Реферат

на тему: «Патологическая анатомия

и микробиологическая диагностика ботулизма»

1. Патологическая анатомия

При вскрытии трупов людей и животных, погибших от ботулизма, обнаруживают резкую гиперемию всех внутренних органов с множественными мелкими и крупными кровоизлияниями, гиперемию оболочек головного мозга (встречаются геморрагии), тромбозы и дегенеративно-некротические поражения эпителия сосудов деструктивного характера, стенки сосудов ткани мозга оказываются разрыхленными. Больше поражаются ганглиозные клетки нервной системы. Наблюдаются вакуолизация протоплазмы, распад ядра, форма клеток изменяется, отростки отпадают, изменения также происходят в неврологии. В сердце волокна соединительной ткани набухают, наблюдается явление некробиоза. Происходит фрагментация миокарда, поперечная полосатость исчезает. Сосуды сердца резко переполнены кровью, обнаруживается набухание эндотелия в капиллярах и мелких сосудах, местами наблюдается некробиоз. Легкие наполнены кровью, отечны. Картина резкой геморрагической пневмонии сопровождается в некоторых случаях опеченением отдельных участков легкого, а иногда и целых долей. Капилляры легкого резко расширены, переполнены эритроцитами, в альвеолах скопление эритроцитов. Печень полнокровна, увеличена, буроватого цвета, дряблой консистенции. При микроскопическом исследовании определяется зернистое перерождение клеток печеночной ткани, жирован альтерация, набухание коллагеновых волокон соединительной ткани, диссоциация печеночной паренхимы. В почках сильно изменен эпителий извитых канальцев, в прямых канальцах дегенеративные изменения. Слизистая пищеварительного тракта резко гиперемирована. Слизистая желудка набухшая, желтоватого цвета, разрыхлена, очень легко разрывается, в ней имеются точечные и более крупные кровоизлияния. Сосуды кишечника резко инъецированы и придают серозной оболочке «мраморный рисунок», слизистая набухшая. Из скелетных мышц сильнее всего поражаются мышцы грудной клетки, брюшной стенки и конечностей, они имеют сероватый оттенок.

Иммунитет. Перенесенное острое заболевание иммунитета не оставляет. Хроническая длительная интоксикация, вызванная употреблением в пищу продуктов, зараженных спорами ботулизма, может вызвать развитие некоторой устойчивости к токсину и накопление агглютининов в сыворотке крови. В связи с этим у животных, часто поедающих инфицированные продукты, наблюдается резистентность к ботулиническим токсинам; при этом обнаруживаются в большом количестве агглютинины в крови (свиньи, коровы, собаки, кошки). Против ботулизма возможна активная иммунизация людей и животных соответствующим анатоксином. Впервые иммунизацию люден с положительными результатами провел И.М. Великанов (1934). В США для иммунизации большой группы людей были использованы анатоксины типа А и В. В СССР разработан метод иммунизации людей концентрированным адсорбированным анаэробным полианатоксином, включающим 7 антигенов: столбнячный, perfringenf, oedemaliens и четыре ботулинических анатоксина типов А, В, С и Е (К. И. Матвеев и готруд.,1951—1956). В настоящее время во многих странах проводится массовая иммунизация животных. В большинстве случаев применяют анатоксины, преципитированные квасцами пли адсорбированные фосфатом алюминия. В Южной Африке и Австралии ежегодно иммунизируют большое количество крупного и мелкого рогатого скота, во Франции — лошадей и коров, в США, Швеции, Норвегии и других странах — ежегодно десятки тысяч норок. К. И. Матвеев, Т. II. Булатова и Т. И. Сергеева (1950) разработали метод приготовления и применения анатоксина типа С для массовой иммунизации норок в зверосовхозах.

Кроме иммунизации людей и животных, ботулинические анатоксины применяются для получения лечебных сывороток (см. Сыворотки иммунные). При иммунизации против ботулизма происходит не только накопление антитоксина в крови, но и иммунологическое изменение тканей организма. Они становятся ареактивными в отношении ботулинических токсинов.

