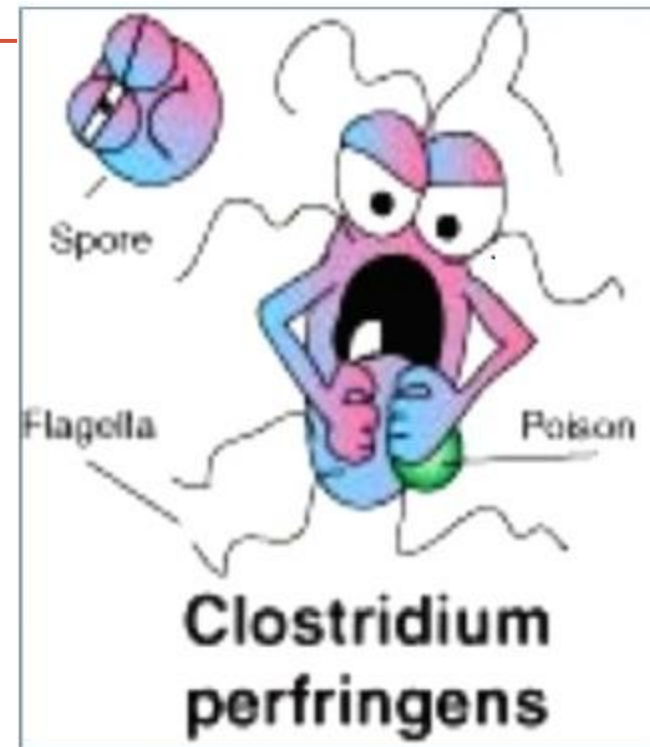


СЕМЕЙСТВО CLOSTRIDIACEAE

Род *Clostridium*

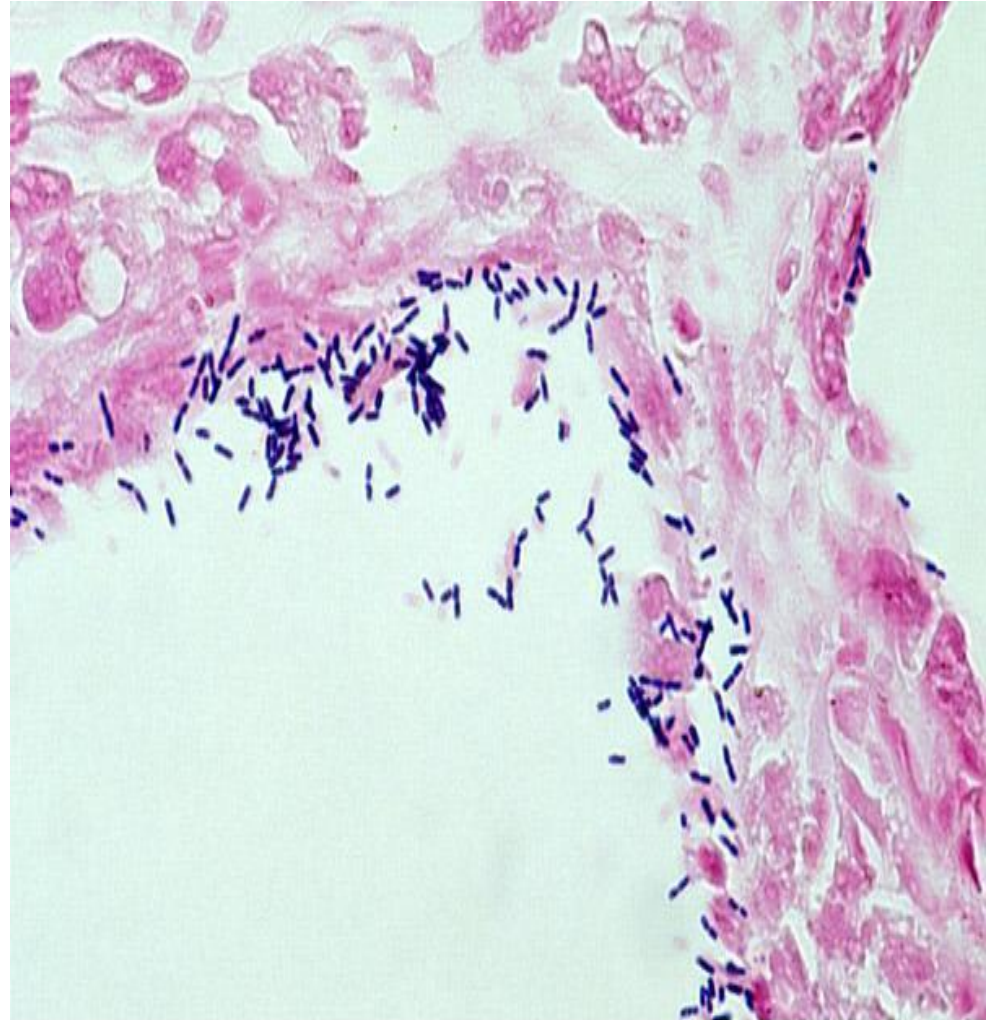
- Возбудитель столбняка *Cl.tetani*
- Возбудители газовой гангрены:

