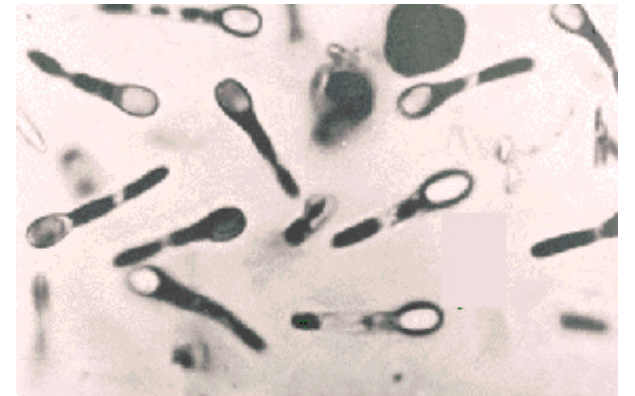


Clostridium İnfeksiyonları ve Laboratuvar Teşhisi



- Clostridium türleri, doğada ve özellikle toprakta yaygın olarak bulunan anaerobik veya mikroaerofilik sporlu mikroorganizmalardır
- İnsan ve hayvanların sindirim sisteminde flora bakterisi olarak ta bulunan bu mikroorganizmalar, birçok hayvan türünde sinir, sindirim, kas ve iç organları etkileyen toksinleri ve vegetatif formlarıyla hastalık oluştururlar

- Clostridium türleri, taze kültürlerde Gram pozitif boyanan, sporlu çomaklardır
- Sporlar; basilin merkezinde (central), uca yakın (sub-terminal) ve uçta (terminal) olarak yerleşebilirler
- Sporların şekli oval veya yuvarlak olabilir. Sporun çapı basilin çapından büyük olduğundan bakteri **limon, raket, tokmak** şeklinde görülür



- Hareketli türler peritrik flagellaya sahiptir
- *C. perfringens* hariç hareketlidirler ve kapsül oluşturmazlar

- Çoğu zorunlu anaerob' tur ve oksijen değişik derecelerde toksik etki yapar
- Üremeleri için %2-10 CO₂' li ortamlar uygundur ve bu ortam jar içinde ticari katalizörler ile sağlanabilir
- Besiyerine kan ve serum ilavesi üremeyi kolaylaştırır. 37°C' de üremektedirler

Clostridial etkenlerin neden olduđu infeksiyonlar

Grup	Türler	Konakçı	Klinik tablo
N ö r o t o k s i k Klostridialar	C.botulinum	İnsan, sığır, tavuk	Botulizm
	C.tetani	İnsan, at, diğer	Tetanoz
H i s t o t o k s i k Klostridialar	C.novyi	Koyun, buzağı, sığır	İnfeksiyöz Nekrotik Hepatitis
		Koyun	Büyük Baş Hastalığı
	C.haemolyticum	Sığır, koyun, domuz	İnfeksiyöz İkter Hemoglobinüri
	C.chauvoei	Sığır, koyun	Yanıkara
	C.septicum	Koyun	Bradzot
		Koyun, diğer	Malignant ödem
	C.histolyticum	İnsan	Gazlı Gangren
	C.sordelii	Koyun, sığır, at	Abomasitis, myositis, ölüm

Enterotoksemik/ Enteropatojenik Klostridialar	C.perfiringens Tip A	İnsan	Gazlı gangren, gıda zehilenmesi
	C.perfiringens Tip B	Kuzu	Dizanteri
		Dana, kuzu	Nekrotik enteritis
	C.perfiringens Tip C	Kuzu, dana, domuz yavrusu	Hemorajik enterotoksemi
		Koyun	Enterotoksemi
	C.perfiringens Tip D	Koyun	Enterotoksemi (Yumuşak böbrek hastalığı)
	C.perfiringens Tip E	Buzağı, kuzu	Enterotoksemi
	C.perfiringens Tip F	İnsan	Nekrotik enteritis
Diğer Klostridialar	C.difficile	İnsan, tavşan	Antibiyotik kullanımına bağlı kolitis
	C.argentinense		Botulizm (deneysel)
	C.spiroforme	Tavşan	İshal
	C.butyricum		Botulizm, tip E
	C.baratii		Botulizm, tip F

Önemli Clostridial türler, toksinleri ve oluşturdıkları klinik tablolar

Tür	Toksinler	Klinik tablo
C.botulinum	Nörotoksin	Botulizm
C.argentinense*	Nörotoksin	Botulizm (deneysel)
C.tetani	Nörotoksin, tetanolizin	Tetanoz
C.perfiringens	Alfa, beta, epsilon, iota, enterotoksin, delta, theta, kapa, lambda, mu, nu, neuraminidaz	Enterotoksemi, ölüm, mypnekrozis, gıda kaynaklı ishal
C.difficile	Toksin A ve B, CDT	Antibiyotik kullanımına bağlı kolitis
C.sordelii	Alfa, beta, hemolizin	Ölüm
C.novyi/C.haemolyticum	Alfa, beta, gamma, delta, epsilon	Ölüm
C.chauvoei/C.septicum	Alfa, beta, gamma, delta	Ölüm
C.histolyticum	Alfa, beta, gamma, delta, epsilon	Nekroz
C.spiroforme	lota	Tavşanlarda daire
C.butyricum	Nörotoksin	Botulizm, tip E
C.baratii	Nörotoksin	Botulizm, tip F

* C.botulinum tip

G

C. perfringens toksin tiplerinin neden olduđu klinik tablolar

Toksin Tipi	Konakçı	Hastalık
A	İnsan	Gazlı gangren, gıda kaynaklı tablolar, ishal
	Kuzu, sığır, keçi at, köpek, diğ er	Enterotoksemi
	Kanatlı	Nekrotk enterit
	At	İntesitinal infeksiyonlar
	Primatlar, insan ve çeş itli hayvanlar	Akut gastrik dilatasyon
B	Kuzu	Dizanteri
	Koyun, keçi, kobay	Enterotoksemi
C	İnsan	Darmbrand ve pig-bel
	Koyunlarda	Struck
	Kuzu ve domuzlarda	Enterotoksemi
	Kanatlılarda	Nekrotik enterit
D	Koyun	Enterotoksemi
	Kuzu	Yumuş ak böbrek hastalığı
E	Buzağı, domuz	Enteroksemi
	Kuzu	Dizanteri
	Tavş an	Enteritis

Epidemiyoloji

- Klostridial infeksiyonlar,
 - dışarıdan sindirim yolu ile
 - yara infeksiyonu
 - endojen kaynaklı oluşabilir

Tetanoz

- Akut seyirli öldürücü bir intoksikasyon
- İnsan, at, ruminant
- Genel olarak toprakta bulunur. Japonya, Kanada Brezilya ve ABD' de yapılan çalışmalarda %30-42 oranında izole edilmiştir
- İnfeksiyon, toprakta veya dışkıda bulunan sporların bütünlüğü bozulmuş dokudan girmesi ile oluşur
- Neonatal seyir genellikle çok ciddi seyreder ve oldukça öldürücüdür

