

ПАТОГЕННІ АНАЕРОБИ

РОДУ *CLOSTRIDIUM*

***Методичні вказівки з дисципліни
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
спеціальності «Медицина»,
«Педіатрія» і «Стоматологія»
освітньо-кваліфікаційного рівня – «Магістр»***

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

ПАТОГЕННІ АНАЕРОБИ
РОДУ *CLOSTRIDIUM*

Методичні вказівки з дисципліни
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія»
для студентів II–III курсів
спеціальності «Медицина»,
«Педіатрія» і «Стоматологія»
освітньо-кваліфікаційного рівня – «Магістр»

Затверджено
Вченою радою ХНМУ.
Протокол № 14. від 16.12.2021.

Харків
ХНМУ
2021

Мета: вивчення лабораторної діагностики інфекцій, спричинених патогенними клостридіями.

Цілі:

1. Вивчити біологічні властивості та класифікацію клостридій.
2. Дослідити патогенез та клінічну картину правця, ботулізму, газової гангрені і харчового отруєння, спричиненого *C. perfringens*.
3. Оволодіти методами лабораторної діагностики клостридійних інфекцій.
4. Розглянути методи специфічної профілактики і терапії правця та ботулізму.

Студенти повинні вміти:

1. Диференціювати патогенні клостридії за біохімічними та антигенними властивостями.
2. Виділяти чисті культури клостридій, досліджувати ріст клостридій на середовищі Кітта-Тароцці та кров'яному агарі.
3. Визначати ізольовану чисту культуру клостридій за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями та антигенною структурою.
4. Проводити тест нейтралізації для діагностики правця та ботулізму.

Обладнання: предметне скло, бактеріальні петлі, імерсійний мікроскоп, посіви клостридій на середовищі Кітта-Тароцці та кров'яному агарі, анаеробна банка, основні барвники, біологічні препарати для лабораторної діагностики, зразки специфічної профілактики та терапії анаеробної інфекції, таблиці, атлас.

Термінологія: клостридії, *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. novyi*, імерсійний мікроскоп, фарбування за Грамом, середовища Вільсона-Блера і Кітта-Тароцці, анаеростат.

Загальна характеристика клостридій

Клостридії – грампозитивні, спороутворюючі, анаеробні бацили, широко розповсюджені в ґрунті, ґрунті, на рослинності. Вони є нормальною мікрофлорою в шлунково-кишковому тракті ссавців. Патогенні види продукують екзотоксини, які є руйнівними для тканин і нервів, сприяють маніфестації захворювання.

Клостридії можуть стати патогенними в умовах нестачі кисню при низькому показнику рН, що відбувається в ішемічних, позбавлених життєдіяльності тканинах при важкій травмі або первинній артеріальній недостатності. Захворювання може стати наслідком ін'єкції наркотичних засобів, придбаних нелегально. Також можливі харчові отруєння внаслідок вживання домашніх консервованих продуктів, у яких клостридії продукували токсини.

Найпоширенішим проявом клостридіальної інфекції є легкий гастроентерит, обумовлений *C. perfringens* типу А. Серйозні клостридіальні захворювання є відносно рідкісними, але можуть бути фатальними. Некроз

м'язів і інфекція м'яких тканин, які проявляються кріплючим целюлітом, міозитом і клостридіальним міонекрозом, можуть бути викликані *C. perfringens*.

Клостридії можуть бути компонентами змішаної флори при загальних ранових інфекціях. Ризик розвитку в лікарні клостридіальної інфекції мають пацієнти після операції і з ослабленим імунітетом. Важкий клостридіальний сепсис може ускладнити кишкову перфорацію і непрохідність.

Для культивування облигатних анаеробів використовують анаеробну банку (рис. 1). Це скляна або пластикова ємність середнього розміру з кришкою, яка щільно закривається, містить покриті паладієм частинки глинозему, які є каталізатором. Анаеробіоз можна встановити двома методами. Найпростіше використовувати комерційний конверт генератора водню та вуглекислого газу (GasPak), який поміщають у банку разом із культуральними пластинами. Генератор активується водою. Кисень всередині банки та утворений водень перетворюються на воду у присутності каталізатора, створюючи таким чином анаеробні умови. Вуглекислий газ, який також утворюється, необхідний для росту одних анаеробів і стимулює ріст інших. Альтернативний метод досягнення анаеробіозу в банці складається з евакуації та заміни повітря. Його евакуують із герметичної посудини, що містить культуральні пластини, і замінюють безкисневою сумішшю 80 % азоту, 10 % водню та 10 % вуглекислого газу. Обсяг анаеробної банки 2,5 л, до комплекту входить штатив для 12 стандартних чашок Петрі 90 мм у діаметрі.



Рис. 1. Анаеробна банка та газогенеруючі анаеробні пакети GasPak для контейнерів

Правець

Правець – це гостре захворювання, яке проявляється спазмом скелетних м'язів та порушенням вегетативної нервової системи. Спричиняє його потужний нейротоксин, що виробляється бактерією *Clostridium tetani* (*C. tetani*). Ця бактерія зустрічається в усьому світі, зазвичай правець трапляється там, де рівень охоплення щепленнями низький. Встановлений правець – це важке захворювання з високим рівнем смертності, однак рід-

кісне у розвинених країнах світу. Більшість випадків фіксується у неповнощеплених або невакцинованих осіб.

Особи старше 60 років мають більший ризик розвитку правця, оскільки рівень антитіл зменшується з віком. Людей, які вживають ін'єкційні наркотики, особливо тих, які вводять героїн підшкірно («шкірне випадання шкіри»), все частіше визнають групою високого ризику.

Морфологічні та тинкторіальні властивості. *C. tetani* – облигатна анаеробна, грампозитивна, спороутворююча паличкоподібна бактерія, спори якої відрізняються високою стійкістю і можуть легко виживати в навколишньому середовищі. Вона має розміри $3\text{--}12 \times 0,3\text{--}0,6$ мк, рухома за допомогою кількох джгутиків (перитрих). Утворює овальні ендоспори, що перевищують діаметр клітини в 2–3 рази, розташовані термінально (характерна морфологія типу «барабанних паличок») (рис. 2). Спори стійкі до кипіння і багатьох дезінфікуючих засобів. Крім того, спори та палички *C. tetani* виживають у кишечнику багатьох тварин, а фекальний носій є загальним явищем. Спори або бактерії потрапляють в організм через садна, рани або (у новонароджених) куску пупка.

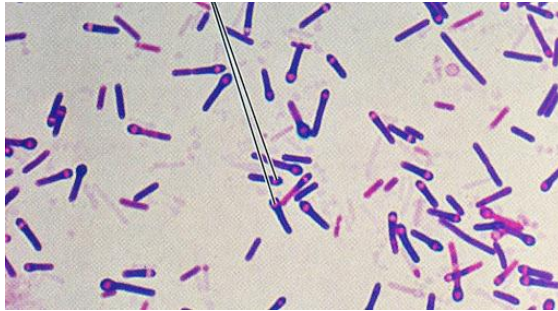


Рис. 2. Морфологія *Clostridium tetani*.

Культуральні властивості. *C. tetani* – облигатний анаероб, хемоорганогетеротроф. Для вирощування мікроорганізмів на живильних середовищах потрібно забезпечити анаеробні умови, оптимальну температуру $36\text{--}38$ °C, рН $7,4\text{--}7,6$. Так, на твердих живильних середовищах (МПА, желатин) з урахуванням анаеробних умов збудник правця росте дуже повільно. Спочатку з'являється сітка, яка утворюється зливними колоніями з відростками. На цукрово-кровоному агарі (рис. 3) виникають дрібні прозорі колонії з нерівними краями, які через деякий час утворюють скляний блиск. У напіврідкому агарі росте у вигляді прозорих чи сірувато-жовтих шорсткуватих чечевичок (R) або гладеньких пушинок зі щільним коричневим центром (S) колоній. У рідких живильних середовищах бактерія росте, утворюючи слабе помутніння і легкий шар пілоподібного осаду на стінках пробірки. При уколї в товщу щільного живильного середовища утворює

дрібні колонії, схожі на шматочки вати. Середовище Кітта-Тароцці внаслідок розщеплення білків мутніє з утворенням газу і своєрідного запаху при культивуванні клостридій, через деякий час воно просвітлюється і утворюється пухкий осад.

