



Тезис №3

РОД CLOSTRIDIUM

Изготвил: Ас. д-р Т. Анастасова



Обща характеристика на рода

- ✓ Строго анаеробно спорообразуващи бактерии
- ✓ Грам/+ / пръчици
- ✓ Всички видове в рода образуват ендоспори
- ✓ Диаметърът на спората е по-голям от напречният размер на вегетативната клетка
- ✓ При субтерминално или парацентрално разположена спора вегетативната клетка прилича на вретено-“closter”
- ✓ Представителите на рода обикновено притежават ресни, не притежават капсула
- ✓ Изключение *C. perfringens* – има капсула, не притежава ресни



Разпространение

- ✓ Рода включва десетки строги анаеробни бактерии
- ✓ Голяма част от тях са естествени обитатели на почвата и храносмилателният тракт на хора и животни
- ✓ Най-важни за човешката патология са:
 - *C. tetani*-причинява тетанус
 - *C. perfringens* – причинява газова гангрена
 - *C. botulinum* – причинява ботулизъм
 - *C. difficile* - причинява псевдомембранозен колит
- Всички патогенни клостридии образуват екзотоксини и екзоензими, които са в основата на тежките заболявания, които причиняват



Clostridium tetani

- ✓ Малко история – заболяването тетанус е познато от древността. Причинителят му е открит от A. Nicolaer – 1884г.

Морфология:

- ✓ Грам/+ / пръчки
- ✓ Притежава ресни
- ✓ Не притежава капсула
- ✓ Извън организма образува спори
- ✓ Спората се разполага терминално във вегетативната клетка и ѝ придава вид на барабанна палка или карфица



Културелни свойства и биохимична производителност

- ✓ Тетаничният клостридий е облигатен анаероб
- ✓ Оптимална температура – 35°C - 37°C
- ✓ Взискателен към хранителните среди
- ✓ Расте добре върху агар на Цайслер, агар на Уилис-Хобс
- ✓ Върху агара на Цайслер дава нежни мрежовидни колонии със склонност към пълзеж
- ✓ Понякога има слаба хемолиза
- ✓ В течната среда на Тароци дава помътняване и утайка
- ✓ Има твърде слаба биохимична активност



Антигенна структура

- ✓ Соматични антигени
- ✓ Ресничести Н – антигени
- ✓ Въз основа на Н - антигена се разграничават 10 серотипа



Фактори на патогенността и вирулетността

- ✓ Патогенността на *C. tetani* се обуславя от силният екзотоксин, продуциран от вегетативните клетки
- ✓ Тетаничният екзотоксин има два компонента:
 - тетаноспазмин – невротоксично действие
 - тетанохемолизин – разрушава еритроцитите
- Основен фактор, предизвикващ тетаничния синдром е тетаноспазмина
- ✓ Тетаноспазмина блокира освобождаването на инхибиторни медиатори в спиналните синапси, което причинява хиперактивация на постсинаптичните спинални неврони с развитие на тонични мускулни спазми и хиперрефлексия
- ✓ Тетаничният екзотоксин е един от най-силните токсини



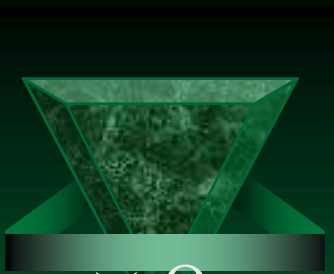
Резистентност

- ✓ Вегетативните клетки загиват бързо под действието на физични и химични фактори
- ✓ Спорите обаче са твърде устойчиви на тяхното действие – напр. при изваряване спорите остават жизнеспособни 1-3 часа
- ✓ За унищожаване на спорите е нужно автоклавиране - 121°C -30 мин.
- ✓ В почвата спорите могат да останат жизнеспособни 10 и повече години