Botulismus

- C.botulinum
- Ciddi seyirli ve öldürücü potansiyele sahip
- C.botulinum tip C ve D evcil hayvanlarda görülen botulizm vakalarında en sık rastlanan tiplerdir
- Hastalık, genel olarak su kuşları, sığır, at, koyun, mink, tavuk ve çiftlik balıklarında görülür
- Botulizm,
 - meralara saçılan veya altlık olarak kullanılan silolanmış kanatlı altlıklarının yenilmesi
 - kötü kaliteli balya sap, silaj veya rodent karkası içeren yemlerin tüketilmesiyle oluşabilir

- Botulizm, hayvanlarda farklı şekillerde ortaya çıkmaktadır
 - gıda kaynaklı oluşan formudur
 - yaralardan etkenin girmesi ve bu bölgede üremesi
- Ayrıca daha sıklıkla yeni doğanlarda ve erişkinlerde etkenin bağırsaklarda kolonizasyonu ve oluşan toksinin bağırsaklardan emilmesi sonrasında oluşan toksiko-infeksiyöz botulizm de görülmektedir

Yanıkara

- C. chauvoei
- Koyun ve sığırlarda akut seyirli ve tüm dünyada yaygın
- Hastalık en çok yaz ve sonbahar aylarında görülür
- Hastalık;
 - yem ve su ile sindirim yolundan
 - ağızdaki ve doğum esnasında oluşan yaralardan
 - koyunlarda kırkım, kastrasyon, koç yaralanması gibi durumlarda ortaya çıkar
 - Hangi yolla alınırsa alınsın etkenin kaslara ulaşması gerekir

- Sığırlarda, hastalık sıklıkla 3 aylık ile 2 yıl yaşındaki hayvanlarda görülür. Hastalık benzer yaş grubundaki koyunları da etkiler
- Koyunlarda infeksiyon daha çok deri yaralanmaları ile ekzojen kaynaklıdır
- Hem sığırlarda hem de koyunlarda, kaslarda üreyen bakteriler tarafından oluşturulan ekzotoksinler, gengrenöz selülitise ve myositis neden olur ve genellikle kısa sürede ölüm ortaya çıkar
- Myokardial ve diaframatik lezyonlar, ön bir bulgu olmadan ani ölümlere neden olabilir

Malignant Ödem ve Gazlı Gangren

- C.septicum → Malignant ödem
- C.perfringens tip A → Gazlı gangren
- İlave olarak C.novyi tip A, C.chauvoei ve C.sordellii
- Malignant ödem (bradzot) ve gazlı gangren, yumuşak dokularda oluşan nekrozla karakterize bir infeksiyonudur
- Malignant ödem genç koyunlarda, abomasum mukozasında yangı ile karakterize akut seyirli toksemik ve öldürücü bir hastalıktır.

- C.septicum doğada oldukça yaygın
- Toprakta ve sindirim sisteminde bulunurlar
- Hastalık sonbahar aylarında ve özellikle karbonhidrat yönünden yüksek rasyonla beslenenlerde daha sık ortaya çıkar
- Etkenin sindirim sistem yolu ile alınması sonrasında şekillenen bradzot, etkenin abomasum yangısına ve toksemi sonrasında ani ölüm görülür
- Etken deride oluşan yaralanmalardan vücuda girerse malignant ödem oluşur
- Gazlı gangren hasarlı kas dokusunda yaygın bakteriyel invazyon ile karakterizedir

İnfeksiyöz Nekrotik Hepatit

- C.novyi Tip B (C.oedematiens)
- İnfeksiyöz nekrotik hepatit, koyunlarda karaciğer nekrozları ile karakterize akut seyirli toksemik bir infeksiyondur
- Bu mikroorganizmalar oluşturdukları toksin tiplerine göre A, B ve C olmak üzere 3 grupta incelenmektedir
- Daha önceki yıllarda Tip D olarak tanımlanan suşlar, C.haemoliticum olarak isimlendirilmiştir
- C.novyi çevrede ve bağırsaklarda yaygın olarak bulunan etkenler arasındadır.
- Bu etken iki farklı tabloda hastalık oluşturur. Birincisi koyun ve sığırlarda **infeksiyöz nekrotik hepatit** ve ikincisi koyunlarda **büyük baş hastalığı**dır

- İnfeksiyöz nekrotik hepatitiste, sindirim yolu ile alınan etkenlerin karaciğere ulaşması ve üreme sonrasında oluşan toksinlerin oluşturduğu lezyonlar dikkati çeker
- Karaciğer parazitlerinin etkisiyle oluşan karaciğer hasarı, C.novyi' nin üremesi için uygun bir ortam sağlamaktadır. Bu formda herhangi bir klinik belirti ortaya çıkmadan hayvanlarda ani ölüm görülür
- Koyunlarda büyük baş hastalığı olarak tanımlanan klinik formda, özellikle başta şekillenen yaralanmalardan bölgeye giren etkenin üremesi ve toksinleri sonrasında oluşan ödem dikkat çeker

İnfeksiyöz İkterohemoglobinüri

- C.haemolyticum
- Bu hastalık, koyun, sığır başta olmak üzere keçi ve domuzlarda da görülebilen yüksek ateş, hemoglobinüri ve ikter ile karakterize bir hastalıktır
- Etkenin beta toksini (lesitinaz) patogeneizde oldukça önemlidir ve vegetatif bakteriler tarafından oluşturulur
- Bu toksin hem karaciğerde nekroz oluşturur hem de damarlarda kan hücrelerinin hemolizine neden olmaktadır

- Hastalık daha çok yaz ve sonbahar aylarında görülür ve sindirim yolu ile alınan etken kan yolu ile karaciğere ulaşır
- Karaciğere yerleşen parazitler ile hastalığın çıkışı arasında bir ilişki vardır
- Etkilen hayvanlarda yüksek ateş, durgunluk, dışkı kan ve idrarda kırmızı renk dikkati çeker
- Mukoz membranlarda sarılık görülür ve gebe hayvanlarda yavru atma görülür
- Mortalite yüksektir ve %90-95' e kadar çıkar

C. sordellii infeksiyonu

- Malignant ödem
- Sığırlarda ve genellikle genç koyunlarda (4-10 haftalık yaşta) abomasumda gaz ve ülserlerle karakterize tablolardan ve ani ölümlerle seyreden vakalardan izole edilmektedir

Enterotoksemi

- *C. perfringens*
- Klostridial enterotoksemiler, koyun, kuzu, dana, domuz yavruları ve ender olarak tayı etkileyen akut seyirli ve yüksek düzeyde öldürücü intoksikasyonlardır
- Hayvanlarda bu hastalıklara *C. perfringens* tip B, C ve D ender olarak da tip A ve E' nin ekzotoksinleri neden olur
- Toksin oluşturma özellikle dikkate alınarak yapılan tiplendirmeye göre beş tipi (A-E) bulunmaktadır

C.perfringens toksinleri

- **Letal (majör) toksinler**

- alfa toksin, C.perfringens tip A, B, C, D ve E
- iota sadece tip E
- beta toksin Tip B ve C
- epsilon tip B ve D tarafından sentezlenmektedir.