□C.perfringens,
□C.novyi,
□C.septicum,
□C.histolyticum

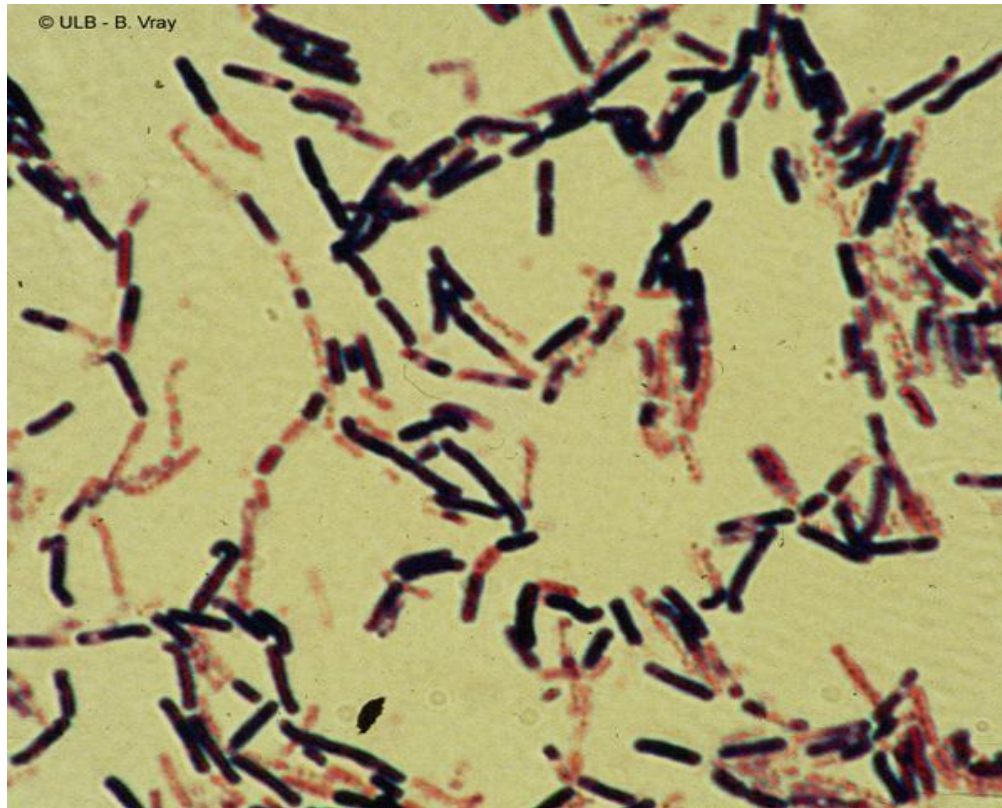


Морфология

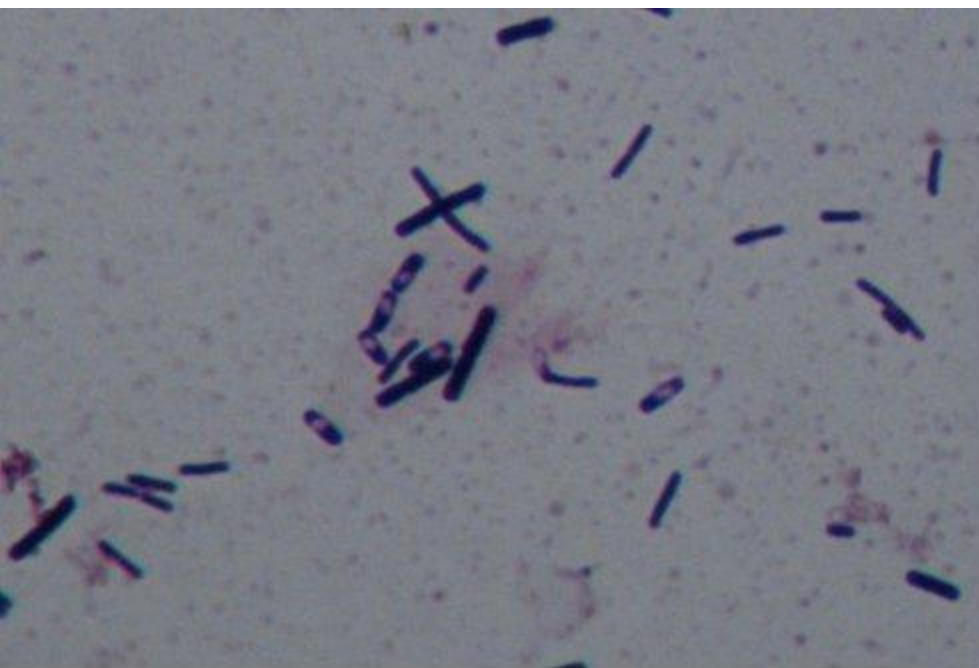
- Гр+ палочки с закруглёнными концами, *C. perfringens* образует капсулу
- Неподвижны
- В неблагоприятных условиях образуют споры