Патогенност за животни

- ✓ Тетаничният клостридий е част от нормалната флора в червата на тревопасните
- ✓ При тази си локализация не предизвиква заболяване поради инактивиране на екзотоксина от протеолитичните ензими
- ✓ В естествени условия животни /коне, кучета, котки, свине, едър и дребен рогат добитък/ могат да заболяят от тетанус само при попадане на спори в рани на животните



Епидемиология, патогенеза и клинична картина

- ✔ Основен резервоар и източник на заразата са тревопасните
- ✔ 40% от хората също притежават вегетативната форма на бактерия в червата си
- ✔ С фецеса на животните и хората причинителя попада в почвата и спорулира
- ✔ Тетануса е покривна инфекция и се развива при попадане на спори на причинителя в наранена кожа и лигавица
- ✔ Инфекцията обикновено е **екзогенна** – рани, изгаряния, пъпна рана при новороденото, ухапване от животни и др.
- ✔ В някои случаи може да бъде и **ендогенна** – напр. при перфорация на тънко черво, коремна операция и др.
- ✔ **Идеопатичен тетанус** – входната врата на инфекцията остава неустановена.



- След попадане на спорите във входната врата те се превръщат във вегетативни клетки, които се локализират и размножават само в увредените тъкани, т.е причинителят не е инвазивен
- Понижен окислително-редукционен потенциал в травмизираните тъкани е необходимо условие за развитието на *C. tetani*
- Патологичните прояви се дължат на продуцираният екзотоксин, който се пренася до главния и гръбначния мозък по кръвен и нервен път



- ✓ Инкубационен период – 6-14 дни
- ✓ Протичането е десцендентно
- ✓ Първо се получава ригидност и гърчове на дъвкателната мускулатура- тризмус, след това се засяга мимическата мускулатура – risus sardonicus, следва засягане на мускулите на врата, гръдната стена, гръбначният стълб и крайниците
- ✓ Тялото се извива като дъга, болния се опира само на тила и петите си – опистотонус
- ✓ Развиват се генерализирани гърчове
- ✓ Болните са в съзнание
- ✓ Смъртта обикновено настъпва поради асфиксия, вследствие парализиране на мускулатурата на ларинкса и диафрагмата или сърдечно-съдов колапс
- ✓ При генерализиран тетанус леталитетът достига до 50%



Имунитет

- ✓ Сред преболедуване се развива антитоксичен имунитет
- ✓ Възможни са повторни заболявания, тъй като постинфекциозният антитоксичен имунитет е слабо напрегнат и с ограничена продължителност



Микробиологична диагноза

- Материали за изследване от болни – гной, некротична тъкан, секрет от кожни рани, секрет от пъпна рана, секрети от влагалище и цервикса, кръв и др.
- При смъртни случаи – кръв от сърцето, късчета черен дроб и слезка
- По епидемични показания – почва, прах, смивове от инструментариум, превързочни материали
- Пробите от клинични материали задължително се транспортират в транспортни среди за анаероби и се съхраняват на стайна температура до 2 часа



Ход на изследването

- ✓ Микроскопско изследване- препарати по Грам и за спори. Окриването на бактерии с характерна морфология в клиничен материал е важен диагностичен белег. Спори се откриват в материал от култивирани бактерии, но не и в клиничен материал.
- Културелно изследване – материала, в които се очаква причинителят да е в спорова форма, се разделя на две порции като едната се загрява 10-20 мин. при 80⁰С за да се убият неспорообразуващите бактерии
След това двете проби /загрята и незагрята/ се работят паралелно
Използват се течни и твърди хранителни среди, които се култивират анаеробно и се отчитат растежните особености на развилиите се микроорганизми



✓ Биологично изследване, заразяване на
опитни животни

Диагнозата на *C.tetani* се потвърждава чрез
доказване на тетаничен екзотоксин с
биологична проба/тест на мишка/.

