

В.С. Копча, А.М. Бондаренко

СУЧАСНА ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА БОТУЛІЗМ

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, КП «Криворізька міська клінічна лікарня № 2» КМР, КП «Криворізький Центр здоров'я» КМР

Проект методичних рекомендацій складений з урахуванням сучасних відомостей про клінічні прояви харчового, ранового, ятрогенного, інгаляційного ботулізму та хвороби у немовлят. Клінічна картина харчового, ранового, ятрогенного, інгаляційного та «дитячого» ботулізму подібна й зводиться до білатерального паралічу черепних нервів; диспепсичних проявів; респіраторної дисфункції; відсутності гарячки, сплутаності свідомості, загальмованості, порушення чутливості.

Наведено об'єктивні прояви при фізикальному обстеженні, методи лабораторної діагностики. Виділено фактори ризику захворювання. Стандартна лабораторна діагностика ботулізму ґрунтується на виявленні токсину у сироватці, шлунковому секреті, калі та зразках продуктів харчування шляхом постановки біологічної проби на мишах, зрідка – бактеріологічного та електрофізіологічного дослідження, імуноферментного аналізу, полімеразно-ланцюгової реакції.

Детально проаналізовано лікування хворих на різні клінічні форми ботулізму. Враховуючи відсутність вітчизняних імунобіологічних препаратів, зібрано відомості про протиботулінічні препарати різних виробників, що дозволяє використати доступні у конкретних умовах зарубіжні препарати. Розглянуто різні способи уникнення тяжких ускладнень після антитоксичної терапії.

Обговорено перспективу використання ефективних і безпечних вакцин від ботулізму.

Ключові слова: ботулізм, клінічна картина, діагностика, лікування, антитоксична сироватка, біологічна зброя.

Ботулізм – гостра інфекційна хвороба, спричинена ботулінічним нейротоксином – найсильнішою біологічною отрутою, що в анаеробних умовах продукується *Clostridium botulinum* і переважно супроводжується розвитком офтальмоплегічного й бульбарного синдромів, які проявляються периферичними парезами та паралічами, в тому числі дихальної мускулатури.

C. botulinum – велика грам-позитивна паличка, суворий анаероб, у зв'язку з чим у довкіллі переважно існує у формі спор. Вид *C. botulinum* поділяється на 4 генетично різні групи, які мають спільну здатність продукувати ботулотоксин [1]. *C. botulinum* продукує сім серологічно різних нейротоксинів, що називаються літерами від А до Г. Захворювання людини пов'язане з токсинами типу А, В, Е і, рідше, F. Токсини є цинк-специфічними металопротеїназами, [2] які характеризуються наявністю важких ланцюгів (100 кД) та легких ланцюгів (50 кД), що з'єднані одинарним дисульфідним зв'язком [3].

Спори *C. botulinum* виявляють у зразках ґрунту та морських відкладеннях по всьому світу. [4]. Ці спори можуть протягом декількох годин переносити температуру 100 °С за тиску 1 атм. З ґрунту вони потрапляють у воду, на фрукти й овочі, у харчові продукти, фураж, а потім – до кишечнику домашніх і диких тварин, водоплавних птахів, риб і людини.

Основним резервуаром збудника є теплокровні тварини (переважно травоядні), люди, рідше холоднокровні (риби, ракоподібні, молюски). У кишечнику цих істот спори перетворюються у вегетативні форми, однак це не супроводжується утворенням токсину. Виняток – діти до року, переважно від 2 до 6 міс., у зв'язку з чим виділяють окрему клінічну форму – ботулізм новонароджених.

Найчастішою формою є харчовий ботулізм (класична форма), коли токсин разом з їжею потрапляє в кишечник людини. Єдиним варіантом такого розвитку подій є створення тривалих анаеробних умов і рН 4,8-8,5 при зберіганні продуктів харчування, наприклад, їх консервування у побутових умовах. Крім того, окремі продукти можуть контамінуватися спорами збудника, а в силу особливостей приготування припиняється доступ кисню, що уможлиблює розмноження вегетативних форм і токсиноутворення, наприклад, при коптінні чи в'яленні слабкосоленої риби, ковбаси, консервуванні грибів. Найбільш популярне домашнє консервування продуктів

у південній та східній Європі, що й зумовлює найчастішу реєстрацію хвороби саме у цих регіонах. Значно рідше трапляється ятрогенний ботулізм, при використанні ботулотоксину (ботоксу) в косметологічній практиці. У виняткових умовах спорами *C. botulinum* контамінуються рани: при споживанні «чорного» героїну, у новонароджених, при гемотрансфузіях і трансплантації тканин. Окремо виділяють інгаляційний ботулізм, що може виникнути передусім у результаті терористичної атаки.

