

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
“Уральский государственный медицинский университет”
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Литусов Н.В.

Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции

Иллюстрированное учебное пособие

**Екатеринбург
2017**

УДК 579

Рецензент: профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России доктор медицинских наук профессор Слободенюк А.В.

Литусов Н.В. Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: УГМУ, 2017. – 19 с.

Иллюстрированное учебное пособие “Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции” подготовлено в качестве информационного сопровождения самостоятельной работы студентов, осваивающих основные образовательные программы высшего образования, разработанные на основе ФГОС ВО.

Иллюстрированное учебное пособие “Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции” содержит сведения по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам возбудителей клостридиальной анаэробной инфекции, их антигенной структуре, факторах патогенности, патогенезу газовой анаэробной инфекции, клинической картине, лабораторной диагностике, профилактике и принципах лечения этого заболевания.

Пособие содержит вопросы для самоконтроля усвоения материала, а также тренировочные тестовые задания. Учебное пособие иллюстрировано рисунками и таблицами для лучшего усвоения изучаемого материала. Часть рисунков выполнена автором, другая часть – заимствована из научной литературы и Интернет-ресурсов.

Иллюстрированное учебное пособие “Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции” предназначено для самостоятельной работы студентов при подготовке к практическим занятиям и компьютерным контролям.

Содержание

Введение	4
Таксономическое положение возбудителей	6
Морфологические и тинкториальные свойства	7
Культуральные и биохимические свойства	8
Факторы патогенности	11
Эпидемиология	12
Патогенез клостридиальной анаэробной инфекции	13
Клиническая картина	13
Диагностика	14
Лечение	15
Иммунитет и профилактика	16
Вопросы для контроля усвоения материала	17
Тренировочные тесты	17

Введение

Анаэробная клостридиальная инфекция (раневая газовая инфекция, газовая гангрена, *gangraina* – разъедающая язва) представляет собой тяжелую раневую инфекцию человека и животных, обусловленную бактериями рода *Clostridium*. Заболевание представляет собой полиэтиологичную инфекцию, которая возникает при инфицировании ран отдельными видами клостридий, несколькими видами клостридий, ассоциациями клостридий с разными видами аэробных и анаэробных микроорганизмов. Анаэробная клостридиальная инфекция характеризуется тяжелым течением, прогрессирующим развитием некроза и отека тканей, газообразованием в месте патологического процесса и развитием крепитации окружающих тканей, тяжелой интоксикацией в результате действия бактериальных токсинов и продуктов распада тканей. Чаще всего анаэробная инфекция возникает во время боевых действий. Однако раневая инфекция может быть осложнением ран любого генеза. Заболевание вызывают преимущественно клостридии, обитающие в почве.

Впервые раневую гангрену описал французский хирург А. Паре (рисунок 1).

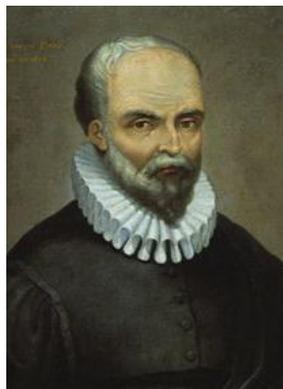


Рисунок 1 – Амбруаз Паре (Ambroise Paré, 1510-1590 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Французский врач А. Вельпо в 1839 г. (рисунок 2) опубликовал свои наблюдения над подобным заболеванием, названном им “травматическая эмфизема”.

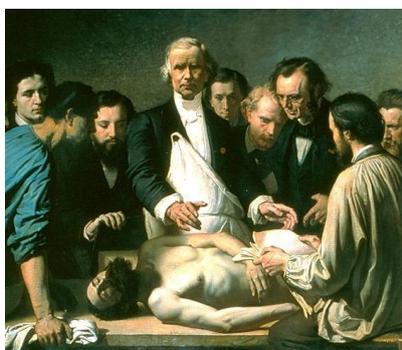


Рисунок 2 – Альфред Вельпо (Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau, 1795-1867 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Полное описание клинической картины анаэробной раневой инфекции дал российский врач Н.И. Пирогов (рисунок 3) во время Севастопольской и Кавказской военных кампаний.