- **Patojenite ile ilgili diğer (minör) toksinler**

- teta (hemolizin), kapa (kolegenaz), mu (hyalurinidaz) ve nu (DNAse) doku hasarı ile ilişkilidir.

- **Enterotoksin**

- Tip A, C ve D de bulunmaktadır

C.perfringens toksinleri

C.perfringens	Alfa toksin	Beta toksin	Epsilon toksin	Iota toksin	Enterotoksin
Tip A	+	-	-	-	+
Tip B	+	+	+	-	-
Tip C	+	+	-	-	+
Tip D	+	-	+	-	+
Tip E	+	-	-	+	-

Enterotoksemi

- **Alfa toksin**
 - Bu bir lesitinazdır (fosfolipaz), hücre membranlarına etki ederek hücre ölümüne ve yıkımlanmasına neden olur
 - Alfa toksin tüm tipler tarafından sentezlenir

- **Beta toksin**

- Letal özellik taşır ve nekroza neden olur
- Çevresel koşullara oldukça duyarlıdır ve tripsinle etkisini kaybeder
- *C.perfringens* Tip B ve Tip C' nin hastalık oluşturmada en önemli toksindir
- Beta toksin özellikle tip B nedenli enterotoksemilerde en önemli faktördür ve bu tipte görülen enterotoksimeler özellikle yeni doğanlarda hastalık oluşturmaktadır
- Bu son durum, yeni doğanların antitripsin faktör içeren kolostrumla beslenmesi ile açıklanmaktadır

- **Epsilon toksin**

- Enterotoksin ve nörotoksin
- Tripsin gibi bir proteaz tarafından bağırsaklarda aktif forma dönüşür
- Bağırsak permeabilitesini artırır ve tüm kan damarlarının endotelinde hasara neden olur
- C.perfringens Tip D tarafından sentezlenen epsilon toksini etkisi ile oluşan yumuşak böbrek hastalığı, neonatal kuzularda genellikle görülmez. Bunun nedeni, bu toksinin tripsinle aktive olması ve kolostrumun antitripsin özelliği ile açıklanmaktadır

- **lota toksin**

- Bu toksinde protoksin olarak salınır ve C.perfiringens tip E ve diğer türlerden C.spiroforme ve C.difficile tarafından da salınır.
- Bu toksinin etkisi tam olarak anlaşılamamıştır

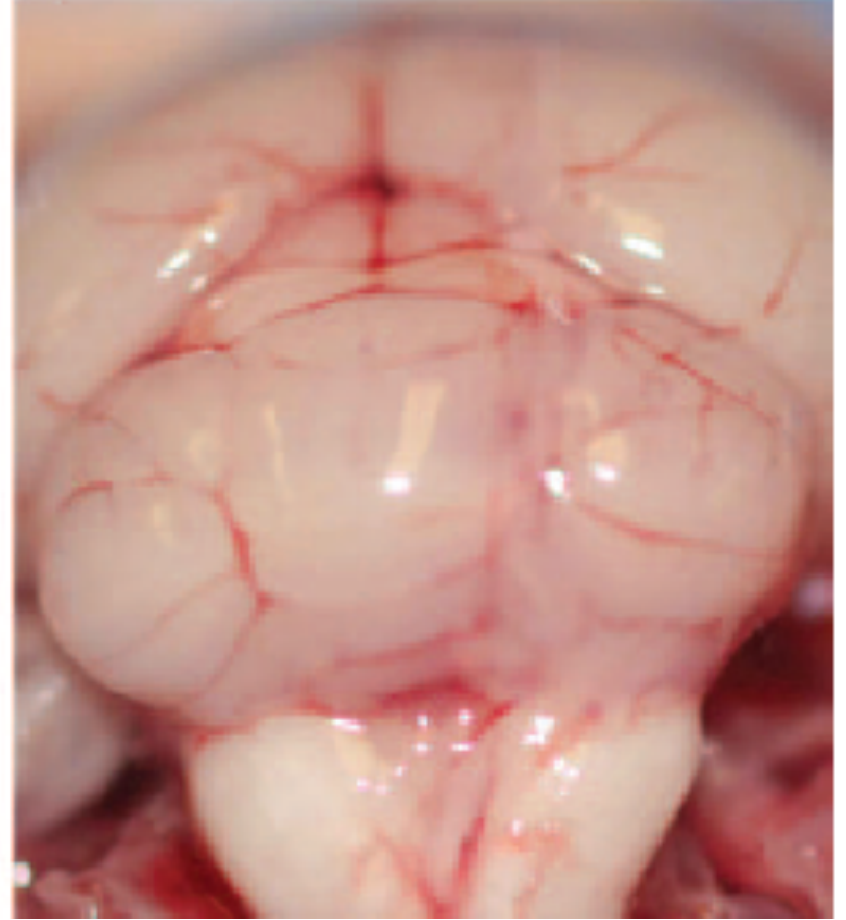
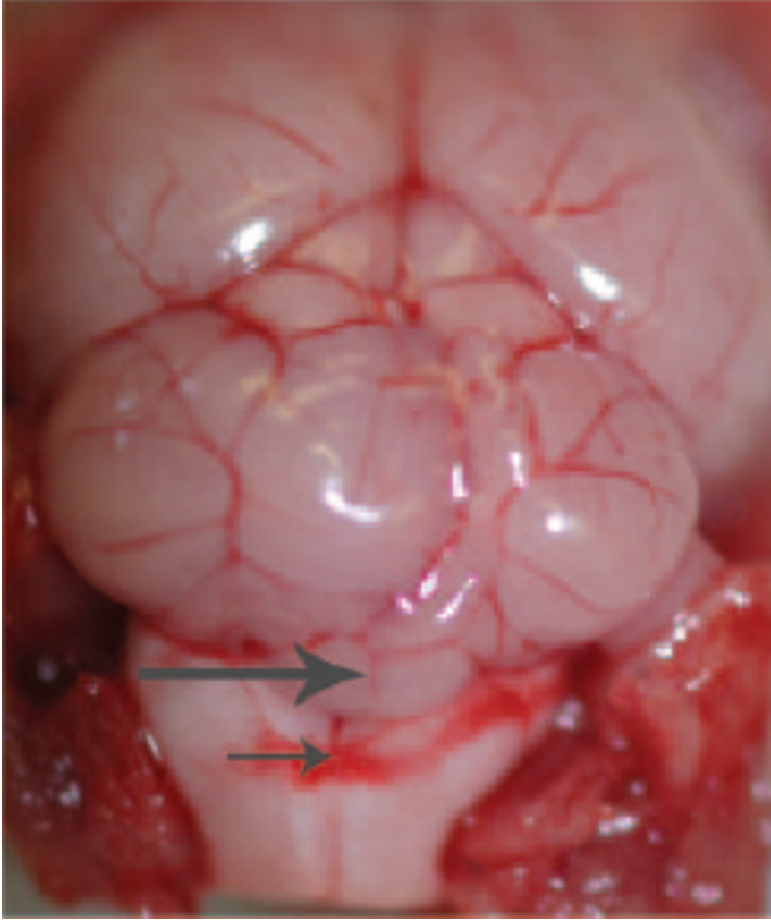
- *C.perfringens* toprakta oldukça yaygın bulunan patojenik bir bakteridir
- Ayrıca, insan ve hayvanların bağırsaklarında bulunur.
- Tip B ve E, bağırsaklarda yaşamaya daha iyi adapte olmuşlardır
- Bakterinin vegetatif formları çevresel koşullara duyarlı iken, sporları birkaç ay canlılığı sürdürmektedirler