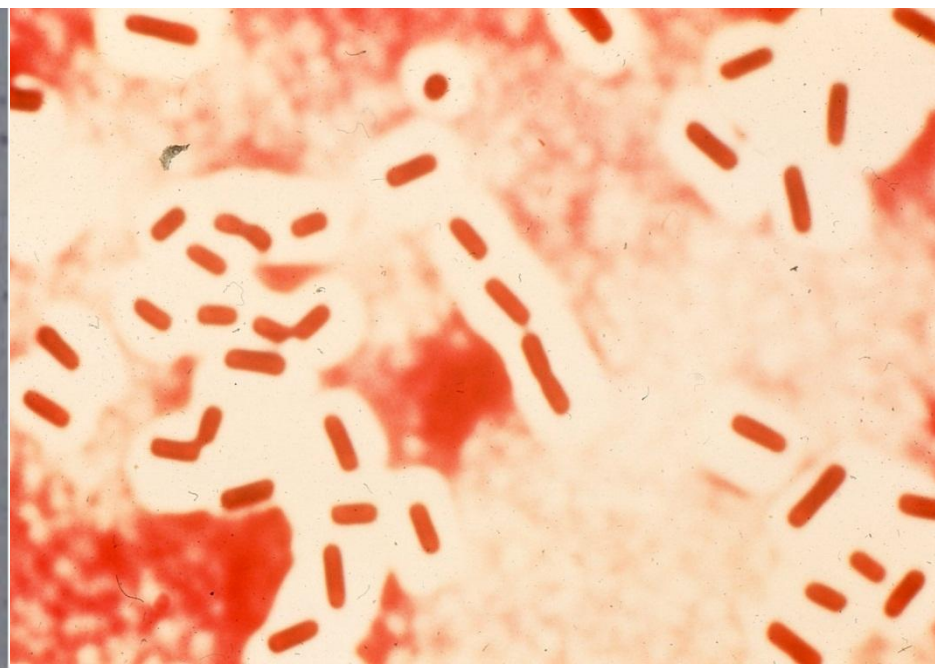
Clostridium perfringens в ране.



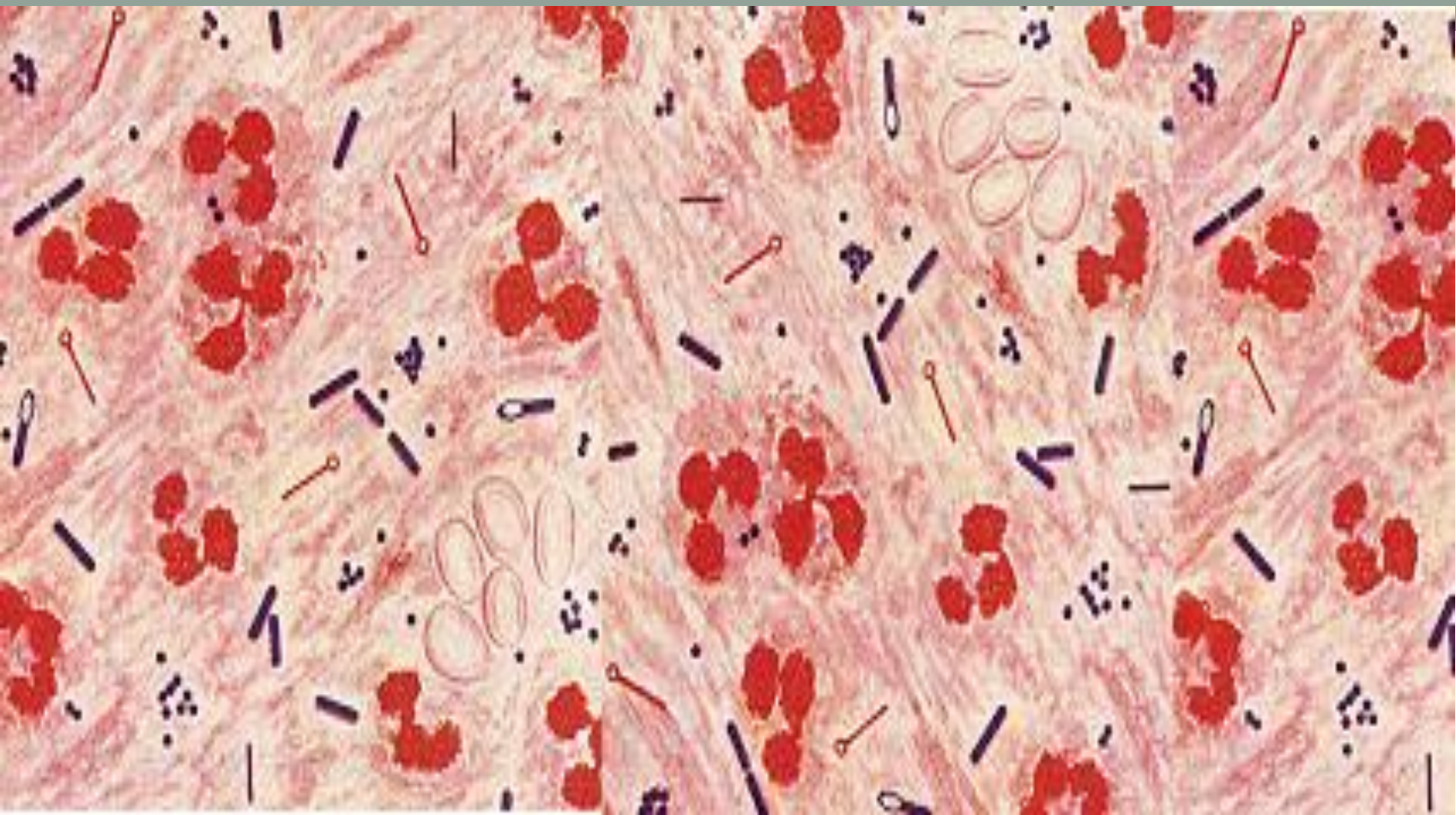
**Clostridium perfringens – молодые микробные клетки
грамположительны, старые микробные клетки
грамотрицательны.**