Рисунок 3 – Николай Иванович Пирогов (1810-1881 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1861 г. Л. Пастер (рисунок 4) описал одного из возбудителей анаэробной инфекции - *Vibrion septique* (септический вибрион), получившего в последующем название *Clostridium septicum*.



Рисунок 4 – Луи Пастер (Louis Pasteur, 1822-1895 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1892 г. американские ученые У. Г. Уэлч (рисунок 5) и Г. Неттал выделили и описали *Clostridium perfringens*.

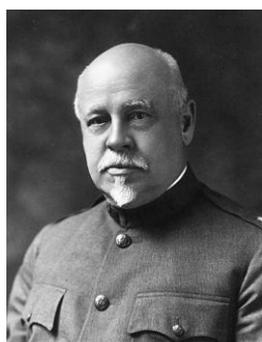


Рисунок 5 – Уильям Генри Уэлч (William H. Welch, 1850-1934 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1894 г. Ф. Нови подробно охарактеризовал возбудителя, получившего имя исследователя (*Clostridium novyi*).

М.В. Вейнберг (рисунок 6) и П. Сеген (P. Sequin) в 1915-1917 г. выделили от больных газовой гангреной людей несколько возбудителей: *Clostridium fallax*, “бациллу злокачественного отека” *Clostridium oedematiens* и “растворяющую ткань” бациллу *Clostridium histolyticum*.



Рисунок 6 – Михаил Вениаминович Вейнберг (1868-1940 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1922 г. аргентинский микробиолог А. Сорделли (рисунок 7) от больного газовой гангреной человека выделил еще одного возбудителя этого заболевания - *Clostridium sordellii*.



Рисунок 7 – Альфред Сорделли (Alfredo Sordelli, 1891-1967 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Таксономическое положение возбудителей

Возбудители анаэробной клостридиальной инфекции относятся к типу (филуму) *Firmicutes*, классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*. Род *Clostridium* объединяет более 100 видов, в том числе – *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. bifermentans*, *C. ramosum*, *C. sporogenes*, *C. fallax*, *C. sordelli* и другие. Основными возбудителями анаэробной клостридиальной инфекции являются *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C.*

novyi, *C. septicum*. По антигенной структуре внутри видов выделяют серовары (серотипы), а внутри серотипов – подтипы. В частности у *C. perfringens* различают 6 серотипов (А, В, С, D, Е, F), у *C. novyi* – 4 серотипа (А, В, С, D).

Морфологические и тинкториальные свойства

Клостридии анаэробной инфекции представляют собой крупные ($3\div 10 \times 0,4\div 1,2$ мкм) спорообразующие грамположительные палочки. Споры располагаются терминально или субтерминально (рисунки 8 и 9).

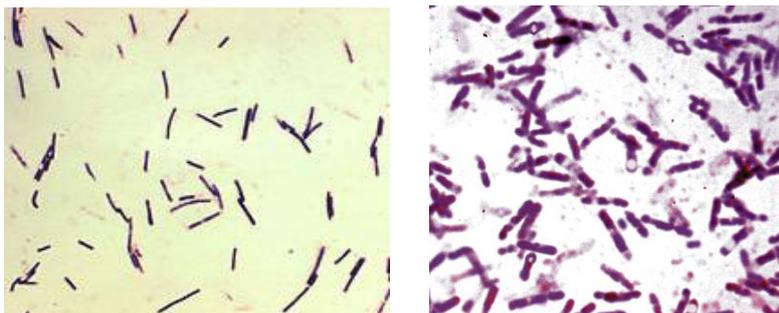


Рисунок 8 - *C. perfringens*, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 9 - Споры клостридий, окраска малахитовым зеленым. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Большинство клостридий являются подвижными за счет перитрихально расположенных жгутиков (рисунок 10).