- Kötü yetiştirme koşulları ve çevresel faktörler, hayvanlarda enterotoksemi vakalarının artmasına neden olur
- Bu faktörler arasında yemlemede ani değişiklikler yapılması (genellikle zengin diyetlere geçişte), fazla yedirme, oburluk, yüksek protein ve enerji zengin diyetlerle besleme sayılabilir
- Yukarıda sayılan faktörler, bağırsaklarda peristaltığın azalmasına ve karbonhidratların yetersiz sindirimi sonucunda *C.perfringens*' in aşırı üremesi için uygun bir ortam sağlar
- Normal olarak hayvanların kalın bağırsaklarında florada bulunan *C.perfringens*' in aşırı üremesi sonrasında fazla miktarda sentezlenen toksinlerin ince bağırsaklara ulaşması ve buradan emilmesi sonrasında enterotoksemi şekillenir

- C.perfringens nedenli klinik tablolar hayvanlarda özellikle Tip B, Tip C ve tip D tarafından oluşturulur.
- Tip B tarafından oluşturulan kuzu dizanterisi, erken yaşlarda özellikle de kolostrum alan ilk haftalardaki hayvanlarda aniden başlayan ölümlerle karakterizedir. Hastalıkta mortalite %30' lara kadar ulaşır ve dünyada belirli bölgelerde daha sık görülür.
- C.perfringens tip C ile oluşan infeksiyon, koyunlarda struck olarak tanımlanır ve akut seyirli bir enterotoksemidir.
- Yetişkin koyunlarda görülür ve belirli coğrafyalarda dominanttır.
- Bu tabloda da ilave bir bulgu olmaksızın aniden görülen ölümler

- Yumuşak böbrek hastalığı, Tip D tarafından oluşturulur ve tüm dünyada oldukça yaygın görülen bir infeksiyondur
- Aşırı beslenen koyunlarda daha fazla görülür ve özellikle yüksek nişasta konsantrasyonu bu hastalık için hazırlayıcı faktörler arasındadır
- Etkilenen hayvanlar, 3-12 haftalık yaşta ve kuzuların ani ölümü dikkati çeker. Dikkatli yapılan gözlemlerde, hayvanlarda durgunluk, opistotonus ve kasılmalar görülür
- Hastalıktan etkilenen daha büyük yaşta koyunlarda hastalık birkaç gün sürer ve hayvanlarda ishal ve dengesizlik görülür

Yumuşak böbrek hastalığında beyinde kanama



Kontrol

Teşhis

- Klinik ve nekropsi
- İzolasyon ve identifikasyon
 - Etkilenen dokulardan doku örnekleri, iç organlar ve bağırsak içeri alınmalıdır.
 - Histotoksik klostridial infeksiyonların erken teşhisinde FAT önemli avantajlar sağlamaktadır. Ticari olarak florescein işaretli spesifik konjugatlar, *C.chouvei*, *C.septicum*, *C.novyi*, *C.sordellii* için kullanılmaktadır.
 - Materyaller ölü hayvanlardan alınmışsa, bağırsaklarda normal florada bulunan ve kolay üreyebilen *C.perfringens* tip A ve *C.septicum* izolasyonu dikkatle değerlendirilmelidir.

- Deneme hayvanına inokulasyon
 - İzolasyon
 - Toksin varlığını saptamak
 - Toksin nötralizasyon testleri
- Seroloji
- Moleküler teknikler



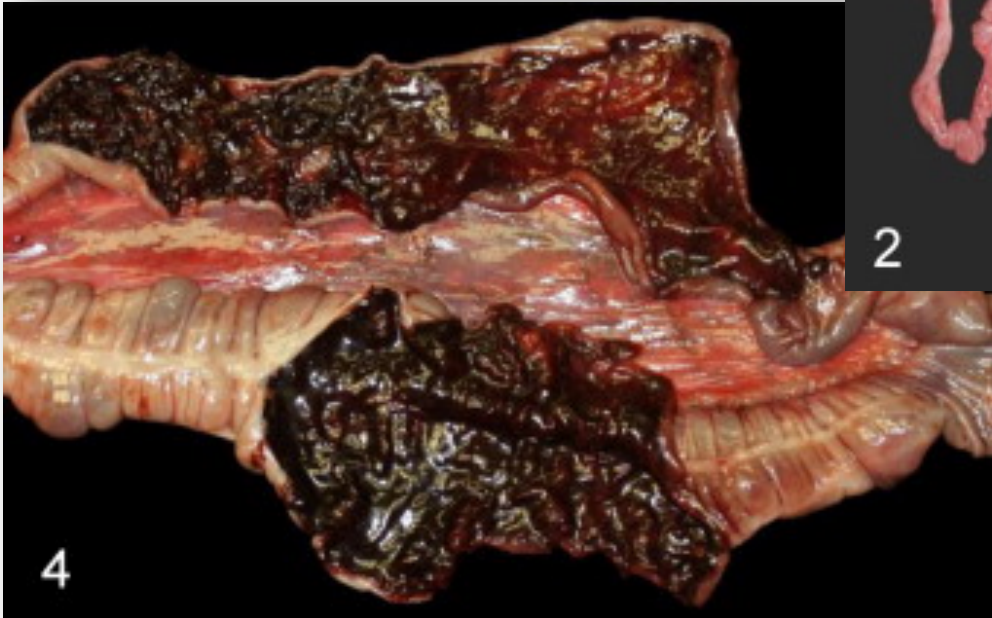
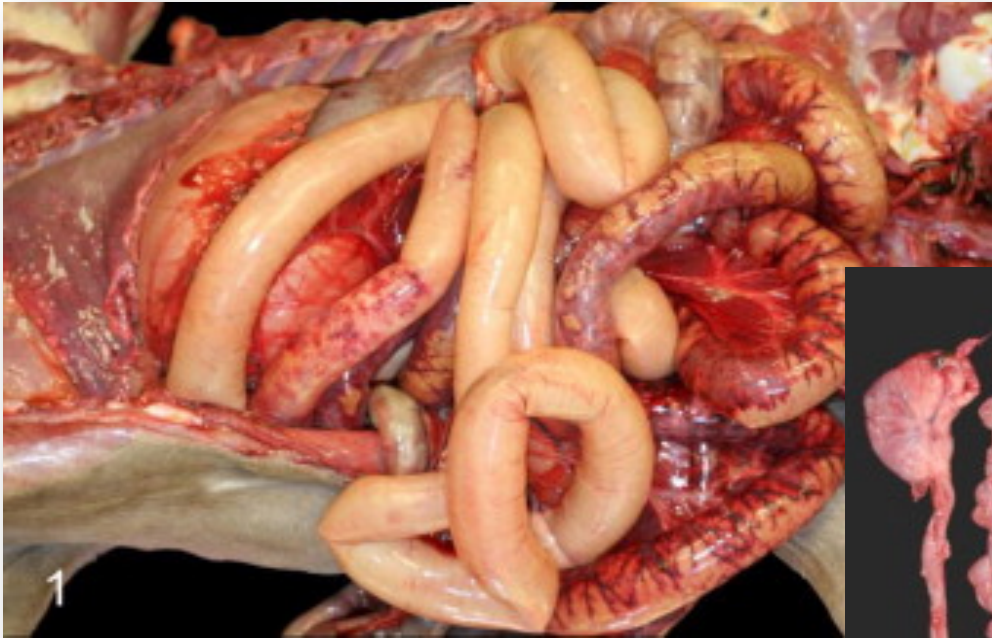