У разі харчового ботулізму можливі не тільки поодинокі випадки хвороби, але й групові, «сімейні» спалахи. У зв'язку з «гніздовим» розподілом токсину в харчових продуктах захворюють не всі, хто вживав забруднений токсином продукт.

Сприйнятливість людей до ботулізму дуже висока, захворіти можна в будь-якому віці, а також можливі повторні захворювання.

Розгорнута клінічна картина захворювання не залежить ні від епідеміологічних особливостей, ні від антигенної структури токсину. Часто особливо тяжко перебігає захворювання, зумовлене *C. botulinum* типу А, на частку якого припадає максимальна кількість летальних вислідів [5].

Клінічно ботулізм є результатом потрапляння ботулотоксину у системний кровоплин і подальшого пригнічення вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних нервових закінчень. Токсин потрапляє у кровоплин крізь слизові оболонки (аліментарним або інгаляційним шляхом) або через порушення цілісності шкіри (рановий або ятрогенний шлях). У немовлят абсорбція виникає на фоні відсутності конкуруючої нормальної мікрофлори [6]. Після абсорбції у кровоплин токсин потрапляє до синапсів периферичних і черепних нервів. Важкий ланцюг сприяє зв'язуванню токсину з пресинаптичними рецепторами, що забезпечує рецептор-опосередкований ендоцитоз [7].

Вивільнення ацетилхоліну у нервово-м'язовому з'єднанні опосередковане синаптичним зливним комплексом. Цей комплекс складається із 3 розчинних білкових рецепторів злиття (SNARE білки). Легкі ланцюги токсину пригнічують вивільнення пухирців шляхом розщеплення пептидних зв'язків цих SNARE білків [8]. Нейротоксини В, D, F та G розщеплюють синаптобrevін [9]. Токсини А, С та Е розщеплюють синаптосомально-асоційований білок (SNAP)-25 [3]. Токсин С впливає на синтаксин. Унаслідок цього стимуляція пресинаптичних клітин не викликає вивільнення трансмітеру, що призводить до рухових паралічів або автономної дисфункції у випадку ураження закінчень парасимпатичних нервів чи автономних гангліїв.

Існує декілька типів ботулінічного токсину (А, В, С₁, С₂, D, Е, F, G), які розрізняються за імунними та хіміч-

ними властивостями. Ботулотоксин не має смаку, кольору, запаху і вважається найскладнішим білком, який здатний синтезувати живий організм. Його маса відповідає верхній межі можливої маси білка і становить близько 150 000 атомних одиниць мас, що в три рази перевищує середній розмір звичайного білкового ланцюга.

У природі немає більш токсичної речовини. Найотруйніша штучно синтезована речовина – діоксид – в 70 000 разів слабша від ботулотоксину. Середня летальна доза (LD₅₀) для типу А становить 0,001 мкг/кг, але найбільш токсичним вважається тип D (LD₅₀ = 0,0004 мкг/кг маси). Не так давно на фармацевтичному ринку з'явилися препарати ботулотоксину типу В. Інші типи токсину в медицині поки не застосовуються, але в експериментах вже ведуться дослідження з використання типів С і F. Нині вивчення ботулінічного токсину типу А проводиться дерматологами, отоларингологами, офтальмологами, неврологами, проктологами, урологами, гінекологами, гастроентерологами і, звичайно, косметологами і пластичними хірургами. Не можна скидати з уваги реальну можливість використання ботулотоксинів як біологічної зброї чи засобів біотероризму.

