованием пигментов или отсутствием этого признака*

Бактерии группы B.fragilis

- Бактерии рода *Bacteroides* (*B.thetaiotaomicronn*, *B.ovatus*, *B.vulgatus*, *B.distasonis*, *B.uniformis*, *B.caccae*, *B.merdea*, *B.stercoris*, *B.ureolyticus*, *B.gracilis*) близкие к виду *B.fragilis* по морфо-биологическим свойствам и экологической нише включены в группу *B.fragilis* .
- Бактерии этой группы входят в состав нормальной облигатной микрофлоры толстого кишечника.

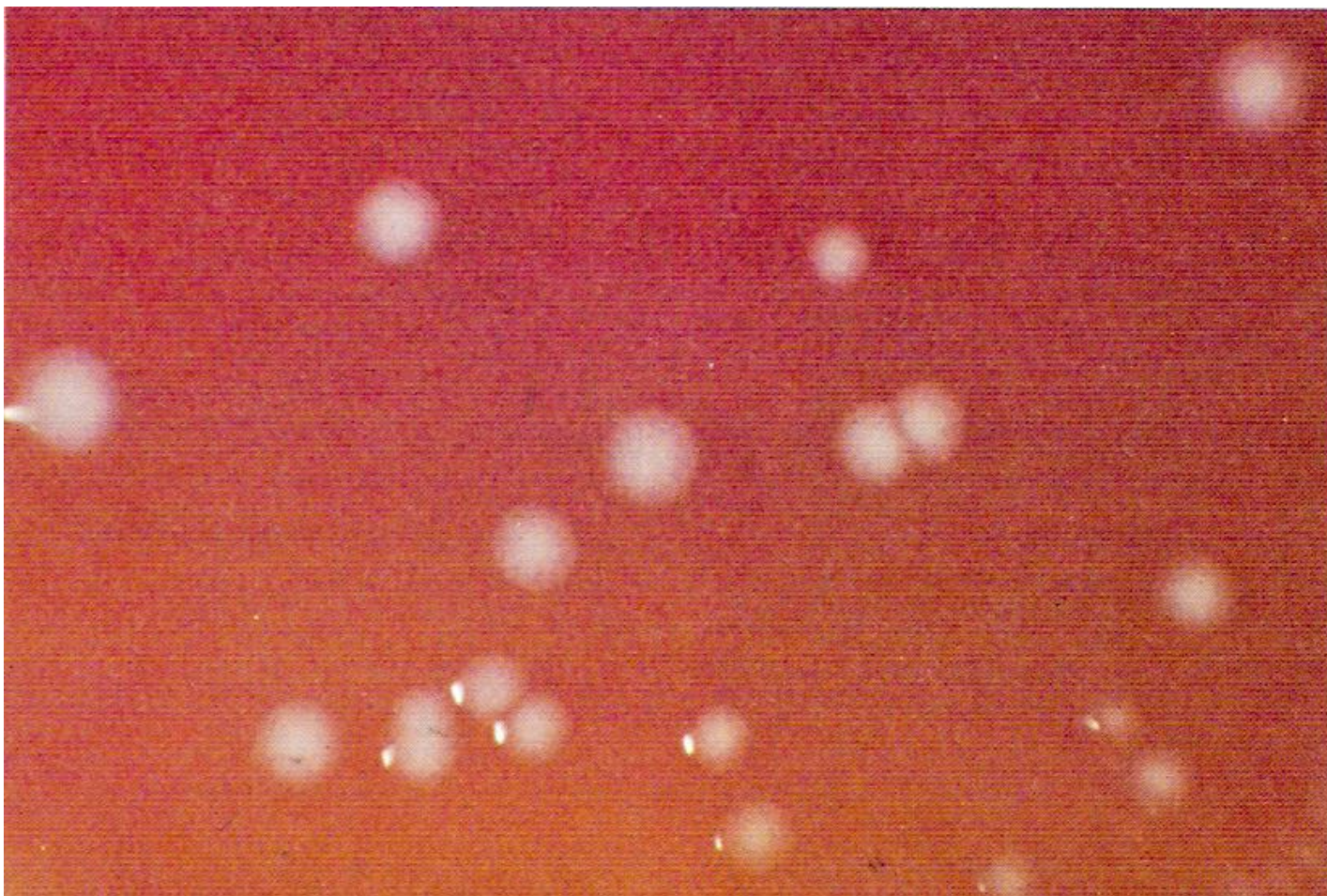
Бактерии группы *B. fragilis*

- Бактерии группы *B. fragilis* в мазках из клинического материала, окрашенных по Граму представлены бледными полиморфными палочками с закругленными концами или коккобациллами.
- Часто неравномерно окрашиваются по Граму за счет внутриклеточных вакуолей.