Тетаничния токсин и специфичните антитела
рядко се откриват в пациента, защото токсина
бързо се свързва с моторните неврони



Специфична профилактика и терапия

- ✓ Специфичната профилактика на тетануса се осъществява с ваксина / тетаничен анатоксин/
- ✓ Тя е част от задължителният имунизационен календар /дифтеткок/ДТК/, дифтет/ДТ/
- ✓ При нараняване – ваксиниране с 0,5 ml тетаничен анатоксин
- ✓ Специфична терапия на тетануса – човешки противотетаничен гама-глобулин/тета-глобулин/. В случай , че липсва може да се използва хетероложен противотетаничен серум
- ✓ Тези препарати могат да блокират екзотоксина само на входната врата на инфекцията и в кръвта, но не могат да блокират екзотоксина, свързал се вече с нервните клетки. Само ранното им прилагане има животоспасяващ ефект



Специфична профилактика и терапия

- ✓ Хирургична обработка и дрениране на рана за осигуряване достъп на кислород.
- ✓ Антибиотична терапия- Metronidazole за спиране размножаването на причинителя
Аминогликозиди – не се прилагат
- ✓ Срещу пристъпите на гърчове се прилагат миорелаксанти и седативи



Причинители на газовата гангрена /Clostridium perfringens, Clostridium novyi, Clostridium septicum/

История

- Пастър пръв изолира причинител на газова гангрена *C. septicum*
- Най-често газовата гангрена се причинява от *C. perfringens* – 90%



Морфология

- ✓ Грам /+/ пръчки
- ✓ Не образуват капсула
- ✓ Притежават ресни – с изключение на *C. perfringens*
- ✓ *C. perfringens* образува капсула и е неподвижен
- ✓ Образува спори, които се разполагат субтерминално и вегетативната клетка има вретеновидна форма



Културелни свойства и биохимична производителност

- ✓ Газгангрениите клостридии са строги анаероби
- ✓ Развиват се добре върху агара на Цайслер, агара на Уилис –Хобс
- ✓ *C. perfringens* – дава кръгли, гладки колонии, характерна хемолиза – тясна вътрешна зона с пълна хемолиза и широка периферна зона на непълна хемолиза,
- ✓ *C. septicum* – дава грапави колонии с нишковидна израстъци по периферията.
- ✓ В течна хранителна среда на Тароци газгангрениите клостридии дават равномерно помътняване. *C. perfringens* дава обилно газообразуване, *C. septicum* и *C. novyi* образуват по-малко количество газ



Антигенна структура

- ✓ Соматични антигени
- ✓ Ресничести Н- антигени
- ✓ *C. perfringens* – притежава само соматичен, но не и Н-антиген



Фактори на патогенността и вирулентността

- Основен фактор на патогенността на газгангрениите клостридии са продуцираните от тях силни екзотоксини/комплекс от токсични и ензимни компоненти/
- *C. perfringens* продуцира 12 екзотоксина
Най-важно значение има **алфа-токсина**/фосфолипаза С или лецитиназа/, който разрушава клетките. Алфа – токсина има хемолитична, некротична и летална активност. **Тета-токсина**, който проявява некротична и летална активност.
Ензими/хиалуронидаза, неураминидаза, колагеназа/-инвазивни свойства
- *C. perfringens* продуцира и ентеротоксин, т.е предизвиква освен газова гангрена и хранителна токсикоинфекция



Резистентност

- ✓ Вегетативните клетки загиват бързо под действието на физични и химични фактори
- ✓ Спорите обаче са твърде устойчиви на тяхното действие
- ✓ За унищожаване на спорите е нужно автоклавиране - 121°C - 30 мин.
- ✓ В почвата спорите могат да останат жизнеспособни в продължение на много години



Епидемиология, патогенеза и клинична картина

- ✓ Основен резервоар и източник на заразата са тревопасните животни и човекът, в червата на които газ газгангренните клостридии са част от нормалната флора
- ✓ В червата като част от нормалната флора не причиняват заболяване поради инактивиранена екзотоксините им от чревни ензими
- ✓ С фецеса вегетативните клетки попадат в почвата и спорулират



- ✔ Заразяването най-често **екзогенно** през наранена кожа и лигавици – рани/разкъсно-контузни, размачкване на тъканите/, при инжекции, при различни лечебни и диагностични манипулации и др.
- ✔ **Ендогенно** заразяване –може да се осъществи при колоректални операции и бъбречни операции, аборт, раждане.
- ✔ Не всяко заразяване на рани с причинителя води до заболяване. Намаления окислително-редукционен потенциал на травмизираните тъкани е критичен фактор за размножаването на бактериите и продуциране на екзотоксини.