Визначальне значення у лікуванні хворих на ботулізм належить специфічній антитоксичній терапії. Та, на жаль, сьогодні в Україні немає власного виробництва протиботулінічних антитоксинів. Така ситуація призвела до того, що в практичному секторі медицини ми вимушені використовувати протиботулінічні антитоксичні препарати різних виробників, які мають офіційну тимчасову, або постійну реєстрацію в країні. Як правило, тимчасову реєстрацію мають препарати, які поставляються нам у вигляді разової гуманітарної екстреної допомоги, а тому мають разову обмежену в часі ліцензію для цієї партії препарату, який після закінчення її дії вже не може використовуватися. Але й постійна реєстрація також має тимчасові обмеження і після закінчення терміну дії ліцензія може бути просто не продовжена, оскільки, згідно з діючою на сьогодні в Україні нормативно-правовою базою, процедура ліцензування достатньо дорога і проводиться за рахунок виробника або постачальника лікарського засобу. Враховуючи те, що потреба у протиботулінічних антитоксичних препаратах, навіть в умовах досить високого рівня захворюваності в Україні, незначна, а також неминучі економічні витрати виробника або постачальника, пов'язані з офіційною реєстрацією їх продукції, такі постачання в нашу країну стають ненадійними. Ця ситуація дуже схожа з проблемами постачання і реєстрації в Україні інших імунобіологічних, а також протималарійних препаратів, які також не мають достатньо широкого ринку для збуту.

Таким чином, у ситуації, що склалася, ми маємо бути готовими до використання антитоксичних протиботулінічних препаратів різних виробників. Але зазначені засоби дуже відрізняються за активністю, вмістом, набором (якщо вони полівалентні) та концентрацією антитоксинів, і найважливіше – нерідко кардинально різняться підходами до дозування антитоксинів та способами встановлення чутливості до гетерогенних білків, технічними прийомами десенсибілізації у разі гіперчутливості до них.

Натепер в Україні немає жодного офіційно діючого наказу МОЗ або офіційного клінічного протоколу з лікування ботулізму. Саме така ситуація, а також необхідність у короткостроковій перспективі використовувати антитоксичні препарати різних виробників створює серйозні юридичні труднощі в терапії таких хворих.

У чому полягає ця складність? Зараз в Україні офіційно зареєстрований тільки один препарат – «Ботулінічний антитоксин гептавалентний (A, B, C, D, E, F, G) – (кінський)» виробництва «Cangene Corporation, a subsidiary of Emergent BioSolutions Inc.» (Winnipeg, Manitoba, Canada), UA/17302/01/01, наказ МОЗ № 753 від 05.04.2019. За даними інформаційної бази «Державний реєстр лікарських засобів України», термін реєстрації препарату – з 14.03.2019 по 31.03.2020 р. Отже, термін реєстрації дуже короткий і вже в квітні 2020 р. ми знову залишимося без зареєстрованого антитоксину або знову буде змінений виробник, а, отже, – методи й підходи до антитоксичної терапії ботулізму.

Зазначимо, що із січня 2014 р., згідно з даними «Державного реєстру лікарських засобів України» за пошуком «МНН» (Міжнародне непатентоване найменування) «Botulinum antitoxin», а також іншими його синонімами у вигляді пошукових «слів-операторів», жодних даних про протиботулінічні антитоксичні препарати не знайдений. Таким чином, фактично із січня 2014 по січень 2019 р. в Україні не було офіційно зареєстровано жодного подібного препарату.

Нині виникла юридична колізія, яка полягає в тому, що за відсутності національних клінічних протоколів і/або офіційних наказів МОЗ України, що офіційно регламентують способи і методи терапії хворих на ботулізм, офіційним нормативним документом, що визначає алгоритм лікування, є інструкція до препарату, офіційно затверджена в «Державному реєстрі лікарських засобів України» відповідним наказом МОЗ України. Таким чином, затверджена інструкція вже зареєстрованого препарату фактично і є офіційно діючим клінічним протоколом в терапії ботулізму. Але якщо їх зареєстровано не один, а декілька і всі передбачають різні методичні підходи до терапії? Як діяти в цій ситуації?

На жаль, практика свідчить про те, що сліпе дотримання інструкції в терапії хворого далеко не завжди забезпечує сприятливий результат та уникає побічних ефектів і ускладнень.