**Клиника**. Инкубационный период у людей колеблется от 2 часов до 10 дней, чаще он равен 18—24 часам. Длительность инкубационного периода зависит от дозы токсина, попавшей в организм с пищевыми продуктами: чем больше первоначальная доза, тем короче инкубационный период, чем меньше доза, тем он длиннее. В прямой зависимости от инкубационного периода, в свою очередь, стоит и летальность; обычно она выше при короткой инкубации.

В клиническом течении ботулизма специфически характерным является быстрое возникновение мионеврологических синдромов, характеризующихся гл. обр. двигательными нарушениями, вплоть до развития генерализованных или местных параличей в тяжелых случаях. Температура тела в большинстве случаев нормальная, но может и повышаться. Заболевание начинается с общей слабости, недомогания, головной боли, головокружения, беспокойства, плохого сна. Наблюдающиеся иногда явления гастроэнтерита (тошнота, рвота, реже понос) следует рассматривать как результат местного раздражения желудочно-кишечного тракта бактериальными и протеиногенными продуктами распада испорченной пищи. Ставить эти явления в причинную связь с токсином ботулизма нет никаких оснований.

В типичных случаях не бывает никаких острых явлений воспаления со стороны желудочно-кишечного тракта; вследствие пареза или паралича кишечника рано появляется и стойко держится запор, метеоризм.

К начальным симптомам В., обусловленным нарушением функции мышечного нервного и секреторного аппаратов пищеварительного тракта, относятся повышенная или пониженная секреция СЛЮНЫ и слизи, в связи с чем возникает сухость полости рта, реже саливация, явления дисфагии, спастические схваткообразные боли в кишечнике.

В ряде случаев первыми могут возникнуть признаки расстройства функции внутренних и наружных глазных мышц вследствие преимущественной локализации болезненного процесса в двигательных ядрах стволовой части головного мозга. К ним относятся: неправильная форма зрачков, анизокория, миоз, мидриаз, вялая реакция на свет, вялая аккомодация, полная неподвижность зрачков, «туман в глазах» и т. д. Птоз, диплопия, нистагм — наиболее частые симптомы при ботулизме. Из других бульбопонтинных проявлений отмечается ослабление мимических движений, что зависит от падения тонуса иннервации лицевого нерва вследствие локализации процесса в средней и каудальной частях моста. Вовлекается в процесс и двигательное ядро тройничного нерва.

Одновременно с появлением глазных симптомов или несколько позднее присоединяются главные признаки бульбарного синдрома: расстройство глотания, артикуляции, фонации, дыхания и сердечной деятельности, ограничение подвижности языка. Расстройство глотании наблюдается от легких затруднений до полной невозможности глотания, речь изменяется, почти всегда появляется сиплость голоса, затем гнусавый оттенок и, наконец, афония. Возможен полный паралич глоточной мускулатуры и мягкого нёба. Иногда рельефно выступает недостаточность функции добавочного (XI пары) нерва, доходящая до полного паралича, когда больной поможет держать голову прямо. Повреждении невропаралитического характера могут охватывать все черепные нервы, за исключением I и II пары.

Как правило, больные жалуются на затруднение движения, быструю утомляемость, слабость в руках и ногах, хотя истинные скелетные параличи почти не встречаются.

В противоположность двигательным расстройствам и поражению черепных нервов чувствительная сфера но нарушается. Со стороны сердечно-сосудистой системы наблюдается лабильность пульса; замедленный в начале заболевания пульс ускоряется па высоте страдания. Систолическое и диастолическое давление в части случаев имеет тенденцию к повышению, что, очевидно, можно объяснить спазмом кровеносных сосудов.

Мочеотделение обычно совершается нормально, мочеиспускание может быть затруднено.