Патологични промени в засегнатите тъкани

- ✓ Некроза – предизвиква се от екзотоксините
- ✓ Оток- предизвиква се от екзотоксините
- ✓ Образуване на газ – резултат от разграждане на въглехидратите, особено на гликогена в мускулите и на белтъците



- ✓ Инкубационен период -1-4 дни
- ✓ Клинично се наблюдават: гангрена, оток, крепитации в подкожието и мускулите, гнилостна миризма, висока температура
- ✓ Налице е и обща интоксикация
- ✓ Клинични форми:
 - оточна
 - емфизематозна
 - токсична
 - смесена

Заболяването и днес се свързва с висок леталитет

Възможни са повторни заболявания



Микробиологична диагноза

- ✓ Материали за изследване – ранев секрети, ексудат, дълбок пунктат от абсцес, аспирати от рани/взети в дълбочина от ръба на раната/ оперативно взети късчета тъкан, некротична тъкан, кръв. Хирургични материали, инструментариум при епидемиологично проучване. Пробите от клинични материали задължително се транспортират в транспортни среди за анаероби и се съхраняват на стайна температура до 2 часа
- ✓ Ход на микробиологичното изследване
 - микроскопско изследване – препарати по Грам и за спори. Препарата по Грам има диагностична стойност – откриването на Грам-положителни къси, дебели с отсечени крайща пръчки и отсъствието на левкоцити, поради действието на екзотоксините.



Микробиологична диагноза

- Културелно изследване: култивирането се извършва при анаеробни условия като се използват твърди и течни хранителни среди за култивиране: Бруцела кръвен агар, тиогликолатна среда, агар на Уилсън Блеер. *C. perfringens* расте бързо до 24 часа, не е взискателен микроорганизъм. На Кръвен агар дава характерна двойна зона на хемолиза. На средата на Уилсън Блеер дава дифузно почерняване на средата и нацепване на агара поради обилното образуване на газ. *C. Perfringens* има силно изразена биохимична активност
- Биологично изследване: заразяване на опитни животни
- имунофлуоресцентен метод-за бърза диагноза



Специфична профилактика и терапия

- ✓ За специфична профилактика при нараняване — еднократно антитоксичен поливалентен противогангренозен серум
- ✓ За специфична терапия при развита се газова гангрена се използва същия серум, но в три-петкратно по-високи дози
- ✓ Хирургично отстраняване на девитализираните тъкани
- ✓ Високи дози пеницилин, карбеницилин, метронидазол
- ✓ При тежки случаи - хипербарична оксигенация в барокамери



Clostridium botulinum

- ✓ История – причинителят на ботулизма е открит през 1896г. в органи на починали след консумация на шунка / botulus – колбас/
- Морфология
- ✓ Грам/+/ пръчка
- ✓ Не образува капсула
- ✓ Притежава ресни
- ✓ Образува спори, разположени субтерминално
- ✓ Клетката прилича на ракета за тенис



Културелни свойства и биохимична производителност

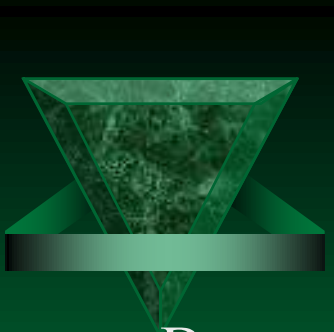
- ✓ Ботулиновият клостридий е строг анаероб
- ✓ Развива се добре върху агара на Цайслер, агара на Уилис –Хобс
- ✓ Колониите са плоски, с неправилна форма
- ✓ На среди съдържащи кръв дава тясна хемолиза
- ✓ В течна хранителна среда на Тароци дава равномерно помътняване в началото, а по-късно утайка на дъното на епруветката и просветляване на течността
- ✓ Причинителят на ботулизма има силно изразена биохимична производителност, според която щамовете се разделят на четири групи:
 - 1 – ва група –силно протеолитични
 - 2 – ра група – силно захаролитични, непротеолитични
 - 3 – та група - непротеолитични, но захаролитични
 - 4 – та група – протеолитични, но не захаролитични