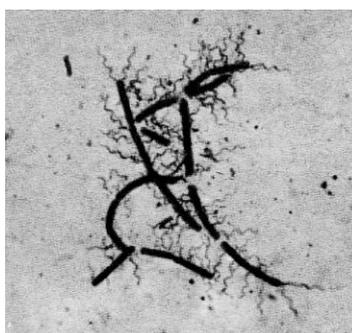


Рисунок 10 – Жгутики у суточной культуры *C. septicum*. Окраска по Морозову (К.И. Матвеев и др., 1966 г.).

Некоторые клостридии образуют капсулу, особенно в организме человека или животных (рисунок 11).

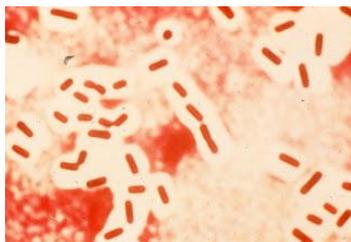


Рисунок 11 – Капсула *C. perfringens*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Морфологические особенности клостридий представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Морфологические особенности возбудителей анаэробной клостридиальной инфекции

Виды клостридий	Размер палочек	Расположение спор	Наличие капсулы	Подвижность
<i>C. perfringens</i>	4÷8x0,8÷1,5 мкм	Ц, СТ	+	неподвижна
<i>C. histolyticum</i>	3÷5x0,5÷0,8 мкм	СТ	-	перитрих
<i>C. novyi</i>	4÷10x1÷2 мкм	СТ	-	перитрих
<i>C. septicum</i>	2÷10x0,8÷2 мкм	Ц, СТ	-	перитрих

Примечание: Расположение спор: Ц – центральное, СТ – субтерминальное.

Культуральные и биохимические свойства

Клостридии являются факультативными или облигатными анаэробами. Оптимальной для роста является температура 35-37⁰С, оптимальное значение рН 7,2-7,4. На плотных питательных средах формируют колонии S-формы с ровным краем и гладкой поверхностью или R-формы с неровным краем и шероховатой поверхностью. В глубине агар колонии напоминают комочки ваты или зерна чечевицы (рисунки 12 и 13).

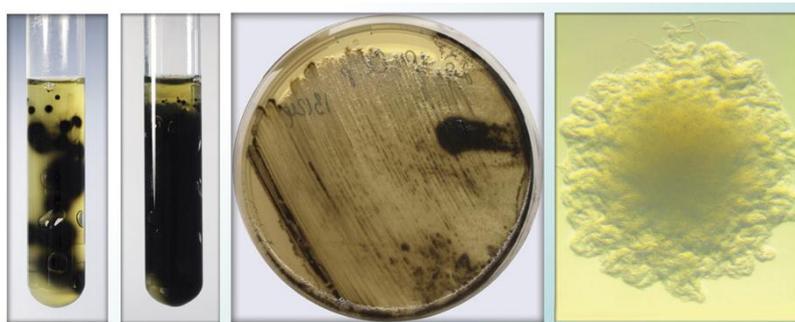


Рисунок 12 – Характер роста *C. perfringens* на сульфитном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 13 – Рост *C. perfringens* на МПА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре клостридии образуют колонии, окруженные зоной полного или частичного гемолиза (рисунок 14).