В заключительной фазе заболевания нейтральное место занимает расстройство дыхания. Затрудненное сначала дыхание становится затем частым, поверхностным (до 40—50 в мин.). Па высоте болезни дыхание становится аритмичным, появляются интервалы усиленного беспорядочного дыхании с участием группы вспомогательных мышц. Стадия возбуждения сменяется асфиксией, что зависит не только от поражения дыхательного центра, но и от паралича диафрагмы.

Смерть обычно наступает от паралича дыхания при продолжающейся еще деятельности сердца и долго сохраняющемся сознании.

Таким образом, клиническая картина ботулизма в целом представляет собой сочетание следующих мионеврологических синдромов:

1) офтальмоплегического;

2) фагоплегического;

3) синдрома расстройства секреции слюны и слизи;

4) дисфагического;

5) фоноплегического;

6) синдрома дыхательных расстройств;

7) гемодинамического и;

8) синдрома тотальной мионевроплегии.

В зависимости от степени выраженности перечисленных синдромов, последовательности их возникновения, разнообразия темпов развития и полноты можно выделить легкие формы, тяжелые и летальные.

В клиническую картину легких случаев входят все синдромы, но они развиваются медленными темпами. Отдельные симптомы выражены слабее, дают интервалы усиления и ослабления, не достигают степени параличей; запаздывают и бывают слабо выражены гемодинамические сдвиги и дыхательные расстройства. При тяжелых формах заболевания наблюдаются все синдромы, а также сочетание многих или всех синдромов, возникающих в один день или даже в первые часы болезни. Характерны для тяжелых форм прогрессирующие темпы развития заболевания с малыми интервалами ослабления того или иного синдрома.

**IIрогноз** особенно неблагоприятен в случае раннего развития дыхательных и гемодинамических расстройств на фоне дисфагии и дисфонии, когда их неудержимо прогрессирующее развитие приводит к смерти больного в течение первых или на вторые сутки. Легкие случаи ботулизма протекают благоприятно (от 4 до 9 дней). В единичных случаях болезнь продолжается 12— 30 дней. В связи с продолжающейся выработкой ботулинического токсина в организме возможно неожиданное резкое ухудшение состояния больного после значительного улучшения.

В первые 15 дней реконвалесценции идет постепенное восстановление функции всех органов. Раньше восстанавливается нормальное дыхание и глотание, значительно позднее проходят головная боль, гнусавость, афония, птоз, еще позднее — общая слабость, поражение сердца, миастенические явления, боли в мышцах и по ходу нервных стволов. Выздоровление наступает медленно у лиц, перенесших тяжелую форму ботулизма — через 2—3 месяца и более. Некоторые нарушения, связанные с поражением ядер черепно-мозговых нервов, могут оставаться на всю жизнь, вследствие чего лица, перенесшие заболевание, делаются инвалидами.

**Дифференциальный диагноз.** При единичных случаях заболевания ботулизма диагностика затруднительна, особенно в начальной стадии. Клинический диагноз необходимо всегда дополнять лабораторным исследованием. Заболевание ботулизм можно смешать с другими пищевыми интоксикациями и токсико-инфекциями, с тяжелой дифтерией, отравлением белладонной, атропином, метиловым алкоголем, грибами. Нередко путают ботулизм с летаргическим энцефалитом. Диагностика основывается на наиболее характерных симптомах ботулизма. При этом обращается внимание на возможную связь заболевания с употреблением консервированных продуктов. Отравления атропином или белладонной, когда также наблюдается дисфагия, нарушение зрения, сухость во рту, вместе с тем сопровождаются возбуждением, часто с бредом (особенно при отравлении белладонной). При отравлении атропином сильно расширены зрачки, но отсутствуют параличи глазных мышц. При тяжелой форме дифтерии паралич небной занавески обычно односторонний, и не наблюдается поражения глазных мышц; нарушение зрения обычно бывает в отличие от ботулизма в конце заболевания.

При энцефалите выражена большая сонливость, повышение температуры, параличи и парезы различных групп мышц. При отравлении грибами иногда наблюдается расстройство психической деятельности, сильное слюнотечение и отделение пота, чего не бывает при ботулизме.