Антигенна структура

- ✓ Соматични антигени
- ✓ Ресничести Н – антигени
- ✓ Силни антигени са и екзотоксините

В зависимост от антигенната специфичност на образуватите екзотоксини от щамове се разграничават осем серовара /серотипа/ на *C. botulinum*



Фактори на патогенността и вирулентността

- ✓ В основата на патогенността на причинителя на ботулизма е образуването от него изключително силен екзотоксин – ботулин. Той се счита за най-силната известна отрова
- ✓ Ботулиновият екзотоксин се състои от токсичен компонент / ботулинов невротоксин/ и нетоксични протеинови компоненти
- ✓ Не се разрушава от протеолитичните ензими в стомашно - чревния тракт
- ✓ Механизма на действие на ботулиновия невротоксин се състои в блокиране освобождаването на ацетилхолина в невромускулни синапси, с което се подтиска предаването на нервното възбуждане и се развиват вяли парализи



Резистентност

- ✓ Вегетативните клетки загиват бързо под действието на физични и химични фактори
- ✓ Спорите обаче са твърде устойчиви на тяхното действие
- ✓ За унищожаване на спорите е нужно автоклавиране - 121°C за 30 мин.



Епидемиология, патогенеза и клинична картина

- ✓ Естествената среда за обитаване на ботулиновия клостридий е почвата
- ✓ От нея спорите могат да попаднат върху зеленчуци, плодове, месо и др. храни
- ✓ При лошо консервиране на такива продукти спорите могат да останат жизнеспособни
- ✓ При анаеробни условия и подходящи температура спорите се превръщат във вегетативни клетки, които се размножават и в храната се натрупва екзотоксин. При консумация на такава храна се развива **ботулинова хранителна интоксикация**
- ✓ **Ботулинова хранителна токсикоинфекция**- в храната освен токсини има и живи бактерии, които се размножават в червата и образуват екзотоксини.



Форми на болестта

- ✓ Детски - засяга бебета на възраст от 3 до 26 седмици, свързва се с поглъщането на спори на причинителя, които се превръщат във вегетативни клетки в червата / размножаване, екзотоксин/. Клинично се наблюдават слабост, вяли парализи
- ✓ Ранев ботулизъм – получава се при контаминиране на рани със спори на причинителя, превръщането им във вегетативни клетки, размножаване и продукция на екзотоксин в тях, чест по време на война. Проявява се като невропаралитично заболяване, симптомите са подобни на тези при хранителната ботулинова интоксикация, но много по-слаби



- ✓ Хранителна ботулинова интоксикация –
- Инкубационен период -5 часа- 8 дни
 - Началото - нехарактерни продромални симптоми – болка в корема, главоболия, повръщане
 - Характерни симптоми- резултат от парализа на очните мускули – птоза на клепачите, двойно виждане
 - Гласът става груп, стига се до афония
 - Намалява секрецията на слъзни, слюнчени и потни жлези
 - Температурата е нормална, съзнанието е запазено
 - Леталитета при тази форма 70%
 - Най-често се дължи на спиране на дишането или сърдечната дейност



Микробиологична диагноза

- ✓ Материали за изследване
 - От болни – повърнати материи, урина, кръв, изпражнения, промивни води от стомаха
 - Остатъци от консервирани храни, колбаси и др.
- ✓ Основно значение за поставяне на диагнозата има доказването на ботулиновия екзотоксин в кръв или др. материали от хора или консерви. Доказването става чрез биологична проба с опитни животни. Неоткриване на екзотоксина не винаги изключва заболяване
- Културелно изследване
- ✓ За бърза диагностика може да се използва имунофлуоресцентният метод