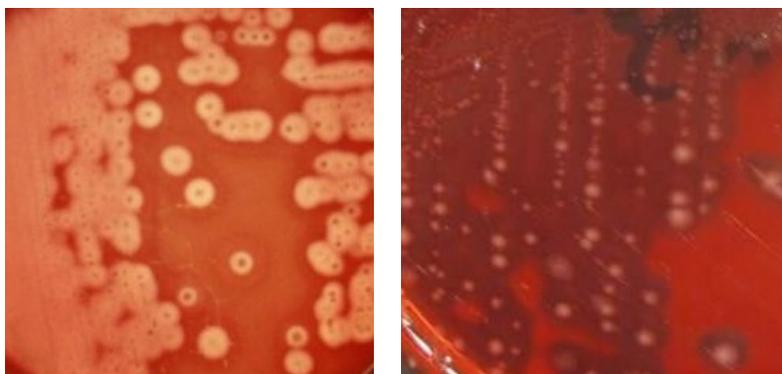


Рисунок 14 – Рост клостридий на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На среде Вильсона-Блера (железо-сульфитный агар для патогенных анаэробов) в процессе роста клостридий сернистый натрий восстанавливается с образованием сернистого железа. На этой среде *C. perfringens* образуют черные колонии, а *C. histolyticum* – колонии зеленовато-черного цвета (рисунок 15).

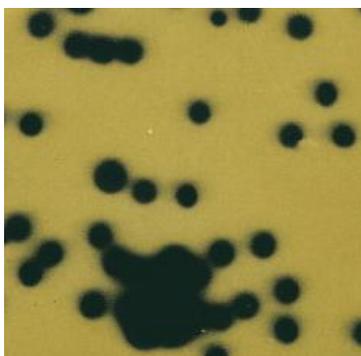


Рисунок 15 - Рост клостридий на среде Вильсона-Блера. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В среде Китта-Тароцци рост кластридий сопровождается помутнением среды и активным газообразованием (рисунок 16).



Рисунок 16 – Рост кластридий на среде Китта-Тароцци. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В молоке рост кластридий сопровождается створаживанием молока и образованием губкообразного сгустка - “штормовая реакция” (рисунок 17).



Рисунок 17– Образование губкообразного сгустка при росте кластридий в молоке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На желточном агаре в результате разложения лецитина лецитиназой вокруг колоний наблюдается зона опалесценции (рисунок 18).



Рисунок 18 – Рост *C. perfringens* на желточном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По сахаролитической и протеолитической активности разные виды клостридий различаются друг от друга. Наиболее характерным признаком для них является способность вызывать масляно-кислое брожение и анаэробный распад углеводов с образованием масляной кислоты и газов.

Культуральные и биохимические особенности разных видов клостридий представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Культуральные и биохимические признаки клостридий

Виды клостридий	Форма колоний на кровяном агаре	Рост в молоке	Рост в желатине	Ферментация углеводов
<i>C. perfringens</i>	Круглые колонии зеленоватого цвета с зоной гемолиза	Бурное свертывание молока, образование губкообразного сгустка	Медленное разжижение желатина	Ферментирует галактозу, гликоген, глюкозу, инозит, ксилозу, крахмал, лактозу, левулезу, мальтозу, маннозу, раффинозу, сахарозу
<i>C. histolyticum</i>	Мелкие гладкие колонии (росинки) без гемолиза	Свертывание молока	Сильное помутнение	Отсутствует
<i>C. novyi</i>	Серые шероховатые колони с изрезанными краями с зоной гемолиза	Свертывание молока медленное	Медленное разжижение желатина	Ферментирует глицерин, глюкозу, некоторые типы – фруктозу и мальтозу
<i>C. septicum</i>	Нежные кружевные колонии с зоной гемолиза	Свертывание молока	Медленное разжижение желатина	Ферментирует галактозу, глюкозу, лактозу, левулезу, мальтозу, салицин

Факторы патогенности

Основными факторами патогенности клостридий являются экзотоксины и ферменты агрессии.

Разные виды клостридий синтезируют разный набор экзотоксинов. Эти экзотоксины обладают гемолитическим, некротизирующим, летальным действием. Ферменты агрессии (лецитиназа, ДНК-аза, гиалуронидаза) вызывают распад тканей (таблица 3).