**Осложнения.** В очень небольшом числе случаев, главным образом у детей, наблюдается бронхит и изредка пневмонии исключительно аспирационного происхождения.

В периоде выздоровления от Б. часто возникают миозиты в виде уплотнения отдельных мышц или группы мышц с нарушением их функций, болями и, как правило, с благополучным исходом.

К концу острого периода, а чаще во время реконвалесценции, выявляются симптомы инфекционного миокардита.

**2. Микробиологическая диагностика**

Она основана на выделении из исследуемого материала возбудителя и обнаружении моноспецифического токсина. Исследуют кровь, выделения больного (содержимое желудка или промывные воды, мочу и испражнения), продукты, вызвавшие отравление, и трупный материал, почву, овощи, фрукты, воду и пр. Возбудители обнаруживаются с помощью посевов на среды, а токсин — биологической пробой и реакцией нейтрализации на животных. Для освобождения от сопутствующей микрофлоры одну часть материала перед посевом прогревают при 80° в течение 30 мин., а другую высевают па среды нагретой. Промывные воды и фекалии сеют в количестве 20—25 мл. Мочу и кровь (5—25 мл) высевают на среды без прогревания. Посевы производят на среду Тароцци, пепсин-пептон с 0,5—I % глюкозы и кусочками печени, для выделения типов С, U и Е — на бульон Хотингера с глюкозой и кусочками мяса или печени. Посевы производят в широкие пробирки или (лучше) во флаконы с 200—250 мл среды. Посевы выращиваются под слоем вазелина в обычном термостате при 30—35° в течение 6—10 дней. Для получения токсина Е выращивание производит при 25—28°.

Для обнаружения токсина первая промывная вода из желудка больного вместе с кусочками пищи, собранная в стеклянную посуду, переносится в стерильную ступку, где кусочки пищи тщательно растирают, затем все собирают в пробирку или колбу и 2 часа экстрагируют при комнатной 1°. Экстракт фильтруют или центрифугируют, прозрачную жидкость используют для постановки реакции на токсин. В крови больного токсин выявляют после центрифугировании для осаждения эритроцитов. Моча для реакции на токсин предварительно не обрабатывается.

Испражнения в количестве 10—15 г собирают в стерильную ступку или стакан, заливают двойным объемом физиологического раствора и ставят на 1—2 часа в прохладное место для экстрагирования токсина. Затем жидкость фильтруют или центрифугируют и используют для реакции на токсин. При исследовании трупов из каждого органа берется стерильно по 2—3 кусочка но 5—10 г и кровь (10—15 мл). Наиболее часто токсин обнаруживают в печени.

Бактериологическое исследование продуктов производится для определения их обсемененности бактериями ботулизма и пригодности для производства консервированных продуктов. Образцы свежей, соленой, копченой рыбы, балыков, ветчины, колбасы и других продуктов должны быть весом около 200—250 г. Консервы, главным образом давшие бомбаж, берутся отдельными коробками. Коробки перед посевом моют горячей водой с мылом, обжигают горящим спиртом и стерильно вскрывают, из них засевают продукты и имеющийся соус. Образцы надо брать в местах, вызывающих сомнение в доброкачественности продукта. Из середины каждого образца стерильно вырезают кусочки, размельчают и по 20—25 г засевают в 200—250 мл среды. Для обнаружения ботулинических токсинов в пищевом продукте его берут на исследование в подозрительных местах по органолептическим показаниям в количестве 20—25 г. Если продукт соленый, его растирают в стерильной ступке с двойным объемом дистиллированной воды или физиологического раствора и оставляют при комнатной температуре па 2 часа для экстрагирования токсина, после этого ставят реакцию.