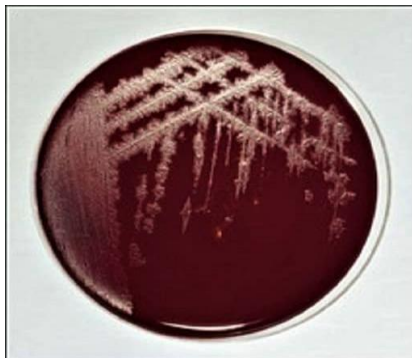


Рис. 3. Ріст *Clostridium tetani* на цукрово-кров'яному агарі

C. tetani росте на середовищі RCM (рис. 4) у вигляді помутніння з виділенням певної кількості газу, м'ясо чорніє при тривалій інкубації.

Ферментативні властивості. Не ферментує вуглеводів, розріджує желатин (на 5–12-у добу інкубації) з утворенням ялинкоподібного росту і газу. Не виробляє сірководень, не відновлює нітрати. MR (метилрот) і VP (Фогес-Проскауер) негативні, індол – позитивний. Якщо посіяти *C. tetani* на середовище Мак-Конкі (його колір нейтральний червоний), воно дасть зелену флюоресценцію.

Антигенні властивості. Відомі 10 сероварів клостридії правця, вони продукують однакові екзотоксини. Серовари I, III, VI, VII мають виражену специфічність. Рухливі штами містять H-антиген і O-антиген, а нерухомі – тільки O-антиген.

Фактори патогенності: *C. tetani* продукує кисневолабільний гемолізін (тетанолізін) та нейротоксин (тетаноспазмін). Деякі штами надзвичайно токсикогенні, більшість із них продукує токсин, який можна виявити під час культивування в бульйоні через кілька днів.

Тетанолізін володіє гемолітичними, кардіотоксичними і летальними властивостями, в патогенезі захворювання відіграє менш важливу роль, ніж тетаноспазмін, максимальне накопичення токсину в культурі спостерігається вже через 20–30 год.



Рис. 4. Ріст *Clostridium tetani* на RCM

Правцевий токсин – екзотоксин (тетаноспазмін) потрапляє в нервову систему та викликає захворювання. Дуже низькі концентрації цього сильнодіючого токсину можуть призвести до правця (мінімальна летальна доза для людини – 2,5 нг/кг). Правцевий токсин транспортується внутрішньо-аксонально до рухових ядер черепно-мозкових нервів або черевних рогів спинного мозку. Цей токсин виробляється у вигляді єдиного білка, який розщеплюється, утворюючи важкі і легкі ланцюги, пов'язані дисульфідними і нековалентними зв'язками. Карбоксильний кінець важкого ланцюга зв'язується з певними мембранними компонентами в пресинаптичних α -рухових нервових закінченнях. Дані свідчать про зв'язування як із полісіалогангліозидами, так і з мембранними білками. Це зв'язування призводить до інтерналізації токсину та його надходження до нервів. Потрапляючи всередину нейрона, токсин потрапляє в ретроградний транспортний шлях, завдяки чому він переноситься проксимально до тіла рухового нейрона, що є дуже специфічним процесом. Правцевий токсин перешкоджає вивільненню передавача і ефективно блокує гальмівний інтернейронний розряд. Результатом є нерегульована діяльність рухової нервової системи. Подібна активність у вегетативній системі пояснює характерні особливості спазму скелетних м'язів та порушення роботи вегетативної системи. Підвищений рівень циркулюючого катехоламіну при тяжкому правці пов'язаний із серцево-судинними ускладненнями.

Резистентність. Вегетативні форми *S. tetani* чутливі до температури 60–70 °С (гинуть протягом 30 хв) та до всіх застосовуваних дезінфектантів. Спори тривало зберігаються в ґрунті і на різних предметах, витримують кип'ятіння протягом 10–90 хв, 5 % розчин фенолу викликає їх загибель через 8–10 год, 1 % розчин формаліну – через 6 год. Під дією прямих сонячних променів спори гинуть на 3–5-у добу.

Епідеміологія. Збудник правця є нешкідливим мешканцем кишечника коней, корів, кіз, свиней, а також людей, інфікованість яких коливається від 5 до 40 %. Підвищений ризик захворіти мають особи, робота яких пов'язана з землею чи тваринами (працівники сільського господарства, конюхи, доярки, асенізатори та ін.). До групи ризику слід віднести також дітей дошкільного віку, які під час ігор у пісочницях безпосередньо контактують з ґрунтом. Поверхневі травми мають велику небезпеку розвитку правця. Особливо небезпечні колоті рани стоп, у яких дуже мала поверхня і при потраплянні ґрунту вони швидко «затягуються», утворюючи анаеробні умови для розвитку і поширенню збудника правця.

Джерелом збудника інфекції є кишечник теплокровних тварин і ґрунт. Основний шлях передачі інфекції – контактний, через пошкоджені покриви і слизові оболонки. Правець не є контагіозним захворюванням, вражає не тільки людей, але і тварин. При цьому ні хвора людина, ні хвора тварина не є джерелами інфекції.

Патогенез. Викликати правець можуть тільки ті бактерії *C. tetani*, які продукують правцевий токсин (тетаноспазмін). Він тісно пов'язаний із ботулінічними токсинами за структурою і способом дії, проте на відміну від них має ретроградний транспорт в центральну нервову систему (ЦНС) і таким чином виробляє клінічні ефекти, які відрізняються від тих, що викликаються ботулінічними токсинами.

Правцевий токсин транспортується внутрішньоаксонально до рухових ядер черепно-мозкових нервів або черевних рогів спинного мозку. Цей токсин виробляється у вигляді єдиного білка 150 кілодальтонів (кДа), який розщеплюється, утворюючи важкі (100 кДа) і легкі (50 кДа) ланцюги, пов'язані дисульфідними і нековалентними зв'язками. Карбоксильний кінець важкого ланцюга зв'язується з певними мембранними компонентами в пресинаптичних α -рухових нервових закінченнях; дані свідчать про зв'язування як з полісіалогангліозидами, так і з мембранними білками. Це зв'язування призводить до інтерналізації токсину та сприяє його надходженню до нервів. Потрапляючи всередину нейрона, токсин рухається ретроградним транспортним шляхом, завдяки чому переноситься проксимально до тіла рухового нейрона, що є дуже специфічним процесом.

Наступна стадія менш чітко зрозуміла, але включає гальмування нейромедіаторів (гліцин, пресинаптичний ГАМК). Таким чином, правцевий токсин перешкоджає вивільненню передавача і ефективно блокує гальмівний інтернейронний розряд. Результатом є нерегульована діяльність рухової нервової системи. Подібна активність у вегетативній системі пояснює характерні особливості спазму скелетних м'язів та порушення роботи вегетативної системи. Підвищений рівень циркулюючого катехоламіну при тяжкому правці пов'язаний із серцево-судинними ускладненнями.

Порівняно мало відомо про процеси одужання, що може тривати кілька тижнів. Проростання периферичного нерва бере участь у відновленні від ботулізму, і подібне проростання ЦНС може відбуватися при правці. Інші дані свідчать про те, що деградація токсину є механізмом відновлення.

Клінічна картина. Клінічні прояви правця виникають лише після того, як правцевий токсин досягає пресинаптичних гальмівних нервів. Як тільки ці наслідки стануть очевидними, мало що впливатиме на прогресування захворювання.