Раніше МОЗ офіційно заявляло, що вже підготовлені документи для ухвалення відповідних законів, постанов КМУ і наказів МОЗ відносно вільного використання незареєстрованих в Україні препаратів і клінічних протоколів. Якщо вони мають міжнародну реєстрацію і/або мають реєстрацію в країнах Євросоюзу, США і країнах G7 і/або G20. Та сьогодні ці обіцянки так і залишилися на рівні заяв і намірів, а в країні, як і раніше, діє стара і недосконала нормативно-правова база.

Аби виправити ситуацію, що склалася, й зорієнтувати лікаря, якому випадіє потреба надавати медичну допомогу хворому на ботулізм, автори склали методичні рекомендації, покликані систематизувати наявну медичну інформацію про ботулізм, що дасть змогу практикуючому лікарю вчасно зорієнтуватися у хитросплетінні клінічних проявів цієї хвороби, запропонувати необхідне обстеження, правильно його інтерпретувати, призначити адекватне лікування та уникнути ускладнень.

Методичні рекомендації складені з урахуванням сучасних даних літератури, власних досліджень і практичного досвіду авторів. Призначені для інфекціоністів, анестезіологів-реаніматологів, сімейних лікарів, неврологів, а також лікарів приватних медичних закладів. В Україні видаються вперше.

ДІАГНОСТИКА БОТУЛІЗМУ

Клінічні прояви

- Ключові фактори ризику включають споживання контамінованої їжі, вік до 2 років і біологічний тероризм.

Хоча ботулотоксин може досягати нервово-м'язового з'єднання декількома шляхами (аліментарним, рановим, ятрогенним або інгаляційним), часто клінічна картина у кожному з випадків не відрізняється.

Харчовий ботулізм

- Білатеральний параліч черепних нервів (слабкість окулобульбарних м'язів – нечіткий зір та диплопія, порушення акомодатції, птоз у зв'язку з паралічем III, IV та VI пар черепних нервів; слабкість під'язикових м'язів, дизартрія й дисфагія у зв'язку з паралічем IX, X та XII пар черепних нервів) протягом 2-36 год після споживання контамінованих харчових продуктів, після чого розвивається симетричний, низхідний периферичний параліч – уражаються м'язи шиї, плечей та верхніх кінцівок, після чого – проксимальні та дистальні м'язи нижніх кінцівок. Наявні спочатку глибокі сухожилкові рефлексії через декілька днів знижуються або зникають. Унаслідок

слабкості діафрагми та додаткових дихальних м'язів може виникати респіраторна дисфункція [10].

Нудота, блювання та діарея (може виникати на ранніх стадіях хвороби), хоча ці симптоми часто пов'язані з випадковими некlostридійними патогенами [11].

Подібно до інших бактерійних екзотоксикозів, уражені пацієнти не мають гарячки, сплутаності свідомості, загальмованості, порушення чутливості.

Дисфункція автономної нервової системи може проявлятися гіпотермією, затримкою сечі, сухістю у роті та горлі, ортостатичною гіпотензією та закрепамі.

Відносно нечастими проявами можуть бути:

- розширення зіниць – мідріаз (буває у <50 % випадків [11]);
- респіраторна дисфункція унаслідок обструкції верхніх дихальних шляхів – фарингеальний колапс у зв'язку з ураженням черепних нервів, або слабкості діафрагми та додаткової мускулатури.

Відсутність зазначених нечастих ознак не знижує ймовірність ботулізму.

Ботулізм немовлят

Слабкість бульбарних м'язів або м'язів кінцівок проявляється у немовлят труднощами під час годування, ослабленим плачем, птозом, гіпотонією, затримкою сечовипускання, що може бути проявом вегетативної дисфункції.

У 95 % характеризується закрепамі [12].

Рановий ботулізм

Проявляється такими ж неврологічними ознаками, що й при харчовій формі недуги за відсутності гастроінтестинального продрому та довшого інкубаційного періоду (4-14 діб) [1].

Ятрогенний ботулізм

Проявляється такими ж неврологічними ознаками, що й при харчовій формі недуги за відсутності гастроінтестинального продрому.

Інгаляційний ботулізм

Розроблені технології бойового призначення ботулотоксину (біологічна зброя) для знищення живої сили супротивника. Так, ботулотоксин типу А був прийнятий на озброєння під шифром XR і може застосовуватися передусім для зараження приземного шару атмосфери порошкоподібним препаратом з генераторів аерозолів або гелеподібними токсинними рецептурами з дисперсійних бойових приладів авіації.