Laboratuvar Muayenesi

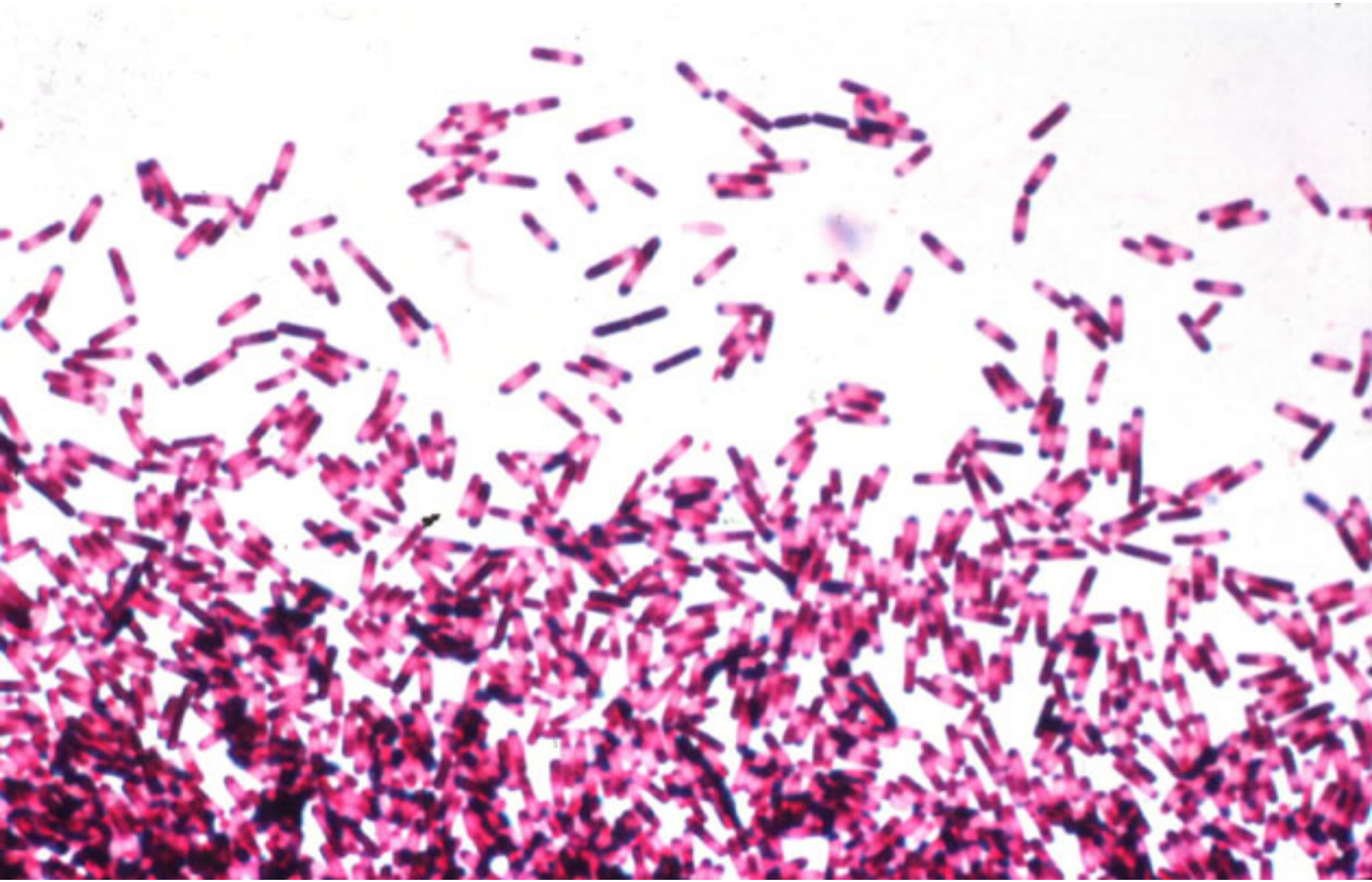
- Etkenler anaerob oldukları için çevreye duyarlıdırlar
- Bu yüzden örnekler canlı veya yeni ölmüş hayvanlardan alınmalıdır
- Aksi takdirde florada bulunan etkenler (*C. perfringens*, *C. septicum*) sonuçları yanıltır