Правець має широкий спектр клінічних ознак, які в основному поділяються на генералізовані (включаючи неонатальні) та місцеві. Звичайно при легкій формі місцевого правця уражаються лише поодинокі ділянки тіла і можуть виявлятися невеликі ділянки місцевого спазму м'язів. Якщо черепно-мозкові нерви залучені до локалізованого процесу правця, то глоткові або гортанні м'язи можуть спазмуватися, що призведе до аспірації або обструкції дихальних шляхів, а прогноз може бути поганим. При типовому прогресуванні генералізованого правця спочатку часто вражаються м'язи обличчя та щелепи, мабуть, через меншу відстань проходження ток-

сину по рухових нервах до пресинаптичних терміналів. Новонароджені зазвичай страждають від смоктання (рис. 5).



Рис. 5. Сардонічна посмішка, спазм м'язів при правці у новонародженого

Інкубаційний період (час від появи рани до першого симптому) та період початку (час від першого симптому до першого генералізованого спазму) мають особливе значення – чим коротший час, тим гірший результат. При правці у новонароджених – чим молодша дитина, коли з'являються симптоми, тим гірший прогноз.

Найпоширенішими початковими симптомами є тризм (локус), біль і скутість м'язів, біль у спині та утруднене ковтання (рис. 6). У ново народжених виникають труднощі з годуванням. У міру прогресування захворювання розвивається м'язовий спазм. Генералізований м'язовий спазм може бути дуже болючим. Зазвичай м'язи гортані втягуються і це небезпечно для життя, оскільки може виникнути повна непрохідність дихальних шляхів. Спазм дихальних м'язів призводить до дихальної недостатності. Без вентиляційної підтримки дихальна недостатність є найпоширенішою причиною смерті при правці.

Вегетативні порушення максимальні протягом другого тижня при важкому перебігу правця, основним ризиком є серцево-судинні порушення. Швидкі коливання артеріального тиску від високого до низького супроводжуються тахікардією. Також можуть виникати епізоди брадикардії та серцевої блокади. Спостерігається шлунково-кишковий застій, потовиділення, збільшення трахеального секрету та гостра ниркова недостатність.



Рис. 6. Тризм, дисфагія, ригідність потиличних м'язів при правці

Лабораторна діагностика. Діагноз правця оснований на клінічних даних. Під час проведення лабораторних досліджень не слід відкладати лікування. Висів *S. tetani* з рани є підтвердженням діагнозу. Можна спочатку визначити імуноглобулін G проти правця у сироватці крові у зразку, відібраному перед введенням антитоксину або імуноглобуліну. Рівні вище 0,1 МО/мл (використовується ІФА) вважаються захисними та не підтверджують діагноз. Якщо рівні нижче цього порогу, можна проводити біологічний аналіз на наявність сироваткового правцевого токсину, але негативний результат не виключає діагноз. Зазвичай рівень імуноглобуліну G не визначається. Полімеразна ланцюгова реакція також може бути використана для виявлення токсину правця, але її чутливість невідома.

Лікування. Не слід чекати результатів лабораторних досліджень. Необхідно нейтралізувати залишок незв'язаного токсину та підтримувати життєво важливі функції до тих пір, поки наслідки дії токсину не зникнуть. Для цього використовують інтратекальні методи введення антитоксину з метою нейтралізації токсину в ЦНС і обмеження прогресування захворювання.

Потрібно виявити при можливості вхідну рану, очистити її від некротичного матеріалу, щоб видалити анаеробні вогнища інфекції та запобігти подальшому виробленню токсину. Метронідазол (400 мг ректально або 500 мг внутрішньовенно кожні 6 год протягом 7 днів) є кращим для антибіотикотерапії. Альтернативою є пеніцилін (100 000–200 000 МО/кг на добу), хоча теоретично цей препарат може посилювати спазми, а в одному дослідженні це було пов'язано зі збільшенням смертності. Якщо не видалити кишені поточної інфекції, це може призвести до повторного або тривалого правця.

Антитоксин слід вводити спочатку, намагаючись дезактивувати будь-який циркулюючий токсин правця та запобігти його надходженню в нервову систему. Доступні два препарати: людський правцевий імунний глобулін (він рідше пов'язаний з анафілактоїдними реакціями) та антитоксин коней. Застосовують разову дозу препарату (3 000– 5 000 МО), порція вводиться навколо рани. Антитоксин коней широко доступний і використовується в країнах з низьким рівнем доходу. Вводять його після тестування на гіперчутливість, 10 000–20 000 ОД внутрішньом'язово як разову дозу або у вигляді розділених доз, також допустимо вводити внутрішньовенно в дозі 50–1500 МО. Спазми контролюються за допомогою сильної седації бензодіазепінами. Хлорпромазин і фенобарбітал широко використовують у всьому світі, сульфат магнію застосовують як міорелаксант. Суттєвою проблемою усіх цих методів лікування є те, що дози, необхідні для контролю спазмів, також спричиняють пригнічення дихання, таким чином, дихальна недостатність – часта причина смерті. Застосовують симптоматичну терапію. Одуjuanня від правця настає через 4–6 тиж. Пацієнтам необхідно пройти повний первинний курс імунізації, оскільки правцевий токсин погано імуногенний, а імунна відповідь після природного зараження недостатня.

Прогноз. Швидкий розвиток правця пов'язаний із важчим перебігом захворювання та гіршим результатом, важливо відзначити час настання та тривалість інкубаційного періоду. Одування, як правило, повне, якщо не наставали періоди гіповентиляції або інші ускладнення. Дослідження дітей та новонароджених свідчать про більший рівень неврологічних наслідків. У новонароджених може бути підвищений ризик таких ускладнень, як церебральний параліч, глухота, відставання у навчанні.

Профілактика. Для новонароджених важливі безпечні, чисті пологи та догляд за пупком, а також вакцинація матері. Рекомендації ВООЗ щодо вакцинації проти правця складаються з первинного курсу з трьох доз у грудному віці, ревакцинації у віці 4–7 та 12–15 років та однієї ревакцинації у зрілому віці. У США пропонується додаткова доза через 15–18 міс із ревакцинаціями кожні 10 років. Стандартні рекомендації ВООЗ щодо профілактики правця у матері та новонародженого вимагають прийому двох доз правцевого анатоксину з інтервалом не менше 4 тиж раніше неімунізованим вагітним жінкам.

Осіб із ранами з ризиком правця слід імунізувати, якщо їх статус вакцинації є неповним чи невідомим, або якщо остання ревакцинація була зроблена більше 10 років тому.

Ботулізм

Ботулізм – це нейропаралітична хвороба, спричинена ботулінічним токсином – однією з найбільш відомих токсичних речовин. Хоча спочатку вважалось, що причиною цієї хвороби є лише потрапляння ботулінічного токсину в заражену їжу (харчовий ботулізм), зараз у всьому світі визнано три додаткові форми, спричинені продукуванням місцевого токсину після проростання спор у рану або кишечник: рановий ботулізм, дитячий ботулізм та кишковий колонізаційний ботулізм дорослих. Також у пацієнтів, які отримували більше, ніж рекомендовані дози ботулотоксину (ятрогенний ботулізм) у терапевтичних або косметичних цілях, повідомлялося про симптоми цієї хвороби. Ботулізм проявляється як клінічний синдром двосторонніх черепно-нервових паралічів, які можуть прогресувати до спадуючого двостороннього в'ялого паралічу довільних м'язів і навіть смерті.

Морфологічні та тинкторіальні властивості.

Clostridium botulinum – анаеробна грампозитивна бактерія роду клостридій, довжина палички 3–9 мкм, ширина 0,6–1 мк із закругленими кінцями, утворює субтермінально розташовані спори у вигляді тенісної ракетки (рис. 7). Капсули не утворює, рухлива за рахунок перитрихіально розташованих джгутиків.