Таблица 3 – Характеристика экзотоксинов и экзоферментов клостридий

Вид клостридий	Синтезируемые экзотоксины	Биологическое действие токсинов
<i>C. perfringens</i>	α-токсин	Фосфолипаза С. Дерматонекротизирующее, гемолитическое, и летальное действие
	β-токсин	Некротизирующее действие
	δ-токсин	Гемолитическое действие и летальное действие на лабораторных животных

	θ-токсин	Гемолитическое, дерматонекротизирующее, летальное действие
	ε-токсин	Белок, образующий поры в мембранах эпителиоцитов кишечника и вызывающий выход из клетки ионов калия и воды
	ι-токсин	Летальное, дерматонекротизирующее действие
	κ-токсин	Летальное, некротизирующее действие
	λ-токсин	Коллагеназная и желатиназная активность
	γ-токсин	Летальное действие
	η-токсин	Летальное действие
	μ-токсин	Повышение проницаемости тканей
	ν-токсин	Расщепление нуклеиновой кислоты
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты соединительной ткани
	Энтеротоксин	Пищевые токсикоинфекции
<i>C. histolyticum</i>	α-токсин	Летальное и некротическое действие
	β-токсин	Коллагеназа (цинк-металлопротеаза), расщепляющая коллаген и желатин
	γ-токсин	Протеиназы, вызывающие деструкцию и омертвление мышц
	δ-токсин	Эластаза, расщепляющая желатин и казеин
	ε-токсин	Гемолитическая активность
<i>C. novyi</i>	α-токсин	Летальное и некротическое действие
	β-токсин	Лецитиназа С; летальное, некротическое и гемолитическое действие
	γ-токсин	Лецитиназа; некротическое и гемолитическое действие
	δ-токсин	Гемолитическое действие
	ε-токсин	Липаза
	ξ-токсин	Гемолитическое действие
	η-токсин	Тропомииозиназа
	θ-токсин	Лецитиназная активность
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты
<i>C. septicum</i>	α-токсин	Летальная, некротизирующая и гемолитическая активность
	β-токсин	ДНК-аза
	γ-токсин	Гиалуронидаза
	δ-токсин	Гемолитическая активность

Эпидемиология

Источником клостридиальной инфекции являются человек и животные, в желудочно-кишечном тракте которых обитают клостридии. **Естественным резервуаром** инфекции и **фактором передачи** служит инфицированная почва. **Механизм заражения** – контактный. **Путь передачи** – раневой. **Входные ворота** инфекции – поврежденная кожа. Восприимчивость человека к анаэробной клостридиальной инфекции высокая, заболеваемость значительно возрастает во время военных действий. В мирное время основными группами риска являются работники сельского хозяйства, строительные и дорожные рабочие.

Патогенез клостридиальной анаэробной инфекции

Возникновению клостридиальной анаэробной инфекции способствует загрязнение раны землей, наличие обширных очагов размножения и некроза тканей. Омертвевшие ткани, богатые гликогеном, служат для клостридий благоприятной питательной средой. После попадания в рану в условиях гипоксии споры прорастают в вегетативные клетки, клостридии размножаются в месте входных ворот и синтезируют экзотоксины и ферменты агрессии. В частности, лецитиназа расщепляет лецитин клеточных мембран, гиалуронидаза и коллагеназа увеличивают проницаемость тканей. Результатом действия токсинов и экзоферментов является некроз мышечной и соединительной ткани, развитие отека, скопление газов в тканях, интоксикация организма. Условиями развития клостридиальной инфекции является травматический некроз тканей и наличие в ране анаэробных условий (карманов). Токсины микробов и продукты распада тканей оказывают общее токсическое действие на организм, что приводит к тяжелой интоксикации, нарушающей функции всех жизненно важных органов и систем.

Патогномоничными признаками клостридиальной анаэробной раневой инфекции являются зловонный гнилостный запах отделяемого раны, серо-зеленый или коричневый цвет отделяемого раны, гнилостный характер некроза (бесструктурный детрит серого, сине-зеленого или коричневого цвета), газообразование, выявляемое как крепитация (хруст) при пальпации и аускультации, ячеистый или перистый рисунок тканей на рентгенограмме.