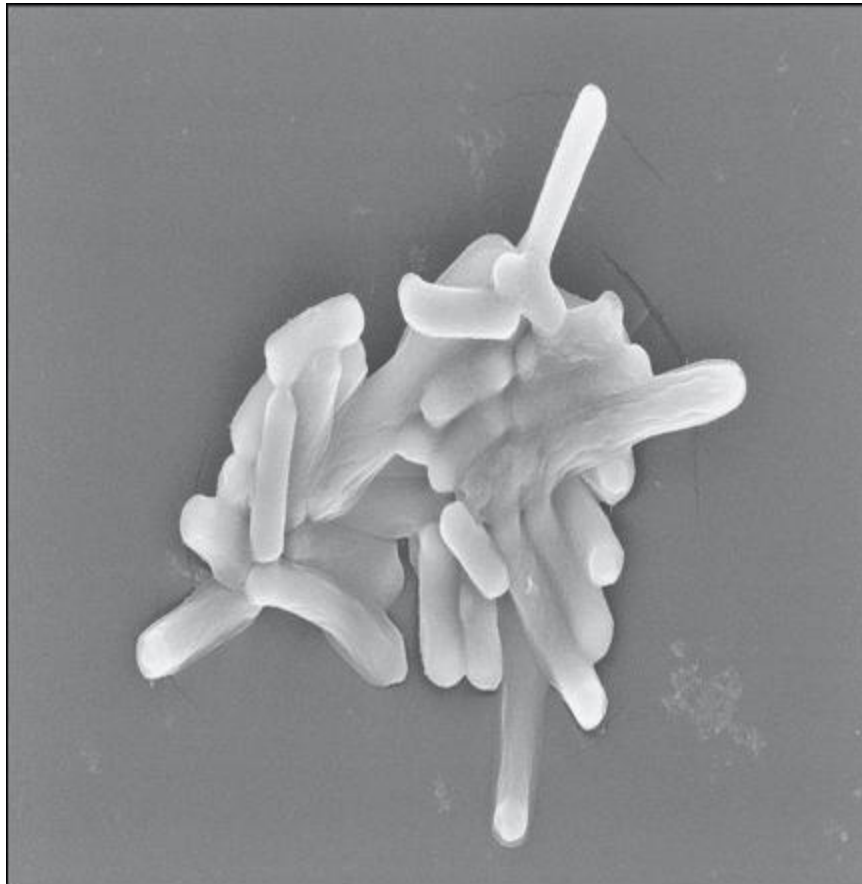
C. perfringens (чистая культура) окраска по Граму