B. fragilis

(колонии на кровяном агаре)



Патогенность бактериоидов

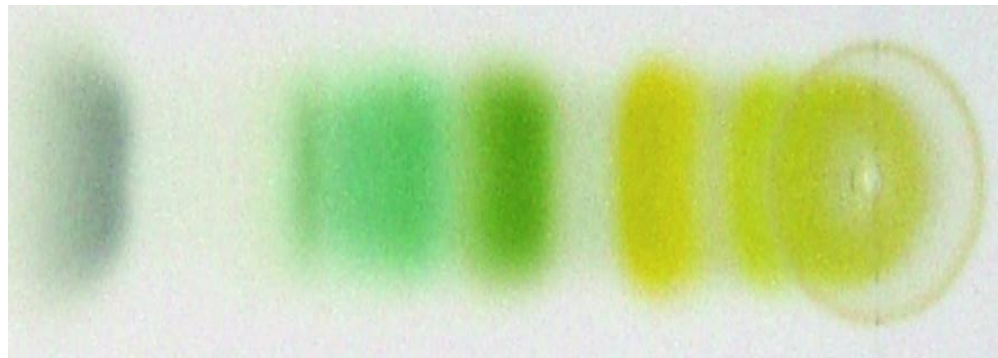
- В связи с тем, что бактериоиды относятся к нормальной микрофлоре человека, подавляющее большинство анаэробных инфекций, вызываемых ими, носят эндогенный характер.
- При снижении резистентности организма, а также при нарушении целостности слизистой оболочки бактерии транслицируются через тканевые барьеры и вызывают гнойно-септические процессы, чаще всего абсцессы.

Микробиологическая диагностика

- С целью выделения чистой культуры бактерий производят посевы на соответствующие питательные среды и культивирование в анаэробных условиях. Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения морфологических, культуральных, тинкториальных свойств и ферментативной активности.
- *Неспособность к росту на средах с содержанием желчных солей, пигментообразование, чувствительность к канамицину, ванкомицину и колистину — ключевые диагностические признаки*

Микробиологическая диагностика

- Для экспресс-диагностики анаэробной инфекции применяют метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ).
- ГЖХ основан на хроматографическом определении летучих жирных кислот - метаболических маркеров облигатных анаэробных бактерий. Обнаружение в исследуемом материале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно изокилот с разветвленной углеродной цепочкой, является доказательством наличия облигатных анаэробных бактерий.