Клиническая картина

Инкубационный период при клостридиальной анаэробной инфекции составляет 1-3 дня. Кожные покровы вокруг раны бледные, с синюшным оттенком. Края раны отечные, видимые мышцы напоминают вареное мясо (рисунок 19).



Рисунок 19 – Клостридиальная анаэробная инфекция. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При надавливании из раны выделяются пузырьки газа с неприятным запахом. При пальпации отмечается характерная крепитация. Выражена общая интоксикация организма.

Специфическими симптомами газовой гангрены являются:

- симптом лигатуры (симптом Мельникова) – при наложении лигатуры (завязанной нити, швов) на участок конечности с газовой гангреной уже через 15-20 минут завязанная нить начинает впиваться в кожу из-за распухания конечности (рисунок 20);



Рисунок 20 – Симптом лигатуры. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

- симптом пробки шампанского – при извлечении тампона (салфетки) из раневого хода слышен хлопок из-за выхода образовавшегося газа;
- симптом шпателя - при постукивании металлическим шпателем по поражённой области слышен хрустящий звук;
- симптом бритвы - при бритье кожных покровов вокруг раны слышен хрустящий звук;
- симптом Краузе - межмышечные скопления газа на рентгеновском снимке напоминают “ёлочки”.

Диагностика

Исследуемым материалом при клостридиальной анаэробной инфекции служат пораженные и некротизированные ткани, взятые из раны на границе со здоровыми тканями, экссудат, гной, раневое отделяемое, кровь. От трупов берут кусочки мышц, печени, селезенки; кровь из сердца, раневое отделяемое. При пищевых токсикоинфекциях исследуют рвотные массы, фекалии, кровь, остатки пищевых продуктов.

При лабораторной диагностике клостридиальной анаэробной инфекции используют бактериоскопический, культуральный и биологический методы.

Бактериоскопический метод включает микроскопию мазков, приготовленных из исследуемого материала и окрашенных по Граму (рисунок 21) и Бурри-Гинсу (для выявления капсулы).

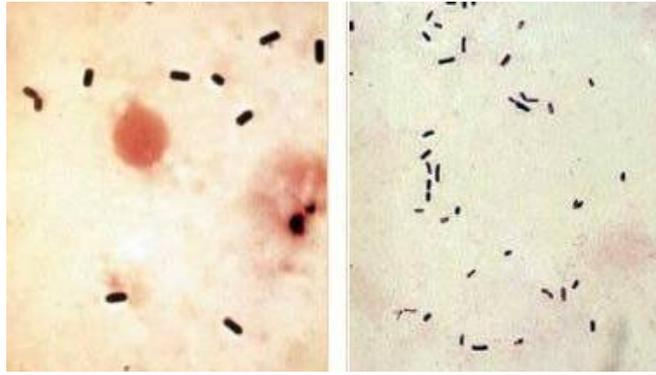


Рисунок 21 – Мазок отделяемого из раны. Окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подвижность культур определяют методом “висячей капли”. В качестве экспресс-метода используют РИФ.

Культуральный метод предусматривает посев исследуемого материала в жидкую питательную среду Китта-Тароцци для накопления бактерий с последующим пересевом культуры на плотные среды (кровяной сахарный агар Цейслера, среду Вильсона-Блера). Посевы инкубируют в анаэробе при температуре 37⁰С. Выросшую культуру идентифицируют по морфологическим и биохимическим свойствам.

Биологический метод основан на реакции нейтрализации токсинов (фильтратов бульонных культур или центрифугатов исследуемого материала) специфическими антитоксическими сыворотками с последующим заражением белых мышей или морских свинок.