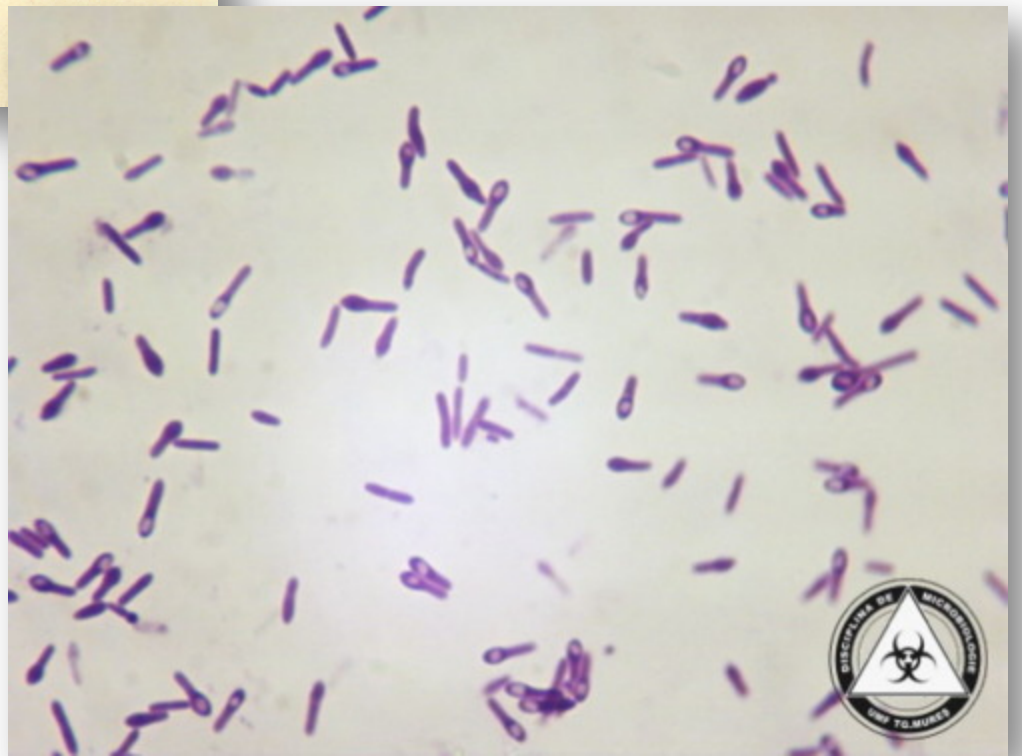
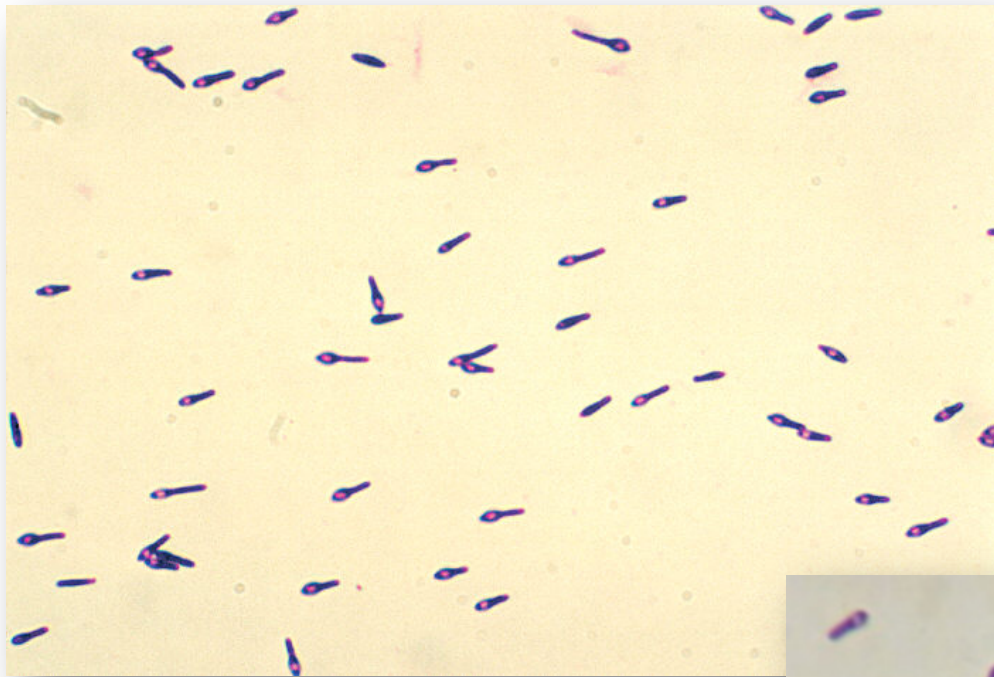
- Örnekler anaerobik taşıyıcı ortamlara alınmalı ve laboratuvarda hemen ekim işlemleri yapılmalıdır
- Örnek olarak; etkilenen dokular, iç organlar ve barsak içeriği alınmalıdır

- Bakteriyoskopi
- Alınan materyalden boyamalar yapılır
- Gram pozitif, sporlu çomakların görülmesi şüphe ettirir