Рис. 7. Морфологія *Clostridium botulinum*

Культуральні властивості. Оптимальна температура росту *Clostridium botulinum* і утворення токсинів становить 28–35 °С залежно від серотипу збудника, рН – 7,3–7,6. Використовують

такі середовища для вирощування кластрид: рідке середовище Кітта-Тароцці, щільні поживні середовища (печінковий агар, залізо-сульфітний агар, цукрово-кров'яний агар Цейслера).

Зростання кластрид ботулізму у середовищі Кітта-Тароцці і м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) в анаеробних умовах супроводжується рівномірним помутнінням і невеликим газоутворенням, при цьому чути запах гіркої олії (рис. 8).



Рис. 8. Ріст *Clostridium botulinum* на середовищі Кітта-Тароцці – перша пробірка, контроль – друга пробірка.

Кластридії ботулізму утворюють шореткі колонії на печінковому агарі в анаеробних умовах (рис. 9), на цукрово-кров'яному агарі збудник ботулізму утворює колонії з рівними або порізнаними краями і блискучою поверхнею, які оточені зоною гемолізу (рис. 10).



Рис. 9. Ріст *Clostridium botulinum* на печінковому агарі

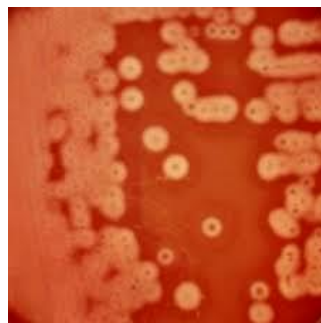


Рис. 10. Ріст *Clostridium botulinum* на цукрово-кров'яному агарі

На залізо-сульфітному агарі (середовищі Вільсона-Блера) кластридії ботулізму формують колонії чорного кольору за рахунок утворення сульфідів заліза під впливом сірководню, що виділяється бактеріями (рис. 11).



Рис. 11. Піст *Clostridium botulinum* на середовищі Вільсона-Блера

Ферментативні властивості. На желатиновому середовищі збудник ботулізму формує сірі колонії, оточені зоною розрідженого желатину. Протеолітичні властивості найбільш виражені у бактерій, які продукують токсини типів А і В. Менш виражені протеолітичні властивості у бактерій, що синтезують токсин типу F, а у бактерій, що продукують токсини типів С, D і Е, протеолітична здатність дуже слабка.

Всі типи збудника продукують желатиназу та лецитиназу. *C. botulinum* ферментує гліцерин, глюкозу, левулозу, мальтозу, декстрин, саліцин, інозит з утворенням газу та кислоти і не розкладає сахарозу, галактозу, маніт, дульцит, рамному і арабінозу. Ці властивості непомітні.

Антигенні властивості. Виділяють 7 антигенних варіантів збудника ботулізму (А, D, С, D, Е, F, G). Специфічність кожного варіанта виявляють у реакції з антитоксичними сироватками. У вегетативних клітинах збудника ботулізму виявляють соматичний О-антиген і джгутиковий Н-антиген. Соматичний О-антиген є груповим, загальним для протеолітичних штамів *C. botulinum* сероварів А і В. Джгутиковий Н-антиген є типоспецифічним. Серотип А викликає найважчий синдром, причому найбільша частка пацієнтів потребує штучної вентиляції легенів. Серотип В викликає легше захворювання. Серотип Е, найчастіше асоційований із продуктами водного походження, викликає синдром різної тяжкості. Хвороби, спричинені токсином серотипу F, трапляються рідко і характеризуються швидким прогресуванням до квадриплегії та дихальної недостатності, але також відносно швидким відновленням.

Фактори патогенності. Ботулінічний екзотоксин є основним фактором патогенності збудника ботулізму. *Clostridium botulinum* має ферменти агресії: декарбоксілазу, протеїназу, лецитиназу.

Ботулінічний токсин являє собою білок, що володіє нейротоксичною дією. Це найсильніша отрута: 1 г кристалічного токсину містить 1 012 смертельних для людини доз. Смертельна доза для людини становить 1 нг/кг маси тіла. Летальність при дії ботулотоксину складає 35–85 %. Токсинування у бактерій типів С, D і Е детерміновано генами помірних фагів

і виявляється при інтеграції ДНК бактеріофага в хромосому бактерії. У решти типів збудника токсиноутворення визначається хромосомними генами. Ботулінічні токсини всіх типів синтезуються у вигляді комплексів (протоксинів), що складаються з нейротоксину і нетоксичного білкового компонента, що включає гемаглютинін (НА) і нетоксичний гемаглютинуючий білок (NTNH).

Нейротоксин без інших білків є дуже лабільним. Білковий компонент є стабілізатором і захищає нейротоксин від дії протеолітичних ферментів і соляної кислоти травного тракту.

Резистентність. Природним джерелом і резервуаром збудника є ґрунт, теплокровні і холоднокровні тварини, які поглинають спори *Clostridium botulinum* з водою і кормом. Збудник розмножується в мулі слабопроточних водойм, силосних ямах, трупах тварин.

У навколишньому середовищі спори збудника ботулізму зберігаються протягом тривалого часу, а за сприятливих умов проростають і розмножуються. Так, збудник виробляє токсин після смерті тварин при зниженні температури тіла до 20–25 °С. Спори гинуть під час кип'ятіння через 3–6 год, при автоклавуванні – через 30 хв. У 14–15 % розчині хлористого натрію спори зберігають життєздатність протягом 2 міс. Під впливом 6 % перекису водню і 20 % формаліну спори гинуть через 24 год, під впливом 10 % розчину соляної кислоти – через 1 год. У висушеному стані спори зберігають життєздатність кілька десятиліть. Вони добре витримують низькі температури, при –16 °С зберігаються протягом року. Вегетативні клітини *Clostridium botulinum* при температурі +80 °С гинуть через 30 хв, при кип'ятінні – через 5 хв. Ботулінічний токсин досить стійкий до впливу несприятливих умов зовнішнього середовища. Він витримує температуру +80 °С протягом 30–60 хв, кип'ятіння – протягом 10–25 хв. Токсин стійкий до дії пепсину, трипсину, витримує високі концентрації кухонної солі, не руйнується в консервованих продуктах, що містять різні спеції. У консервах ботулінічний токсин зберігається протягом 6–8 міс.

Епідеміологія. Ботулізм поширений у всьому світі. У природних умовах резервуаром і джерелом збудника інфекції є ґрунт. Механізм передачі – фекально-оральний, шлях передачі – аліментарний. Потрапляючи в харчові продукти, спори кластрідій ботулізму проростають і утворюють токсин. Хвора людина не становить небезпеки для оточуючих. Найбільш небезпечні приготовані з порушенням технологічного режиму риби, м'ясні та овочеві герметично закупорені консерви домашнього приготування, шинка, ковбаси, копчена і в'ялена риба, також мариновані в домашніх умовах гриби. При цьому зовнішній вигляд продуктів та їх смакові властивості не змінюються. Ботулізм реєструється у вигляді спорадичних випадків і групових захворювань. Сезонність не виражена. У косметології ботулотоксин застосовують для естетичної корекції мімічних зморшок.