Кроме результатов лабораторных исследований в диагностике клостридиальной анаэробной инфекции важное значение имеет характерная клиническая картина заболевания, общая интоксикация организма, рентгенологическое исследование (“пористость” мышечной ткани).

Лечение

Основное внимание уделяется хирургической обработке раны: удаление некротизированных тканей, обеспечение оттока отделяемого раны (дренаж) и притока кислорода, применение повязок с раствором перекиси водорода (рисунок 22).



Рисунок 22 – Основные принципы лечения анаэробной инфекции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для обеспечения тканей кислородом используют гипербарическую оксигенацию – создание повышенной концентрации кислорода в крови: концентрация кислорода 3% считается бактериостатической, 6% - бактерицидной (рисунок 23).



Рисунок 23 – Аппарат гипербарической оксигенации. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Нейтрализацию клостридиальных токсинов проводят с помощью антитоксических сывороток против *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*. Антибактериальная терапия предусматривает введение максимальных доз антибиотиков (пенициллина, тетрациклина).

Иммунитет и профилактика

Постинфекционный и поствакцинальный иммунитет определяется антитоксическими антителами.

Для специфической профилактики с целью создания искусственного активного иммунитета используют “Секстанатоксин”, в состав которого входят столбнячный анатоксин, ботулинические анатоксины типов А, В и Е, а также анатоксины *C. perfringens* и *C. novyi*.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение клостридий.
2. Представители клостридий – возбудители анаэробной инфекции.
3. Морфологические, культуральные и биохимические свойства клостридий.
4. Факторы патогенности возбудителей клостридиальной анаэробной инфекции.
5. Патогенез клостридиальной анаэробной инфекции.
6. Клиника клостридиальной анаэробной инфекции.
7. Принципы диагностики, профилактики и лечения клостридиальной анаэробной инфекции.

Тренировочные тесты

1. Возбудителями анаэробной инфекции являются представители семейства:
 - *Coxiellaceae*
 - *Campylobacteraceae*
 - + *Clostridiaceae*
 - *Corynebacteriaceae*
 - *Chlamydiaceae*
2. По морфологии возбудители клостридиальной анаэробной инфекции являются:
 - + грамположительными спорообразующими палочками
 - грамотрицательными палочками
 - стрептококками
 - стафилококками
 - извитыми формами
3. Клостридии являются:
 - грамотрицательными палочками
 - + грамположительными палочками
 - грамотрицательными кокками
 - грамположительными кокками
 - извитыми формами
4. Возбудителями газовой гангрены являются:
 - + *C. perfringens*
 - *C. tetani*
 - *C. botulinum*
 - + *C. histolyticum*

+ *C. septicum*

5. Для выращивания клостридий используют среду:

- Эндо
- + Китта-Тароцци
- Левина
- Плоскирева
- висмут-сульфитный агар

6. Клостридии являются:

- + спорообразующими анаэробными палочками
- спорообразующими аэробными палочками
- неспорообразующими бактериями
- извитыми бактериями
- кокками

7. Для развития газовой анаэробной гангрены необходимы условия:

- + травматический некроз тканей
- + анаэриоз
- + наличие клостридий в ране
- проникновение клостридий в кровь
- доступ в рану кислорода

8. Заражение человека клостридиями газовой анаэробной гангрены происходит при:

- контакте с больным человеком
- употреблении инфицированных продуктов
- + загрязнении ран почвой
- внутривенном введении лекарств
- переливании инфицированной крови

9. Локализация возбудителя при клостридиальной анаэробной инфекции:

- спинномозговая жидкость
- + входные ворота инфекции
- кровь
- паренхиматозные органы
- лимфатические узлы

10. Для специфической профилактики клостридиальной анаэробной инфекции используется:

- живая вакцина
- инактивированная вакцина
- + анатоксин
- антитоксин
- антибиотики

Примечание: знаком “+” отмечены правильные ответы.

Литусов Николай Васильевич

Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции

Иллюстрированное учебное пособие