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



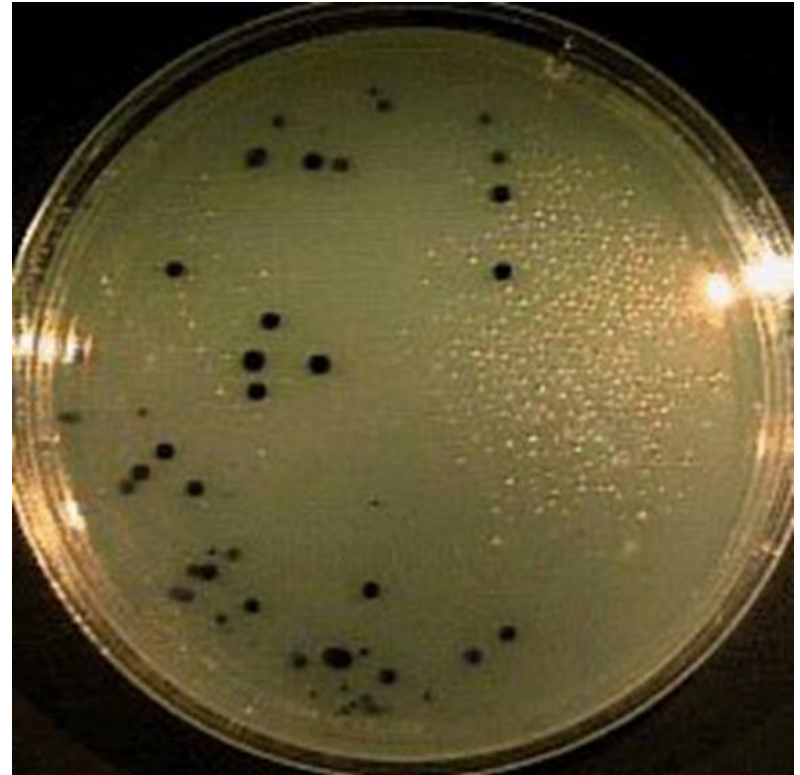
Мазок из гноя при смешанной анаэробной инфекции. Видны как минимум 3 разные клостридии.



C.perfringens. Электронная микроскопия

Cl. perfringens. Культуральные свойства

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



Рост на железосульфитном агаре

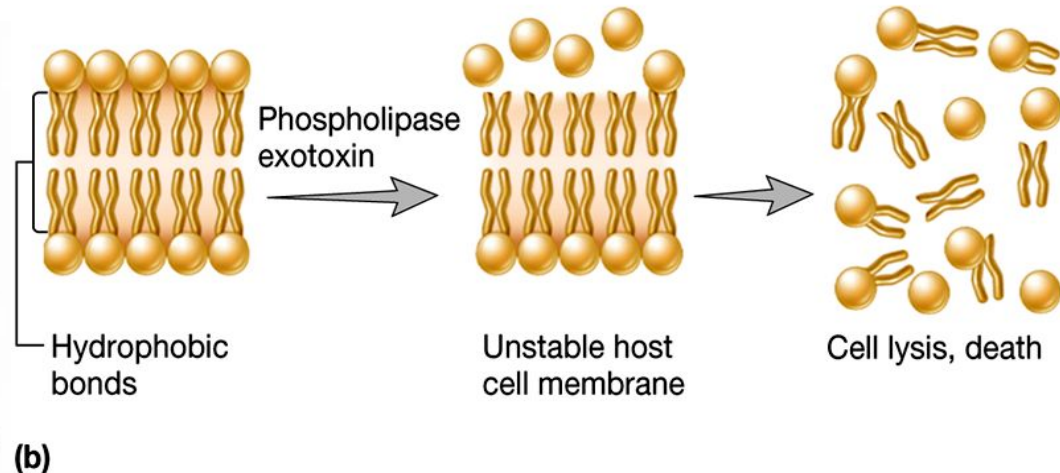
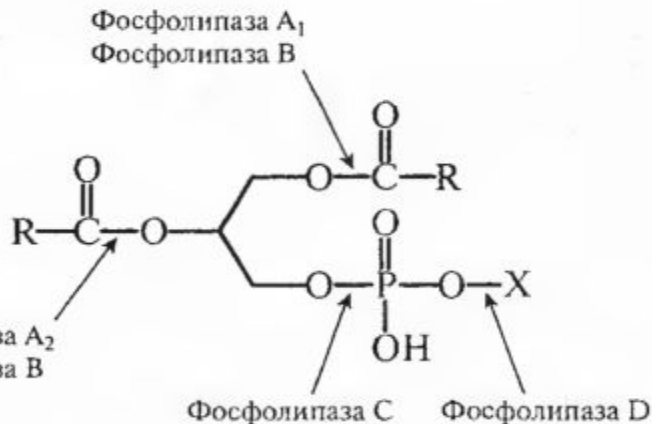
- **Тип дыхания:** облигатные анаэробы;
- **Биохимически активны:** расщепляют углеводы с образованием большого количества газа, высокая протеолитическая активность; масляно-кислое брожение
- **Антигены:** по антигенной специфичности продуцируемых токсинов выделяют 5 серотипов *C.perfringens* от А до Е; тип А чаще вызывает газовую гангрену, А,С, Д,Е вызывают пищевые токсикоинфекции