Патогенез. Підтверджено сім серологічно різних серотипів ботулотоксину (від А до G). Ботулотоксин виробляють чотири визнані види клостридій: *Clostridium botulinum* і рідкісні штами *Clostridium argentinense*, *Clostridium baratii* та *Clostridium butyricum*. Всі ці види є анаеробними грампозитивними спороутворюючими організмами. Спори виживають в умовах навколишнього середовища та готування їжі, проте утворенню токсину сприяє рідкісне поєднання умов зберігання продуктів: анаеробного середовища, рН більше 4,5, низької концентрація солі та цукру, температури більше 3 °С. Спори зазвичай потрапляють усередину і, як правило, не проростають, не виробляють токсин у кишечнику дорослої людини. Ботулізм, що переноситься їжею, викликається споживанням їжі, забрудненої ботулотоксином. Ботулізм рани викликається токсином, що виробляється з проростаючих спор *C. botulinum*, які забруднюють абсцес або рану. Ботулізм новонароджених спричинений токсином, що виробляється токсигенними клостридіями, які колонізують кишечник дітей віком до 1 року. Вважається, що ця колонізація відбувається, оскільки нормальна мікробіота кишечника ще не повністю встановлена. Кишковий колонізаційний ботулізм у дорослих (рідкісна форма) подібний до патології дитячого ботулізму.

Незалежно від того, як відбувається вплив, ботулінічний нейротоксин потрапляє в судинну систему і транспортується до периферичних холінергічних нервових закінчень, включаючи нервово-м'язові з'єднання, постгангліонарні парасимпатичні нервові закінчення та периферичні ганглії. Ботулотоксин – це білок цинко-ендопептидази, що складається з важкого ланцюга 100 кДа і легкого ланцюга 50 кДа. Етапи активності нейротоксинів включають: 1) зв'язування важких ланцюгів з нервовими кінцівками, 2) інтерналізацію в ендоцитарні пухирці, 3) транслокацію легкого ланцюга в цитозоль, 4) специфічне для серотипу розщеплення легкого ланцюга одного з декількох білків, що беруть участь у вивільненні нейромедіатора ацетилхоліну. Гальмування його вивільнення будь-яким із семи серотипів токсину призводить до характерного в'ялого паралічу.

Клінічна картина. Розрізняють ботулізм харчовий, ботулізм рани, у немовлят, колонізаційний кишковий у дорослих, ятрогенний, інгаляційний, навмисний. Клінічний синдром ботулізму складається з двобічних черепно-нервових паралічів, які можуть прогресувати до респіраторних порушень, двостороннього низхідного в'ялого паралічу довільних м'язів і смерті. Інкубаційний період від прийому забрудненої їжі до появи симптомів при харчовому ботулізмі, як правило, становить 8–36 год, але може бути до 10 днів і залежить від дози. При ботулізі інкубаційний період становить 4–17 днів. Хвороба може вразити немовлят мі рани, пов'язаної з випадковою травмою, віком до 3 днів.

Для ботулізму характерні наступні симптоми (рис. 12): порушення частоти, сили і тембру голосу (дисфонія), повний параліч усіх або декількох м'язів ока (офтальмоплегія), прогресуюча млявість, адинамічна, невиразна

мова (дизартрія), параліч обличчя (маскоподібне лице), подвоєння в очах (диплопія), косоокість (страбізм), неконтрольовані коливальні рухи очей (ністагм), нерівномірні зіниці (анізокорія), опущення верхніх повік (птоз), обмеження діапазону руху очних яблук (парез погляду), розлад акту ковтання (дисфагія). Висунути язик стає складним завданням.



Рис. 12. Симптоми при ботулізмі

Зіничні рефлекси можуть бути пригніченими, іноді відзначаються нерухомі або розширені зіниці. Поширені такі вегетативні симптоми, як запаморочення, сухість у роті та біль у горлі. Дисфагія може призвести до збільшення виділень та необхідності відсмоктування, незважаючи на



Рис. 13. Обличчя хворого при ботулізмі

схильності до збільшення виділень та необхідності відсмоктування, незважаючи на сухість у роті. Після початку хвороби через паралітичну непрохідність нерідко відзначаються запори, загальним явищем також є затримка сечі. Пацієнти є афебрильними і залишаються настороженими та орієнтованими, але дизартрія, птоз та парез іноді змушують лікарів неправильно вважати, що психічний статус пацієнта порушений. На пізніх або ранніх стадіях захворювання може виникнути дихальна недостатність через параліч діафрагми та допоміжних дихальних м'язів, або через глоткові колапси, вторинні паралічі черепно-мозкового нерва. Через параліч

скелетних м'язів пацієнти, які мають дихальну недостатність, можуть здаватися спокійними (рис. 13).

Нудота, блювання та біль у животі можуть передувати або слідувати за настанням паралічу при харчовому ботулізмі. Немовлята з ботулізмом, як правило, мають знижену здатність смоктати і ковтати, у них виявляють запор, ослаблений голос, птоз, гіпотонію, млявий вигляд (рис. 14).



Рис. 14. Ботулізм у немовлят

Смерть при нелікованому ботулізмі, як правило, пов'язана з обструкцією дихальних шляхів у зв'язку з паралічем м'язів глотки та неадекватним дихальним об'ємом, який виникає в результаті паралічу діафрагмальних та допоміжних дихальних м'язів.

Лабораторна діагностика. Діагностика ботулізму базується на клінічній картині захворювання (порушення зору, мови, ковтання, м'язова слабкість), епідеміологічних даних (вживання підозрілих консервованих продуктів) і результатів лабораторних досліджень.

У першу чергу ботулізм підтверджується при виявленні токсину в клінічних зразках (наприклад, у сироватці крові, випорожненнях, аспіраті шлунка та клізмах зі стерильною водою) або у зразках продуктів харчування. Виділення токсигенних клостридій є вторинним етапом досліджень. Загальноновизнаним методом підтвердження ботулізму є біологічний тест на мишах, використовують реакцію нейтралізації токсину (біопроба).

Результати дослідження токсину, як правило, негативні для клінічних зразків, зібраних пізніше 7 днів після появи симптомів, але можуть бути і позитивними при високому рівні токсинів. Негативний результат не виключає ботулізм. Кров досліджують на наявність токсину (біопроба на мишах), фекалії – на наявність збудника (посів на живильні середовища), інший матеріал – на наявність токсину і збудника. Експресними методами діагностики ботулізму є полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), імуноферментний аналіз (ІФА), реакція пасивної гемаглютинації (РПГА).

Виділяють збудник з калу хворого і залишків їжі шляхом посіву в середовище Кітта-Тароцці і культивування в анаеробних умовах. Культуру, яка виростає, ідентифікують за морфологічними і тинкторіальними властивостями (мікроскопія пофарбованих за Грамом мазків), досліджують ферментативні властивості.

Серологічних досліджень при діагностиці ботулізму не проводять, оскільки захворювання не супроводжується виробленням антитіл.

Прогноз при ботулізмі завжди серйозний, тому важливо своєчасно надавати допомогу та запобігати появі ускладнень. Раннє звернення за медичною допомогою сприяє швидшому регресу неврологічної симптоматики і розладів шлунково-кишкового тракту. Подальшого диспансерного спостереження потребують пацієнти, які перенесли тяжку форму хвороби. Реабілітаційна терапія становить 6 міс.

Лікування. Основами терапії є ретельна інтенсивна терапія та лікування антитоксином на початку клінічного перебігу. Ранні підозри на ботулізм та емпіричне лікування мають вирішальне значення для сприятливих клінічних результатів.

Перша допомога полягає в промиванні шлунково-кишкового тракту 2–5 % розчином бікарбонату натрію при харчовому ботулізмі або у негайному очищенні, обробці і осушуванні рани з подальшим використанням антисептиків при ботулізмі рани. Після промивання шлунка хворим вводять

ентеросорбенти. Потім вводять лікувальні протиботулінічні сироватки, які випускаються в рідкому і ліофільно висушеному вигляді. До встановлення типу токсину хворому вводять внутрішньом'язово полівалентну антитоксичну сироватку або суміш сироваток, які містять антитіла типів А і Е по 10 000 МО і типу В 5 000 МО. Після встановлення типу токсину на білих мишах застосовують відповідну моновалентну антитоксичну сироватку, яку вводять за методом Безредка (0,1 мл підшкірно, через 15 хв – 0,2 мл, ще через 15 хв – внутрішньом'язово всю дозу сироватки, попередньо підігрітої до 36 –37 °С). Протиботулінічна сироватка являє собою сироватку крові коней, гіперімунізованих анатоксинами *Clostridium botulinum*. Як консервант у сироватку додають 0,5 % хлороформу.