Clostridium chauvoei

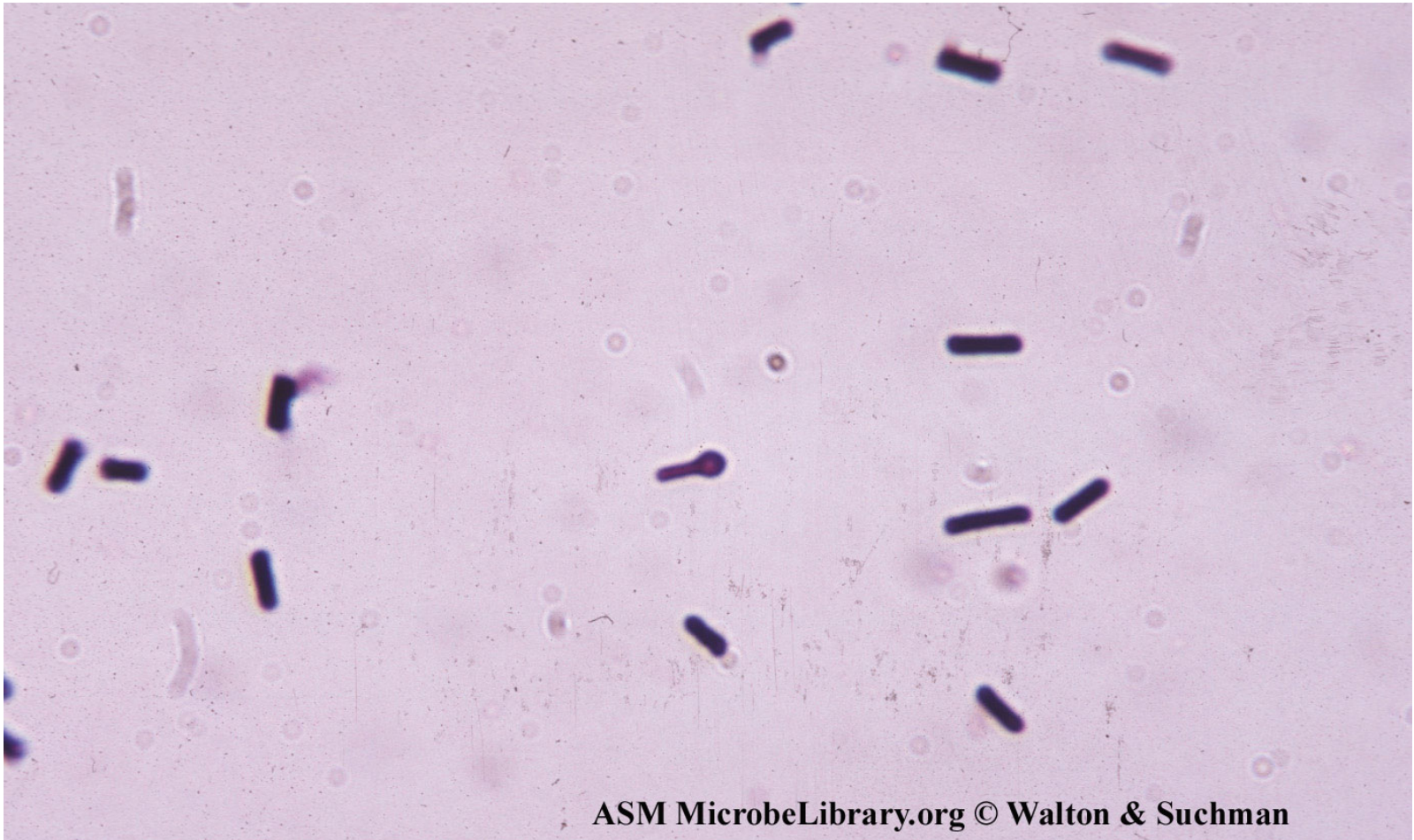




C. botulinum



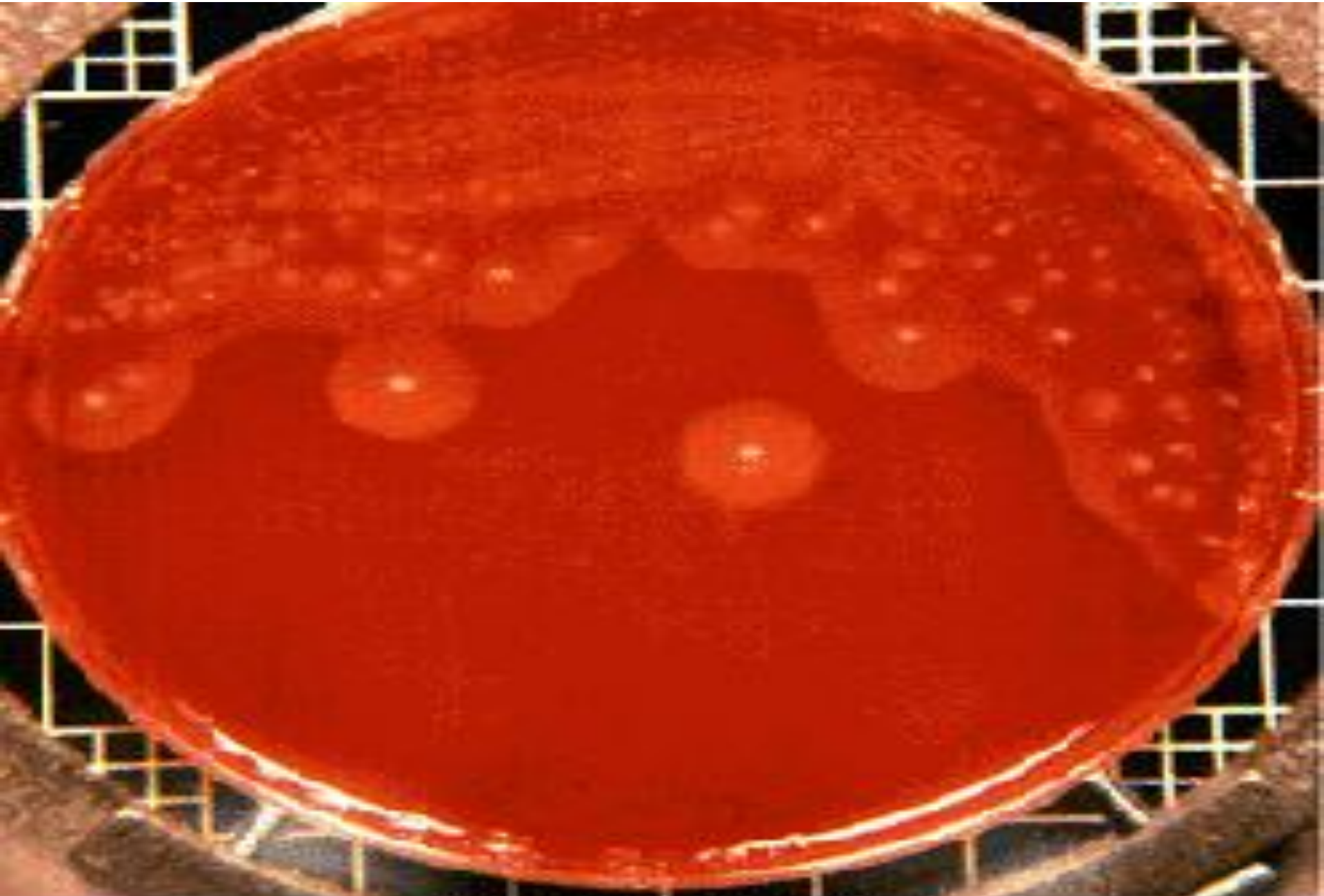
C. tetani



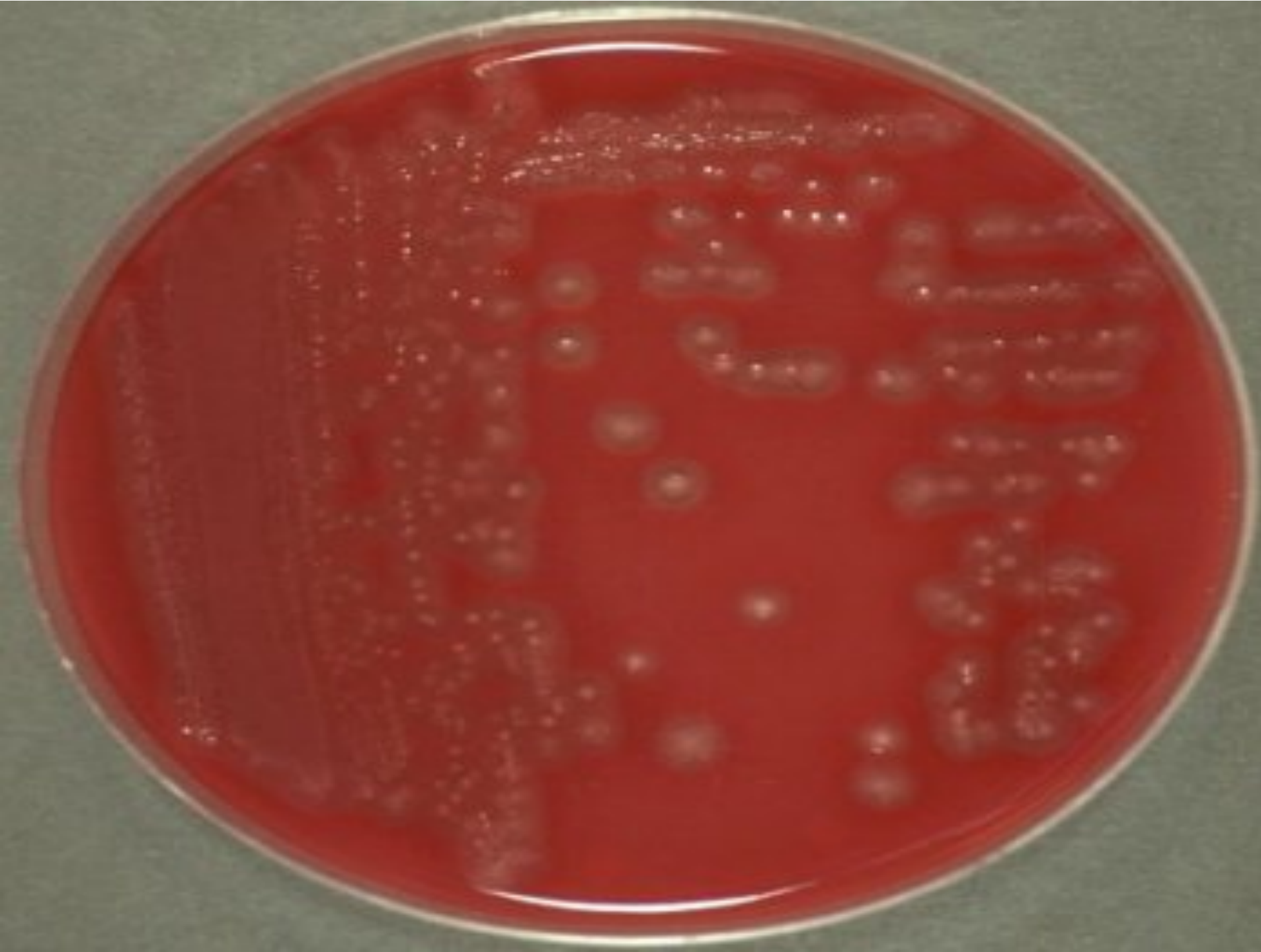
ASM MicrobeLibrary.org © Walton & Suchman