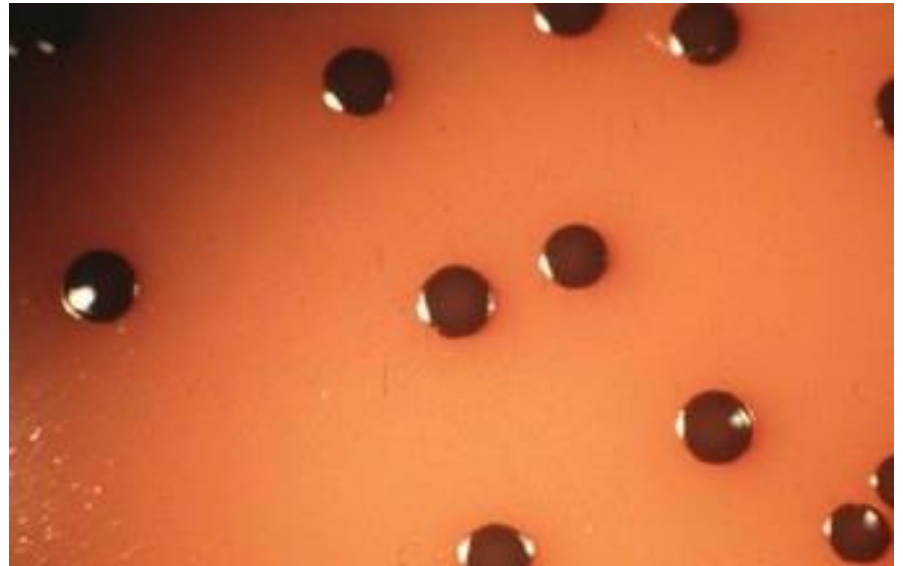
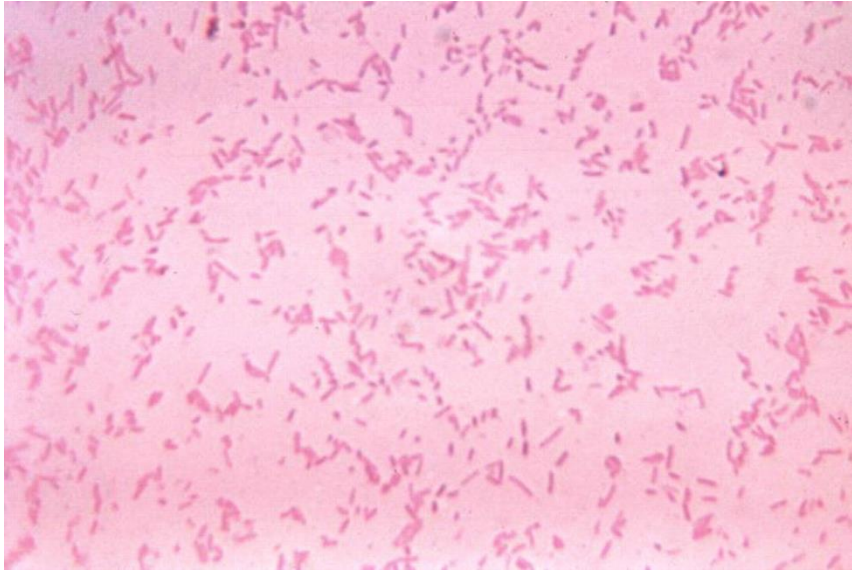


Газожидкостная хроматография(ГЖХ)

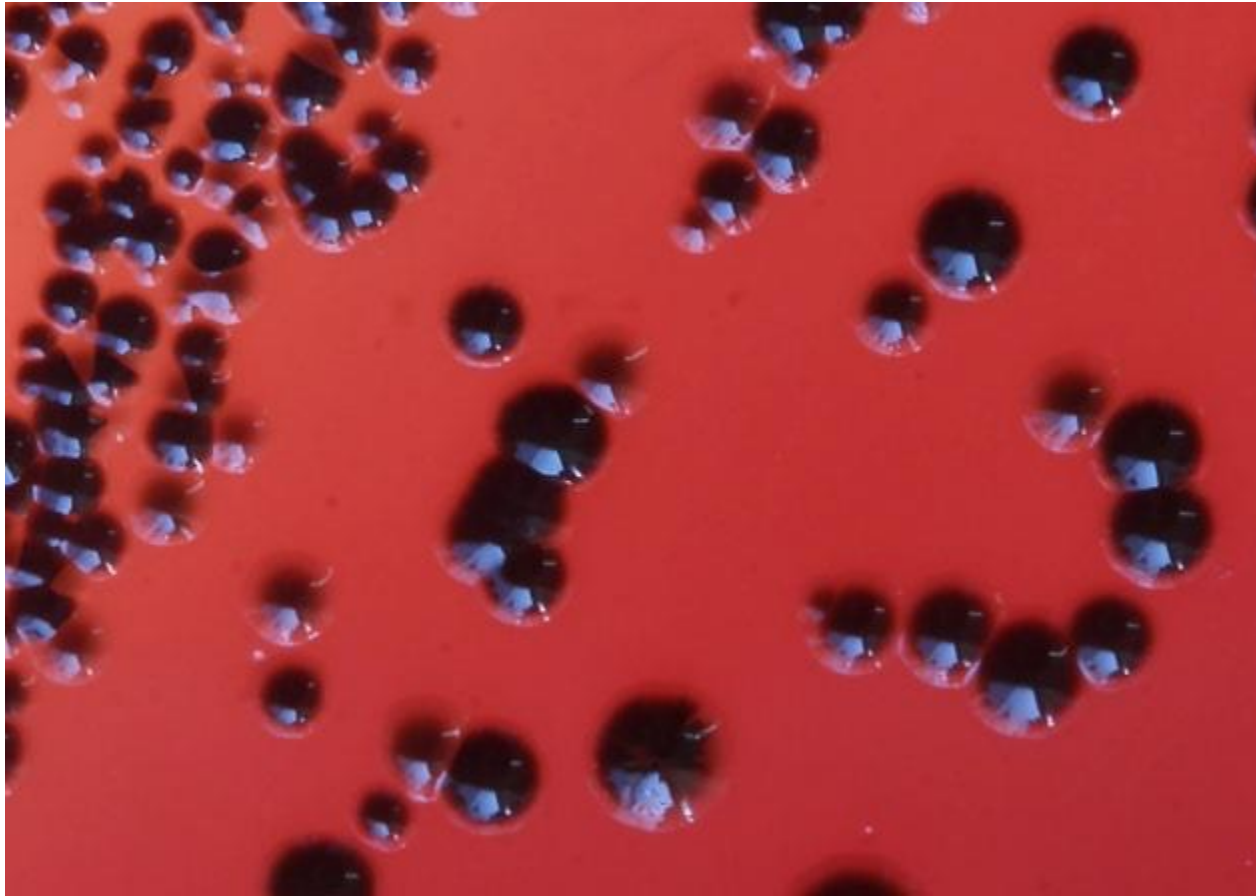
Лечение заболеваний, вызываемых бактероидами:

- имипенем
- клиндамицин
- левомецетин
- производные нитроимидазола - метронидазол, тинидазол
орнидазол

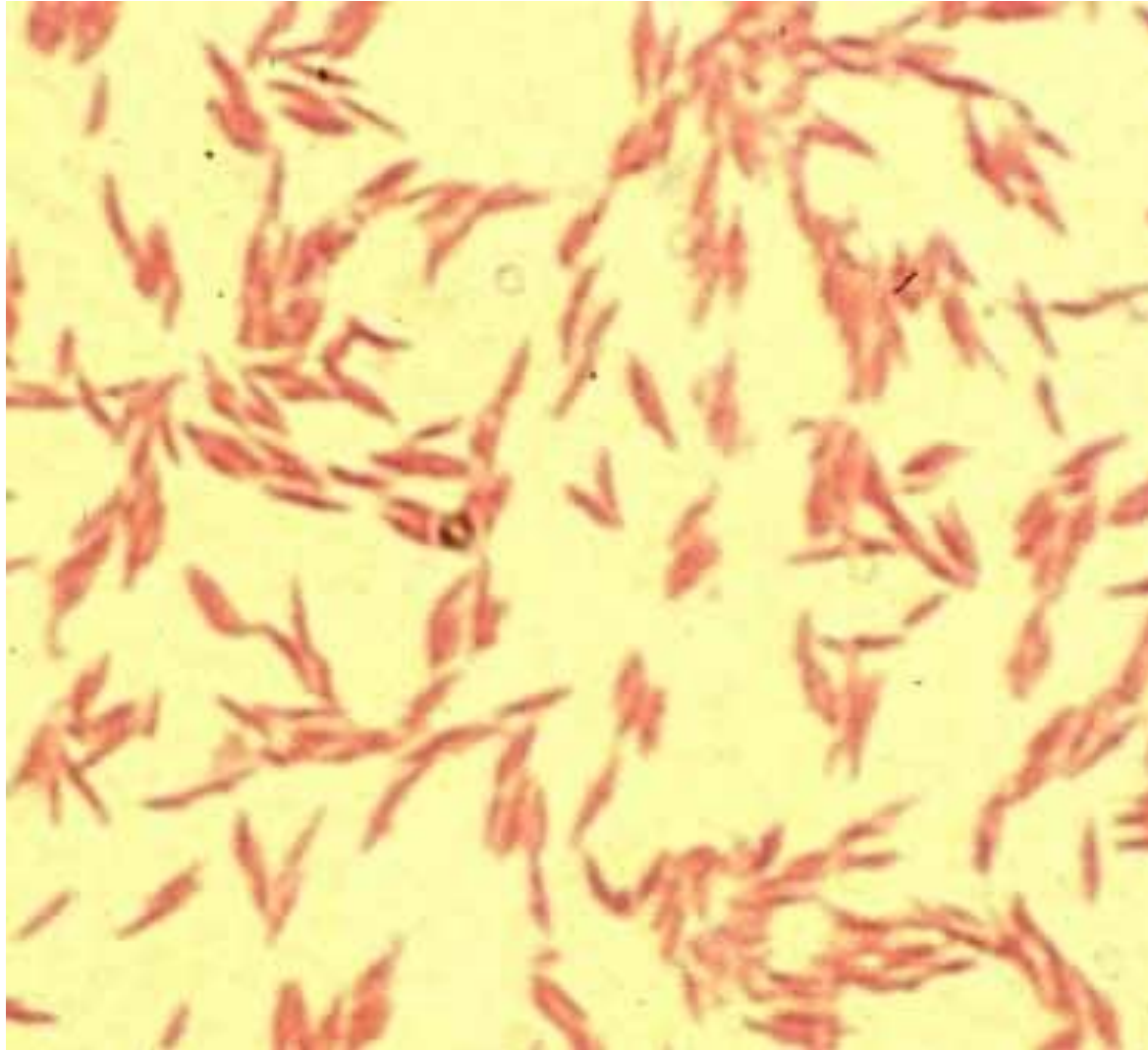
Prevotella melaninogenica



Колонии Porphyromonas gingivalis



Fusobacterium necrophorum



КОЛОНИИ *Fusobacterium necrophorum*
на кровяном агаре



Fusobacterium

- Микробиологическая диагностика заболеваний основана на микроскопии мазков, приготовленных из патологического материала и окрашенных по Граму, а также получении культуры бактерий на соответствующих питательных средах в анаэробных условиях. Большинство видов чувствительны к желчи, канамицину и колицину и устойчивы к ванкомицину.

Ангина Венсана — экссудативный фарингит,
вызываемый *Fusobacterium necrophorum* в ассоциации с другой анаэробной микрофлорой ротовой полости. На поверхности небных миндалин образуется дифтериеподобный налет.