Оскільки антитоксин є найбільш корисним на початку перебігу клінічної хвороби, його слід вводити емпірично та до лабораторного підтвердження діагнозу. Слід часто контролювати життєздатність та за необхідністю забезпечити механічну вентиляцію. Ботуліновий антитоксин може обмежити прогресування хвороби, оскільки нейтралізує молекули токсину в циркуляції, які ще не зв'язані з нервовими закінченнями. Однак антитоксин не змінює існуючого паралічу, покращення стану можна чекати протягом тижнів. Також використовують антибіотики (тетрациклін, левоміцетин), детоксикаційні, симптоматичні і загальнозміцнюючі препарати. Аміноглікозиди та інші ліки, що блокують нерво-м'язовий зв'язок, можуть посилювати ботулізм, тому їх слід уникати.

Профілактика. Неспецифічна профілактика включає комплекс санітарно-гігієнічних заходів, спрямованих на запобігання потраплянню бактерій та їх спор у харчові продукти, дотримання санітарно-гігієнічних правил при виробництві харчових продуктів (ковбас, консервів). Потрібно вести роз'яснювальну роботу з населенням. При домашньому консервуванні продукти слід ретельно мити, використовувати теплову обробку банок, кришок, продуктів. Зберігати домашні консерви слід при температурі 3–6 °С. Продукти харчування, які не підлягають термічній обробці (солоня або копчена риба), повинні зберігатися при температурі не вище 10 °С.

Специфічну профілактику проводять особам, які мають контакт з ботулінічним токсином (працівники медичних підприємств, дослідних лабораторій) за допомогою ботулінічного поліанатоксину (тріанатоксину, що містить анатоксини типів А, В, Е) у складі секстанатоксину, який крім ботулінічних анатоксинів містить анатоксини *C. perfringens*, *C. novyi* і *C. tetani*. Імунізація триразова. Наступні одноразові ревакцинації проводять через кожні 5 років.

Газова гангрена

Рід *Clostridium* охоплює понад 60 видів, які можуть бути коменсалами мікрофлори кишечника або спричиняти різноманітні інфекції у людей і тварин завдяки виробленню безлічі білкових екзотоксинів. Збудниками газової гангрени є мікроорганізми *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*. Наприклад, *C. perfringens* та *C. septicum* викликають агресивні некротизуючі інфекції, які пов'язані з виділенням множинних токсинів, включаючи бактеріальні протеази, фосфоліпази та цитотоксини.

Морфологічні та тинкторіальні властивості. Вегетативні клітини видів *Clostridium* плеоморфні, паличкоподібні і розташовані поодинокі або короткими ланцюжками (рис. 15). Клітини мають округлі або іноді загострені кінці, утворюють спори, які розташовуються термінально або субтермінально.

Морфологічні особливості клостридій представлені в таблиці.

Хоча клостридії є грампозитивними на ранніх стадіях росту, вони можуть виявитися грамнегативними або змінювати колір пізніше в циклі росту або в зразках інфікованих тканин. Більшість штамів рухливі за допомогою перитричних джгутиків, *C. septicum* роїться на твердих середовищах. До нерухоливих видів належить *C. perfringens*. Більшість видів є винятково анаеробними мікроорганізмами, *C. perfringens* є аеротолерантною, деякі види (наприклад, *C. septicum*) зростають у присутності кисню, але не будуть спорулювати на повітрі.

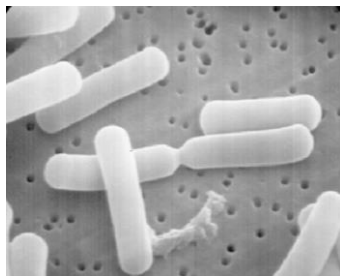


Рис. 15. Морфологія *C. perfringens*.

Морфологічні особливості збудників анаеробної клостридіальної інфекції

Види клостридій	Палички	Розташування спори	Капсула	Рухомість
<i>C. perfringens</i>	великі, поліморфні	ц, ст	+	-
<i>C. histolyticum</i>	невеликі	ст	-	перитрих
<i>C. novyi</i>	великі, товсті	ст	-	перитрих
<i>C. septicum</i>	поліморфні	ц, ст	-	перитрих

Примітка: ц – центральне розташування спори, ст – субтермінальне.

Культуральні властивості. Оптимальна для росту температура – 35–37 °С, оптимальне значення рН 7,2–7,4. На щільних поживних середовищах формують колонії S-форми з рівним краєм і гладенькою поверхнею або R-форми з нерівним краєм і шорсткою поверхнею. У глибині агару колонії нагадують грудочки вати або зерна сочевиці (рис. 16). Зростання клостридій на середовищі Кітта-Тароцці супроводжується його помутнінням і активним газоутворенням (рис. 17).



Рис. 16. Ріст *C. perfringens* на твердих поживних середовищах



Рис. 17. Ріст клостридій на середовищі Кітта-Тароцці

На середовищі Вільсона-Блера (залізо-сульфітний агар) у процесі росту клостридій сірчаноокислий натрій відновлюється до сірчистого заліза. На цьому середовищі *C. perfringens* утворюють чорні колонії, а *C. histolyticum* – колонії зеленувато-чорного кольору (рис. 18).



Рис. 18. *C. perfringens* на середовищі Вільсона-Блера

На цукрово-кров'яному агарі клостридії утворюють колонії, оточені зоною повного або часткового гемолізу. У молоці зростання клостридій супроводжується зсіданням молока і утворенням губкоподібного згустка (т. зв. «штормова реакція»).

Різні види клостридій відрізняються один від одного за своїми цукровими і протеолітичними властивостями. Найхарактернішою їх ознакою є здатність викликати бродіння і анаеробний розпад вуглеводів з утворенням масляної кислоти і газів.

Антигенні властивості. У *C. perfringens* розрізняють 6 сероварів – А, В, С, D, Е, F, виділяють різні за антигенною структурою екзотоксини з летальними, некротичними, гемотоксичними, нейротоксичними властивостями. Різні комбінації чотирьох основних токсинів *C. perfringens* (α – альфа, β – бета, ϵ – епсилон і ι – йота) визначають належність збудника до відповідного серовару. Захворювання у людини викликають переважно бактерії типу А, рідше С або D.

C. septicum має також 6 сероварів екзотоксину (А, В, С, D, Е, F), що володіють летальними, гемолітичними і некротичними властивостями. У *C. novyi* відомі 4 серовари – А, В, С, D, найбільш патогенним для людини є тип А. У *C. histolyticum* виявлено 5 сероварів за антигенною структурою токсинів.

Фактори патогенності. Основними факторами патогенності клостридій є екзотоксини і ферменти агресії. Залежно від виду клостридій виробляються різні екзотоксини, які мають гемолітичну, некротизуючу, летальну дію. Ферменти агресії (лецитиназа, гіалуронідаза, ДНКаза) викликають розпад тканин.

Резистентність. Спори збудників газової гангренни можуть зберігатися до 20 – 25 років без втрати вірулентності. Стійкість до нагрівання у клостридій різна. Так, серовари *C. perfringens* А і С витримують кип'ятіння до 6 год. Клостридії відрізняються підвищеною стійкістю до автоклавування, дії антисептиків і дезінфектантів.

Епідеміологія. Види *Clostridium* поширені в природі, утворюють ендоспори, які зазвичай зустрічаються в ґрунті, фекаліях, стічних водах та морських відкладеннях. Клостридії у великій кількості присутні в корінних мікробіотах кишкового тракту людини і тварин, у статевих шляхах жінок та на слизовій оболонці рота. Механізм зараження – контактний, шлях передачі – рановий. Основними групами ризику є працівники сільського господарства, будівельні і дорожні робітники. Сприйнятливість людини висока до анаеробної клостридіальної інфекції.