Факторы патогенности

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

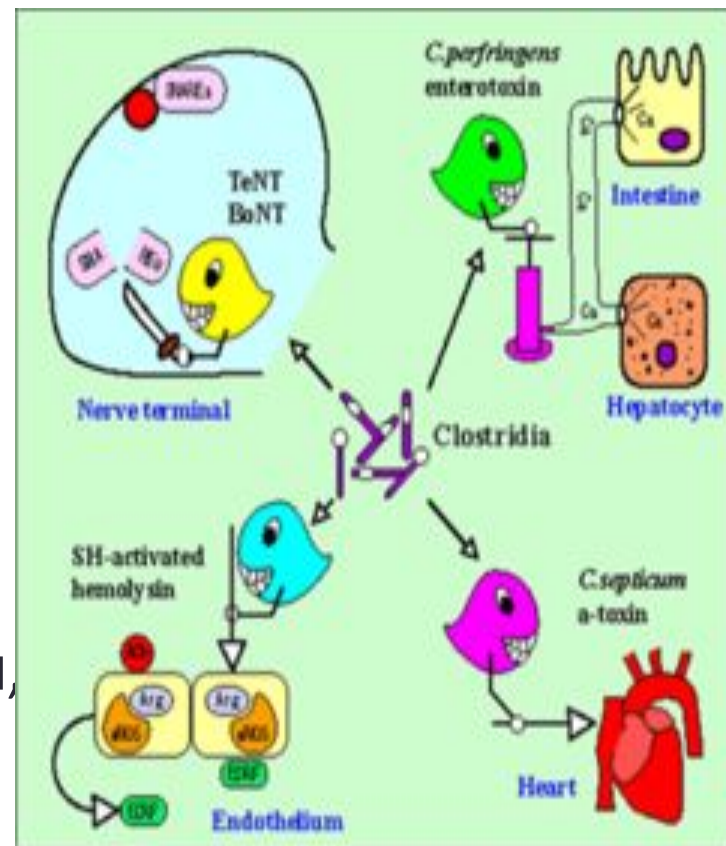
«Большие» токсины:

- **Альфа – токсин** (фосфолипаза C, 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 дисфузии



Факторы патогенности

- **Бета (β) – токсин** – обуславливает очаговый отек, геморрагии и сегментарный кишечный некроз (гангрена кишечника)
- **Эпсилон (ϵ)– токсин** – увеличивает сосудистую проницаемость слизистой кишечника
- **Йота (i)– токсин** – летальный токсин, вызывает некроз и повышает проницаемость сосудов.
- **Энтеротоксин** – пищевые токсикоинфекции



Факторы патогенности

«Малые» токсины

- Дельта (δ) – токсин – гемолитическая активность
 - Тета (θ) – токсин – разрушает холестерин клеточных мембран, приводит к цитолизу
 - Каппа (κ) – токсин (коллагеназа, желатиназа) – некротическое действие
 - Лямбда (λ) – токсин – протеаза
 - Мю (μ) – токсин – гиалуронидаза
 - Нью (ν) – токсин – ДНКаза
 - Нейраминидаза – модифицирует рецепторы на клетках
- «Малые» токсины усиливают действие альфа - токсина

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, разможенных, 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.

Клиника

- ❑ Газовая гангрена имеет короткий инкубационный период - почти всегда менее 3 суток и часто менее 24 ч..
- ❑ Первые симптомы – сильная боль и набухание тканей вокруг раны
- ❑ Отек и интоксикация быстро нарастают.
- ❑ Раневое отделяемое с неприятным запахом;
- ❑ Во время хирургической обработки мышцы могут казаться бледными из-за выраженного отека, однако они не сокращаются при пересечении скальпелем. На разрезе мышцы имеют вид вареного мяса и не кровоточат. В дальнейшем они становятся черными и рыхлыми.
- ❑ Крепитация (похрустывание при пальпации – результат обильного газообразования) нередко определяется по всей поверхности тела.
- ❑ Сознание длительное время остается ясным, несмотря на артериальную гипотензию и почечную недостаточность.
- ❑ Спутанность сознания и кома наступают только перед смертью



Иммунитет

- Антитоксический и антимикробный
- Постинфекционный иммунитет не напряженный

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.