Kültür

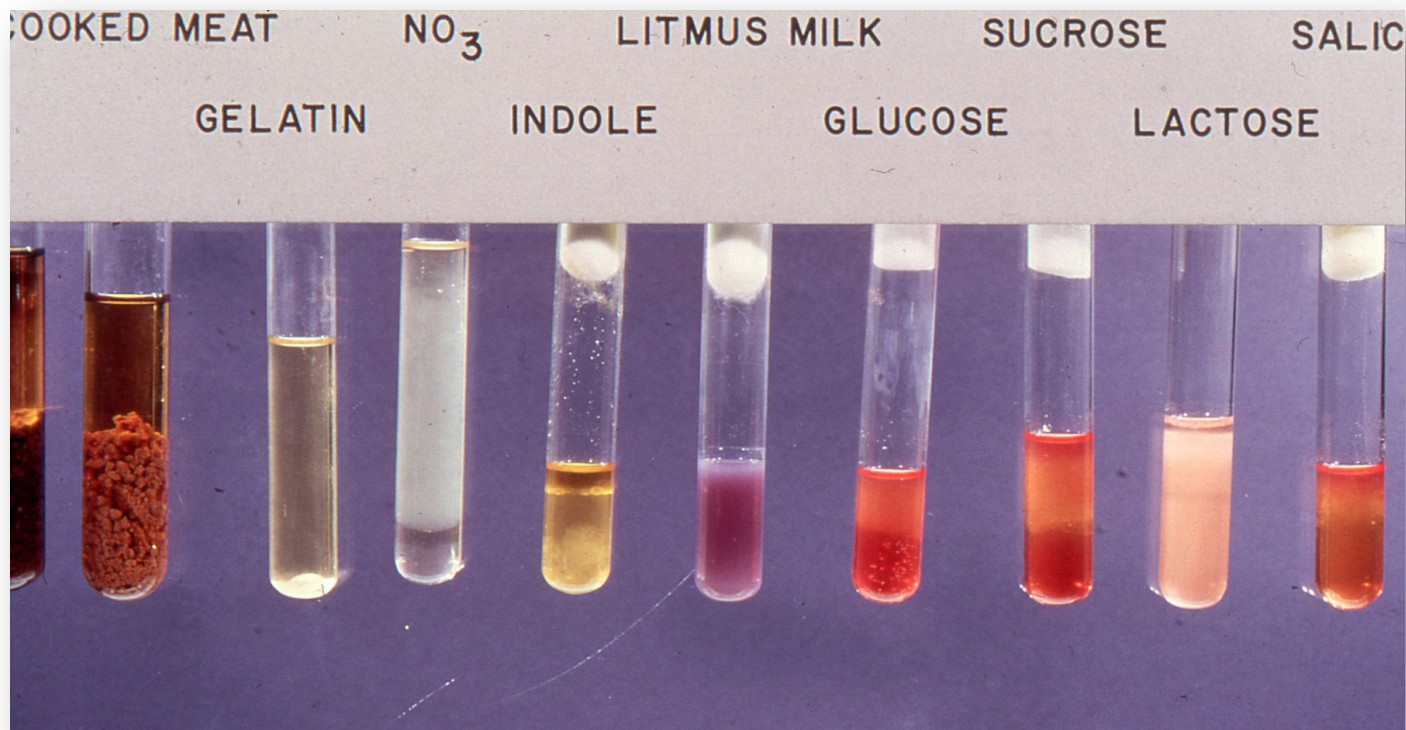
- Taze hazırlanan kanlı agar, thioglikolat ve pişmiş et medium sıklıkla kullanılan ortamlardır
- Vitamin K ve maya özeti üremeyi kolaylaştırır
- Anaerob ortamda inkübe edilirler



Clostridium perfringens
Sheep blood trypticase soy (STSA) agar



- Biyokimyasal Test olarak katalaz ve oksidaz negatiftirler
- Fermentatif özelliktedirler



Hayvan Deneyi

- Toksin varlığı ve izolasyon amaçlı yapılır
- 5-10 g materyal 10 ml FTS ile süspanse edilir ve santrifüj yapılır. Üst sıvı 1 ml olacak şekilde farenin bacak kasına inoküle edilir. Farede şekillenen ölümlü takiben iç organlardan izolasyon ve identifikasyon yapılır

Toksin Nötralizasyon Testi

- Toksin varlığı saptandıktan sonra farelere inokule edilen toksin içeren süspansiyon, her bir ticari antitoksinle (öz. enterotoksmilerde C. perfringens A- E antitoksinleri) karıştırılarak farelere İV ya da İD olarak verilir. Ölmeyen antitoksin grubu barsak içeriğinde bulunan toksin tipini gösterir

Saęaltım

- Enterotoksemilerde, vakalar akut seyirli olduğundan tedavi şansı oldukça düşüktür
- Histotoksik klostridiaların neden olduğu infeksiyonlarda özellikle gazlı gangren ve basiller hemoglobüride, penisilin ve geniş spektrumlu antibiyotikler erken dönemde kullanılması tedavide etkindirler
- Yanıkara görülen bir sürüde, tüm sığırlar antibiyotik ile tedavi edilmesi yararlı sonuçlar vermektedir
- Tetanozda yüksek dozda penisilin veya geniş spektrumlu antibiyotiklerin ve antitoksin verilmesi ile semptomatik tedavisi; botulismusta antitoksin verilmesi yararlıdır

Koruma ve Kontrol

- Maternal bağışıklık
 - Doğumdan 2-12 hafta süreyle
- Aşılar
 - İnaktif aşılar (toksoid, anakültür)

- Çiftlik hayvanlarında tetanozun kontrolünde toksoid aşılar kullanılır. Tek doz olarak uygulanır
- Yaralanmalarda yaranın temizlenmesi ve antiseptikle yıkanması yararlı olur. Yaralanan hayvan aşılanmışsa antitoksin uygulanır. 3 hafta süreyle korur

- Histotoksik ve enterotoksik Clostridiumlar için aşılamalar koruma ve kontrolde vazgeçilmez bir işlemdir
- Sahada kombine aşilar kullanılmaktadır. İlk doz 3-4 aylık hayvanlara yapılır ve 3-4 hafta sonra tekrarlanır. her yıl tekrarlanması koruma için yeterli olmaktadır
- Gebe hayvanlara doğumdan bir ay önce aşı yapılması yeni doğanları maternal bağışıklıkla korumada etkindir

Aşılama programı

- İşletmedeki hastalıkların belirlenmesi
- Clostridial infeksiyonların izlenmesi
- İşletmedeki bakım-idare koşulları
- İlk aşılama zamanının belirlenmesi
- İkinci aşılama
- Tekrar aşılamalar