Харчові отруєння, некротизуючий ентероколіт та газова гангрена поширені у країнах, що розвиваються, де значна частина населення через бідність не має безпосереднього доступу до медичного обслуговування або взагалі не може отримати його. Ці інфекції поширені і в розвинених країнах.

Газова гангрена зазвичай може розвинутиися при ножових або вогнепальних пораненнях, при дорожньо-транспортних подіях, а також як ускладнення хірургічного втручання або раку шлунково-кишкового тракту. Важкі

кlostридіальні інфекції загрожують споживачам ін'єкційних наркотиків, жінкам, які мали пологи або аборти. Дуже поширена ця хвороба у воєнні часи.

Патогенез. Омертвілі тканини, багаті на глікоген, є для кlostридій сприятливим поживним середовищем. Після потрапляння в рану в умовах гіпоксії спори проростають у вегетативні клітини, кlostридії розмножуються у місцях вхідних воріт і синтезують екзотоксини й ферменти агресії.

Кlostридії виробляють більше білкових токсинів, ніж будь-який інший рід бактерій. Виявлено понад 25 токсинів кlostридій, смертельних для мишей. Ці білки включають нейротоксини, ентеротоксини, цитотоксини, колагенази, пермеази, некротизуючі токсини, ліпази, лецитинази, гемолізину, протеїнази, гіалуронідази, ДНКазу, АДФ-рибозилтрансферази та нейрамінідази. Токсин епсилон, що продукується *C. perfringens* типів В і D, викликає набряки та крововиливи в мозок, серце, спинний мозок та нирки тварин. Він є одним із найбільш смертоносних токсинів кlostридій і вважається потенційним агентом біотероризму.

Зокрема, лецитиназа розщеплює лецитин клітинних мембран, гіалуронідаза і колагеназа збільшують проникність тканин. Результатом дії токсинів і екзоферментів є некроз м'язової та сполучної тканини, розвиток набряку, скупчення газів у тканинах, інтоксикація організму.

Патогномонічними ознаками кlostридіальної анаеробної ранової інфекції є смердючий гнильний запах із рани, сіро-зелений або коричневий колір виділень.

Клінічна картина. Гістотоксичні кlostридіальні види, такі як *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. novyi* викликають агресивні некротизуючі інфекції шкіри та м'яких тканин. Ці інфекції частково пов'язані з виробленням бактеріальних протеаз, фосфоліпаз та цитотоксинів. Інкубаційний період триває в середньому 1–3 дні. Некротизуючі кlostридіальні інфекції м'яких тканин швидко прогресують і характеризуються помітним руйнуванням тканин, появою газів у тканинах та шоку, вони часто смертельні (рис. 19). Сильний біль, крепітус, м'язові зтягування зі швидким прогресуванням до розшарування шкіри, виражена тахікардія – ознаки, виявлені у більшості пацієнтів.



Рис. 19. Газова гангрена верхніх та нижніх кінцівок

Також *C. perfringens* типу А є однією з найпоширеніших бактеріальних причин харчових захворювань. Причиною отруєння можуть стати неякісно приготоване м'ясо та м'ясні продукти, в яких залишкові спори проростають і розмножуються під час повільного охолодження або недостатнього нагрівання. Хвороба виникає в результаті прийому їжі, що містить щонайменше $\sim 10^8$ життєздатних вегетативних клітин, які споруються в лужному середовищі тонкої кишки, виробляючи при цьому ентеротоксин *C. perfringens*. Діарея, що розвивається протягом 7–30 год після прийому зараженої їжі, як правило, водяниста і незначна, однак у дуже молодих людей, осіб похилого віку та людей з ослабленим імунітетом симптоми є більш серйозними та зрідка летальними. Ентеротоксин, що продукує *C. perfringens*, відіграє певну роль у виникненні діареї, пов'язаної з антибіотиками без псевдомембранозного коліту.

Лабораторна діагностика. Пацієнтам із підозрою на газову гангрену (як травматичну, так і спонтанну) слід негайно пройти оперативне обстеження місця зараження. Досліджуваним матеріалом при клостридіальній анаеробній інфекції будуть уражені і некротизовані тканини, взяті з рани на межі зі здоровими тканинами, гній, ранові виділення, ексудат, кров. Від трупів беруть шматочки м'язів, селезінки, печінки, кров із серця, при харчових токсикоінфекціях досліджують блювотні маси, кров, фекалії, залишки харчових продуктів. Використовують перш за все бактеріоскопічний, культуральний і біологічний методи. Безпосереднє дослідження пофарбованого за Грамом мазка із залучених тканин має головне значення. Культуральний метод передбачає посів досліджуваного матеріалу в рідке живильне середовище Кітта-Тароцці для накопичення бактерій з подальшим пересівом культури на щільні середовища (кров'яний цукровий агар Цейслера, середовище Вільсона-Блера). Посіви інкубують в анаеростатах при температурі 37 °С. Культуру, яка виросла, ідентифікують за морфологічними і біохімічними властивостями. Біологічний метод оснований на реакції нейтралізації токсинів (фільтратів бульйонних культур або центрифугату досліджуваного матеріалу) специфічними антитоксичними сироватками з подальшим зараженням білих мишей або морських свинок.

Характерні гістологічні дослідження при газовій гангрені включають широкомасштабне руйнування тканин, нестачу лейкоцитів в інфікованих тканинах разом із накопиченням лейкоцитів у сусідніх судинах (рис. 20). Ці особливості зумовлені впливом альфа (α) та тета (θ) токсинів на м'язові клітини, тромбоцити, лейкоцити та ендотеліальні клітини, наявністю грампозитивних паличок (зі спорами або без них).

КТ (комп'ютерна томографія) та МРТ (магнітно-резонансна томографія) дозволяють визначити локалізацію інфекції або її поширеність по фасціальних площинах. Аспірація або ударна біопсія може забезпечити етіологічний діагноз принаймні у 20 % випадків. При підозрі на спонтанну

газову гангрену слід проводити посів крові, оскільки бактеріємія зазвичай передує шкірним проявам на кілька годин.

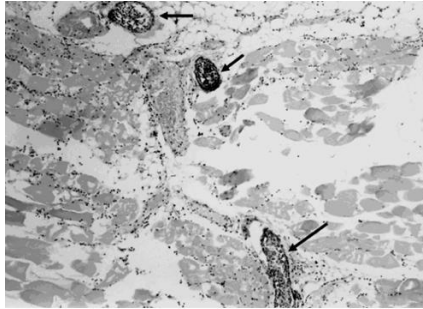


Рис. 20. Гістопатологія експериментальної газової гангренни, спричиненої *C. perfringens*: розповсюджений некроз м'язів, нестача лейкоцитів в інфікованих тканинах та накопичення лейкоцитів у сусідніх судинах (стрілки).

Прогноз для пацієнтів із газовою гангrenoю є більш сприятливим, коли інфекція вражає кінцівку, а не тулуб або вісцеральні органи, оскільки обробка останніх ділянок складніша. Газова гангrena, найімовірніше, переросте в шок та смерть у пацієнтів із пов'язаною бактеріємією та внутрішньосудинним гемолізом. Рівень смертності найвищий у пацієнтів із шоком на момент постановки діагнозу, також він порівняно високий серед пацієнтів зі спонтанною газовою гангrenoю, особливо зумовленою *C. septicum*, коливається від 35 до 100 %, летальний результат частково обумовлений перфорацією кишечника.

Люди, які перенесли газову гангрену, можуть потребувати тривалого періоду госпіталізації та реабілітації.