Лабораторная диагностика

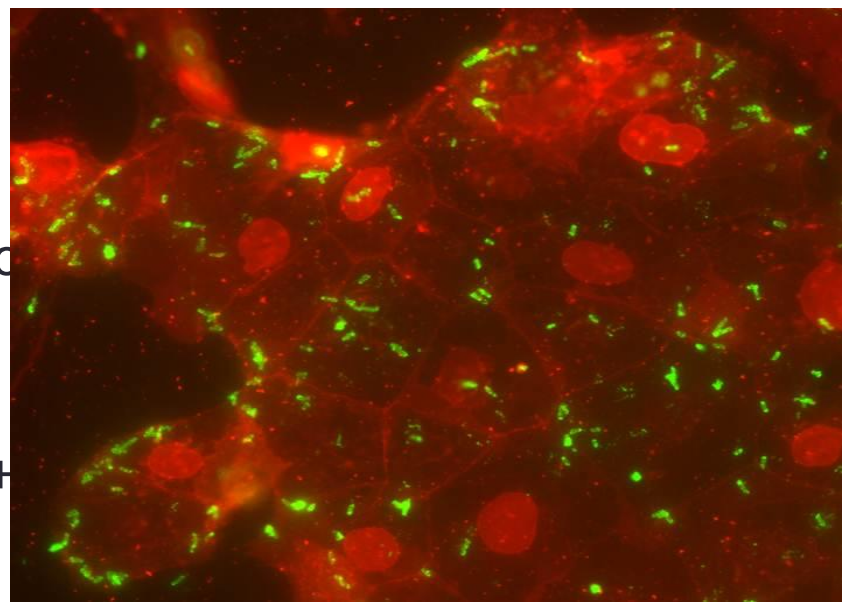
Материалом для исследований служат биоптаты поражённых тканей (включая участки, примыкающие к очагам некроза, и отёчную жидкость), перевязочный и шовный материал, одежда, образцы почвы.

Транспорт клинического экземпляра производится
строго в анаэробных условиях

Методы:

1. Быстрая диагностика:

- иммунофлуоресцентный;
клинический диагноз подтверждается
при обнаружении грамположительных
палочек в отсутствии лейкоцитов
- Газожидкостная хроматография ран
отделяемого



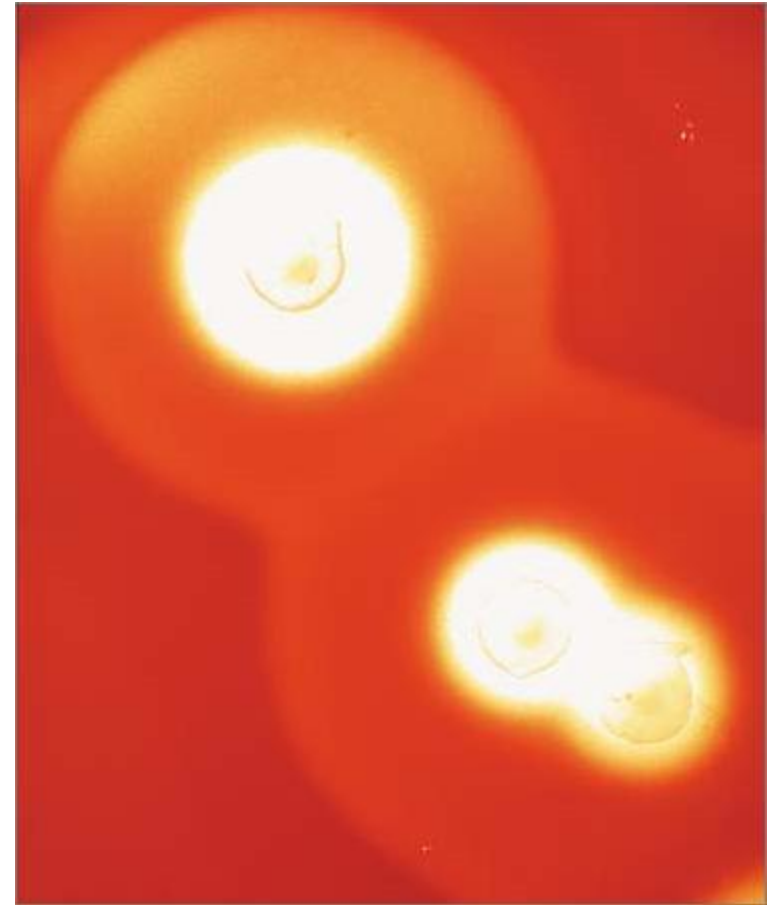
Лабораторная диагностика

2. Бактериологический метод

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

2 этап. Макро- и микроскопическое изучение колоний.

3 этап. Биохимическая идентификация на системах API-20A



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



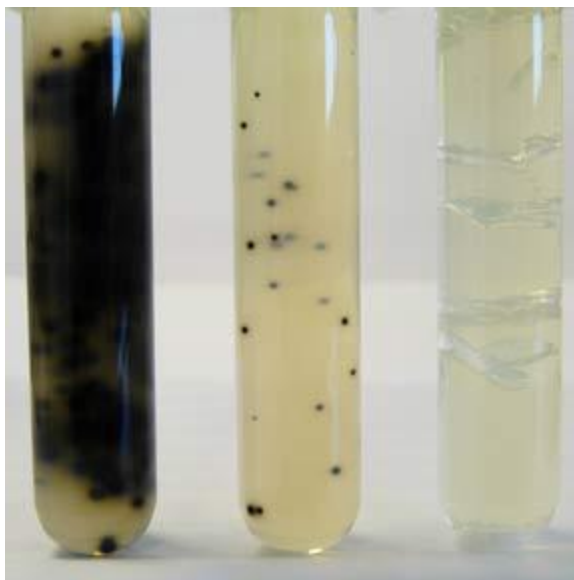
Определение лецитиназной активности у *Clostridium perfringens*.