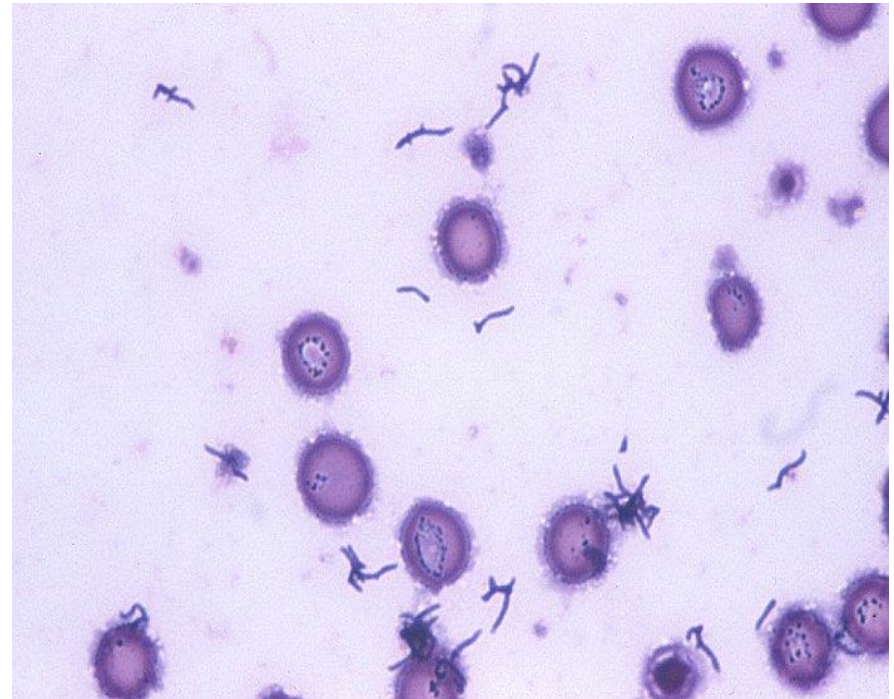
Fusobacterium

- Патогенность фузобактерий связана с секрецией ими фосфолипазы А, облегчающей инвазию в ткани, и лейкоцидина, оказывающего цитотоксическое действие на различные клетки.
- *F. necrophorum* и *F. nucleatum* играют важную роль в патологии человека.
- *F. necrophorum* - вместе с другой анаэробной микрофлорой полости рта вызывает экссудативный фарингит, называемый ангиной Винсета.

Propionobacterium acnes — входит в состав нормальной микрофлоры кожи. Участвует в расщеплении свободных жиров до жирных кислот, которые вызывают воспалительный процесс- акне (прыщи)



Акне (прыщи)



P.acnes (мазок из чистой культуры, окраска по Граму)