Лікування. Для пацієнтів з ознаками газової клостридіальної гангренни надзвичайне значення має ретельне хірургічне лікування. Вся девіталізована тканина повинна бути видалена до здорових життєздатних м'язів та шкіри, щоб усунути умови, які дозволяють розмножуватися анаеробним організмам. Закриття травматичних ран або складних переломів слід відкласти на 5–6 днів, поки не стане очевидним, що ці місця не мають інфекції.

Лікування антибіотиками травматичної або спонтанної газової гангренни передбачає прийом пеніциліну та кліндаміцину протягом 10–14 днів. На основі даних експериментів, проведених *in vitro* на тваринних моделях газової гангренни, спричиненої *C. perfringens*, кліндаміцин рекомендується частіше через його вищу ефективність порівняно з пеніциліном. Чудова ефективність кліндаміцину проявляється, ймовірно, завдяки його здатності інгібувати вироблення бактеріального токсину, нечутливості до величини бактеріального навантаження або стадії росту бактерій, а також здатності модулювати імунну відповідь господаря.

Газова гангрена – це швидко прогресуюча інфекція, результат якої залежить від оперативного втручання та своєчасного прийому антибіотиків, що пригнічують вироблення токсинів. Газова гангрена, пов'язана з бактеріємією, ймовірно, є пізнішою стадією хвороби і пов'язана з найгіршими результатами. Невідкладне хірургічне оброблення має вирішальне значення для забезпечення виживання.

Пацієнти з підозрою на кишкову клостридіальну інфекцію повинні мати назогастральне всмоктування поживних речовин та отримувати внутрішньовенно препарати для підтримання життєдіяльності. Пірантел дають через рот, а кишечник відпочиває, голодуючи. Бензилпеніцилін вводять внутрішньовенно кожні 4 год, і пацієнт знаходиться під наглядом з приводу виникнення ускладнень, що вимагають хірургічного втручання.

Профілактика. Початкове агресивне зняття девіталізованої тканини може зменшити ризик газової гангрени у забруднених глибоких ранах. Слід уникати тривалого накладання джгутів та хірургічного закриття травматичних ран. Пацієнти зі складними переломами мають значний ризик газової гангрени, якщо рану закрити хірургічним шляхом.

Вакцинація проти α -токсину є захисною на експериментальних тваринних моделях газової гангрени, спричиненої *C. perfringens*, але не досліджувалась у людей. Застосування гіперімунного глобуліну становить значний прогрес у профілактиці постраждалих від гострих травматичних ушкоджень або послабленні поширення інфекції у пацієнтів зі встановленою газовою гангrenoю.

Практичні завдання

1. Вивчення морфології клостридій (в атласах та мікрослайдах).
2. Вивчення біологічних препаратів для серологічних методів дослідження (антигенів та діагностичних сироваток).
3. Вивчення схеми лабораторної діагностики клостридіальних інфекцій.
4. Вивчення вакцин та імунних сироваток для специфічної профілактики та терапії правця і ботулізму.
5. Приготування мікрослайдів із середовища Кітта-Тарроцці. Фарбування мазка за Грамом та його дослідження під мікроскопом.

Тестові завдання для контролю знань студентів

1. До лікарні потрапив хворий з блюванням, запамороченням, відчуттям подвійного зору, утрудненим ковтанням. Лікар підозрює ботулізм. Які діагностичні методи слід використовувати для підтвердження діагнозу?
 - A. Серологічний, мікроскопічний.
 - B. Біологічний тест, бактеріологічний.
 - C. Протозоологічний, мікроскопічний.
 - D. Бактеріологічний, мікологічний.
 - E. Алергічний тест, серологічний.

2. Симптомами харчового отруєння, спричиненого *Clostridium botulinum*, є подвоєння в очах, нездатність говорити та параліч дихання. Ці симптоми узгоджуються з:
- A. Ендотоксичним шоком.
 - B. Секрецією ентеротоксину.
 - C. Проковтуванням нейротоксину
 - D. Активацією циклічного АМФ.
 - E. Інвазією епітелію кишечнику під дією *C. botulinum*.
3. Яка з наведених бактерій має субгермінально розташовану спору, надаючи їй форми «тенісної ракетки»?
- A. *Bacillus anthracis*.
 - B. *Clostridium botulinum*
 - C. *Clostridium perfringens*.
 - D. *Bacillus subtilis*.
 - E. *Clostridium tetani*.
4. Оскільки ботулізм є результатом прийому продуктів, що містять попередньо утворений клостридіальний токсин, ботулізм називається:
- A. Інтоксикація.
 - C. Первинна інфекція.
 - E. Вторинна інфекція.
 - B. Реінфекція.
 - D. Мікст-інфекція.
5. Засобом для штучної імунізації проти *Clostridium tetani* є:
- A. Антигени O і Vi.
 - B. Ослаблений живий організм.
 - C. Токсичний білок, оброблений формальдегідом.
 - D. Очищений білок клітинної стінки.
 - E. Очищений капсульний антиген.
6. Патологічний матеріал, відібраний у пацієнта, що страждає на пульпіт, був посіяний на культуральне середовище Кітта-Тароцці. Який мікроорганізм планується виявити?
- A. Кислотостійкий.
 - B. Анаеробний.
 - C. Ацидофільний.
 - D. Гемолітичний.
 - E. Аеробний.
7. 16-річному підлітку ввели антитоксичну сироватку. Через вісім днів спостерігалася скутість і біль у суглобах, субфебрильна температура, уртикарне прорізування шкіри, збільшення пахових, шийних лімфатичних вузлів та селезінки. Який тип алергічної реакції спостерігається?
- A. Цитоксичний.
 - B. Гіперчутливість негайного типу.
 - C. Імунокомплексний.
 - D. Гіперчутливість уповільненого типу.
8. Правцевий токсин називають:
- A. Ентеротоксин.
 - B. Цитотоксин.
 - C. Лейкоцидин.
 - D. Нейротоксин.
 - E. Ендотоксин.

9. При мікроскопічному дослідженні культури мікробів виявили веретено-подібні спороутворюючі мікроорганізми, які мають фіолетово-синій колір при фарбуванні за Грамом. Які мікроорганізми були виявлені?

- A. Клостридії. B. Стрептококи. C. Спірохети.
D. Актиноміцети. E. Диплококи.

10. Багато гнійно-запальних процесів у ротовій порожнині викликані анаеробами. Яке живильне середовище можна використовувати для контролю забруднення ранової тканини анаеробами?

- A. Ру. B. Ендо. C. Кімта-Тароці.
D. Сабуро. E. Плоскірева.

Відповіді на тестові завдання

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B	C	B	A	C	B	C	D	A	C

Література

Основна

- Harrison's principles of internal medicine. 20th Ed / Jameson, Fanci, Kasper and al. New York McGraw-Hill Medical Publishing Division. ISBN 978-1259644030, 2018. Access: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2129>
- Large outbreak of botulism associated with a church potluck meal / A. McCarty et al. Ohio, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 64. P. 64 – 802.
- Ananthanarayan. Textbook of Microbiology. 9th Ed / Ananthanarayan, Paniker. Orient Blackswan, 2013. 657 p.
- Manual of Clinical Microbiology / Karen C. Carroll et al. 10th Edition. Vol. 2. Washington, DC : ASM Press, 2011. 630 p.

Допоміжна

- Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America / D. L. Stevens et al. // Clin Infect Dis. 2014. 59 p.
- Rupnik M., Wilcox M. H., Gerding D. N. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis // Nature Reviews Microbiology. – 2009. – V. 7. – P. 526 – 536.
- Pérez Á. B., Morales Ó. R., Regino W. O., Zuleta M. G. Clostridium difficile infections in elderly patients. // Rev. Col. Gastroenterol. 2013. Vol. 28, № 1. Access: <http://www.scielo.org.co/scielo.php>