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

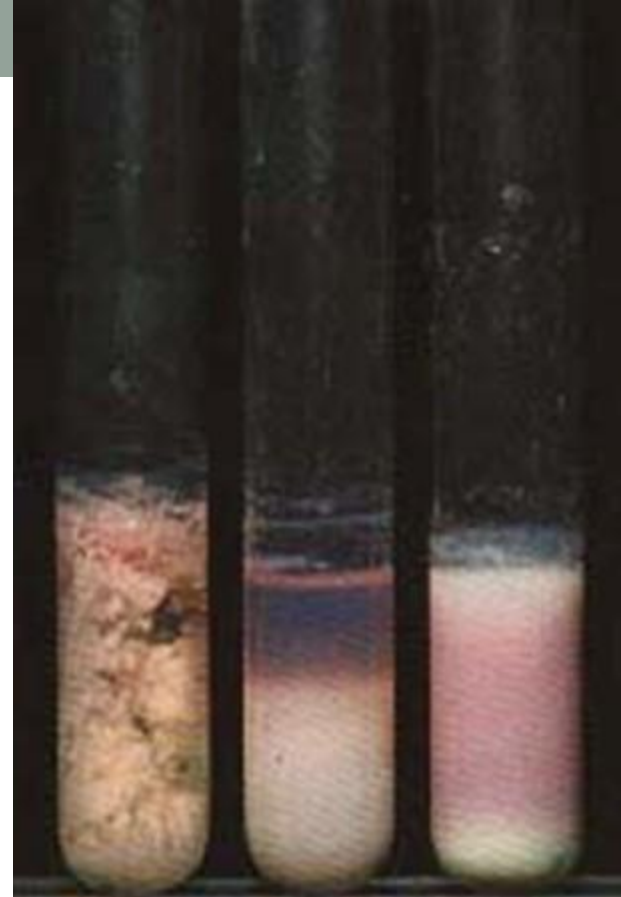


Клостридии



Для ускоренной диагностики газовой гангрены производят посеvy исследуемого материала на среду Вильсон-Блера и в пробирку с молоком – по изменению которых можно обнаружить с достаточной надежностью присутствие *C. perfringens* в течение 6 часов. Культивирование проводят при 42°C.

Среда Вильсон-Блера через 4-6 часов чернеет, появляется множество разрывов агара вследствие газообразования. Молоко через 2-4 створаживается – сверху образуется сгусток казеина, пронизанный пузырьками газа, в нижней части пробирки – прозрачная сыворотка. Если используют лакмусовое молоко, то сгусток приобретает красный цвет.



**Клостридии
створаживают
молоко**

Лабораторная диагностика

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

4. Определение альфа-токсина методами РОНГА, ИФА

5. ПЦР

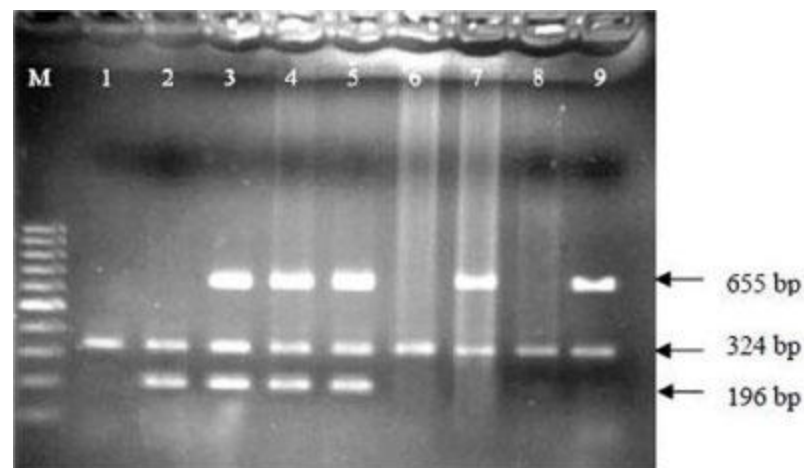


Figure 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products obtained from *C. perfringens* isolated from Kermani sheep dong sample. M: marker (DNA ladder, 100 bp); lanes 1, 6 and 8: *C. perfringens* type A isolates; lane 2: *C. perfringens* type C isolates; lanes 3 to 5: *C. perfringens* type B isolates; lanes 7 and 9: *C. perfringens* type D isolates.

Профилактика и лечение

- Для специфической профилактики при осложненных травмах и лечения газовой гангрены назначают поливалентную противогангренозную лошадиную сыворотку, содержащую антитела против токсинов *C.perfringens*, *C.novyi*, *C.septicum*
- Комплексные меры включают хирургическую обработку ран, гипербарическую оксигенацию, антибиотики и противогангренозную сыворотку.