Специфична профилактика и терапия

- ✓ За профилактика на ботулизма , при дори един случай на ботулиново хранителна интоксикация на всички консумирали от съмнителната храна се поставя моновалентен противоботулинов серум.
- ✓ За специфична терапия се прилага неколнократно поливалентен противоботулинов серум.
- ✓ Терапията може да бъде животоспасяваща само, ако се приложи навреме.
- ✓ При ботулизъм не се препоръчва употреба на АБ-тици, тъй като някои от тях могат да потенцират паралитичните прояви.
- ✓ За предотвратяването на хранителната ботулиново интоксикация е необходимо строго спазване на технологията при производството на консерви.
- ✓ Сигурна неспецифична предпазна мярка е варенето на 100° за 20 минути.



Clostridium difficile

- Морфология културелни свойства и биохимична производителност
 - ✓ Грам /+/ пръчица
 - ✓ Образува ресни и спори
 - ✓ Clostridium difficile расте в температурния диапазон 25-45 °C , облигатен анаероб
 - ✓ Върху твърди хран.среди дава едри матови колонии
 - ✓ Захаролитичен,слабо протеолитичен
- Антигенна структура
 - ✓ Соматичен антиген
 - ✓ Ресничест антиген
 - ✓ Двата екзотоксина също имат силни антигенни свойства



Фактори на патогенност и вирулентност

- Установено е, че *C.difficile* е причинител на свързаните с употреба на антибиотици тежки псевдомембранозни колити и на около 25 % от по-леките диарийни заболявания.
- От решаващо значение за развитието на псевдомембранозните колити са екзотоксините, продуцирани от причинителя: токсин А и токсин В
- Токсин А е мощен ентеротоксин и е основния патогенетичен ф-р за развитието на псевдомембранозния колит
- Токсин В е силен цитотоксин
- Повечето щамове образуват и двата токсина, някои образуват един от двата токсин
- Нетоксигенни щамове не причиняват псевдомембранозен колит.



Епидемиология патогенеза и клинична картина

- *C.difficile* се изолира от почва, изпражнения на коне, кучета, деца и по-рядко от фецеса на възрастни хора.
- Причинителят може да се предава от човек на човек по фекално-орален път.
- Псевдомембранозният колит се развива при лечение с широкоспектърни антибиотици - клиндамицин, цефалоспорици и др, към които *C.difficile* е резистентен.
- Потискането на много представители на нормалната флора създава условия за интензивно размножаване на причинителя и продукция на екзотоксини.



Епидемиология патогенеза и клинична картина

- Клинично псевдомембранозният колит се проявява с водниста, понякога кървава диария, колики, висока температура и дехидратация.
- Ендоскопски в лигавицата на дебелото черво се наблюдават ексудативни плаки, които могат да се сливат и да образуват псевдомембрани на значителна площ. Под плаките се развива некроза на чревната лигавица.
- Заболяването протича тежко
- Леталитет 20 до 40 %



Микробиологична диагноза

- Материали за изследване: фецес, биопсичен материал
- Изолирането и идентифицирането на причинителя е трудно.
- За по-удобно и с по-голяма доказателствена стойност днес се използва установяването на екзотоксините на причинителя във фецес и в културелна течност.
- Директно доказване с имуноензимни тестове на токсини във фекална проба. Препоръчва се доказване и на двата токсина А и В.
- Тестове за доказване на токсин в чиста култура - по чувствителни и специфични от директните във фецеса.



Специфична профилактика и терапия

- Специфична профилактика и терапия НЯМА
- Следи се състоянието на болните лекувани с широкоспектърни антибиотици и в случай, че те имат 5 или повече дефекации дневно, без друга очевидна причина антибиотичното лечение се прекратява/при леките случаи/, а при тежка клинична картина се прилага терапия.
- Химиотерапия-метронидазол, ванкомицин, вливания