Выделение микробов ботулизма из почвы представляет значительные трудности. Почва для исследования берется на глубине 5— 10 см в количество 100—150 г в стерильную посуду, закрытую резиновой или притертой пробкой, и хранится в прохладном месте. Для навески почвы одного образца по 20—25 г размельчают в стерильных ступках с двумя объемами физиологического раствора. Суспензию одной навески засевают во флакон или колбу с 200— 250 млсреды, не прогревая. Другую навеску в колбе прогревают на водяной бане при 80° в течение часа. Если хотят убить в почве споры всех слабоустойчивых к температуре бактерий, то суспензию нагревают при 100° в течение 10—20 мин. и после этого засевают на 200—250 мл среды. Из посевов почвы в дальнейшем изучаются только то, культуральная жидкость которых убивает мышь в дозе 0,1—0,25 мл, а морскую свинку — 2,3—3,0 мл.

Посевы исследуемого материала изучают бактериоскопически через 2—3 суток и при обнаружении подозрительных бактерий ставят с культуральной жидкостью на 2—4мышах предварительную реакцию нейтрализации с поливалентной ботулинической диагностической сывороткой. Одной или двум мышам вводят подкожно 1.0 мл культуральной жидкости, смешанной с 1,0 ммполивалентной сыворотки, содержащей по 100—500 АЕ антитоксина каждого типа. Окончательное заключение о присутствии токсинов в посевах делается на 6—10 сутки. Выделение чистой культуры производят из посева гретого и нагретого материала. В первых посевах бактерии в чистой культуре могут оказаться нетоксигенными. Необходимы многократные пересевы их на различных средах для подбора наиболее оптимальной среды для токсинообразования. Если в посевах имеется ботулинический токсин, в первых генерациях не следует производить полную очистку штамма от сопутствующих бактерий; это может привести к потере токсигенности. Выделение чистой культуры типов С, U u Е представляет большие "трудности.

Биологическую пробу и реакцию нейтрализации со специфическими диагностическими сыворотками типов А, В, С, D и Е обычно ставят на мышах и морских спинках. Экстракты из исследуемого материала делят на 2 части. Одну из них кипятят в водяной бане в течение 20—30 мин. для разрушения токсина. Постановка биологической пробы является ориентировочным исследованием и сводится к тому, что каждый образец кипяченой и некипяченой жидкости вводят двум мышам внутривенно по 0,5 или подкожно по 1,0 мл.Двум морским свинкам (весом по 300—350 г) вводят подкожно по 2—5 мл жидкости — одной свинке кипяченую жидкость, а другой — некипяченую. Если в жидкости содержится ботулинический токсин, животные, получившие некипяченую жидкость, погибают, а получившие кипяченую — остаются живыми.

Заключение о присутствии ботулинического токсина в каком-либо субстрате можно сделать только на основании реакции нейтрализации. Берут 6 Пробирок, в каждую наливают по 1,0 мл исследуемой жидкости, затем в пробирки вносят по 1 мл сыворотки: в первую — типа А, во вторую — В, в третью — С, в четвертую — D, в пятую — Е, в шестую, контрольную пробирку, добавляют 1 мл физиологического раствора. Перед прибавлением сыворотку разводят физиологическим раствором до содержания 100—200 АЕ в 1 мл. После добавления сыворотки пробирки слегка встряхивают, и смесь оставляют на 30— 40 мин. на столе или ставят в термостат при 37° для нейтрализации токсина. Смесь жидкости и сыворотки каждого тина вводят двум мышам внутривенно по 0,5 мл или по 1 мл подкожно. При наличии токсина погибают контрольные мыши, получившие одну жидкость. Остаются живыми лишь те мыши, которые получили жидкость с нейтрализованным токсином, что позволяет определить типовую его принадлежность. Для постановки этой реакции на морских свинках в каждую пробирку вносят по 4 млжидкости и для нейтрализации токсина по 4 мл сыворотки, животным вводят подкожно по 6 мл этой смеси. Окончательный учет результатов реакции производят на 4—5-й день. Видовая и типовая принадлежность нетоксичных чистых штаммов бактерий ботулизма может быть ориентировочно определена с помощью реакции агглютинациис сывороткой типов А, В, С, D и Е.