Для штучного отримання ботулотоксинів *Clostridium botulinum* культивують без доступу повітря при температурі 30-38 °C на стерилізованому живильному середовищі, що є водною суспензією рибного або кукурудзяного борошна з додаванням необхідних мікроелементів і відповідного рН. За допомогою бактерійних фільтрів з культурального середовища виділяють розчин з ботулотоксинами. Екзотоксин осаджують з фільтрату 20 % NaCl або 0,3-0,4 % гелем поліфосфату натрію з наступним відбором токсину-сирцю центрифугуванням. Далі очищення здійснюють шляхом екстракції буферним розчином з рН=6,5 з наступним осадженням етанолом при температурі 10-12 °C або гельфільтрацією. Нейротропний α-токсин відділяється від гемаглютинуючого β-токсину при рН≥7,5. При багаторазовому повторенні цих операцій очищення отримують аморфний або кристалічний (безбарвні голкоподібні кристали) ботулотоксин необхідного рівня чистоти.

Токсичність різних серотипів ботулотоксинів наведена в таблиці.

Токсичність ботулотоксинів

| Серотип | A | B | C | D | E | F | G |
|-------------|-----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| LD50 мг/кг* | $4,25 \times 10^{-7}$ | $4,4 \times 10^{-7}$ | $2,0 \times 10^{-6}$ | 6×10^{-7} | $1,04 \times 10^{-5}$ | $1,2 \times 10^{-6}$ | $1,0 \times 10^{-6}$ |

* – LD50 для миші масою 20 г при внутрішньоочеревинному введенні.

Відносна токсичність при інгаляції для людини LD₅₀ становить 0,00002 мг/л×хв для сухого XR і 0,0001 мг/л×хв – для його рецептур. Період прихованої дії становить декілька годин, летальний вислід може настати протягом 1-3 діб. Аерозоль не втрачає уражаючих властивостей в повітрі до 12 год. Підшкірні токсичні дози для людини (орієнтовно) LD₅₀ становлять 2×10^{-6} – 4×10^{-5} мг/кг або 2×10^{-3} – 4×10^{-2} мкг/кг або для людини масою 80 кг – 0,16-3,2 мкг. При зараженні XR питної води пероральна токсодоза XR LD₅₀ для людини рівна $5,7 \times 10^{-5}$ мг/кг. Смертельна доза ботулотоксину для людини при аліментарному способі дії становить близько 50 нг/кг. Най-

більшу токсичність ботулотоксин має при проникненні в макроорганізм через ранові поверхні (LD₅₀ <1 нг/кг).

Це чітко ілюструє, що XR – найтоксичніша з усіх відомих на сьогодні бойових отруйних речовин природного і синтетичного походження. Смертність при ураженні XR може досягати 90 %.

XR – дрібний порошок сірого кольору без смаку й запаху, гігроскопічний, у воді, водних розчинах солей і кислот (рН=2-7) утворює стабільні ліофільні гелі з концентрацією XR 1,0-2,5 г/л. У сухому вигляді стійкий до прямого сонячного світла при температурі від -30 до +50 °C і стійкий до гнильних бактерій. У темряві при

низькій температурі та в безкисневій атмосфері може зберігатися протягом декількох років. Зберігання XR можливе також у вигляді токсинних рецептур – кислих ліофільних гелів з додаванням консервантів (білків і полісахаридів). Терміни зберігання рецептур у темряві при температурі 0-4 °С – до 13 років.

Деактивація XR може бути забезпечена водними розчинами хлорвмісних окисників із вмістом активного хлору 100-350 мг/л (0,1-0,2 % розчинами хлорамінів або гіпохлоритів). Найшвидше й ефективно XR дезактивують розчинами формальдегіду. Так, після обробки поверхонь з XR 10-40 % розчином формаліну токсичність знижується на 99 % протягом 1 хв.

По дію ультрафіолетового опромінення XR флюоресціює. Це дозволяє проводити інструментальну його детекцію. Та, попри це, сьогодні виявлення XR ускладнене, оскільки зовнішні ознак його використання, як правило, немає, а достовірна індикація можлива тільки при застосуванні імунобіологічних тестів, що вимагає часових витрат.

Найбільш небезпечне застосування XR у вигляді аерозолі, оскільки токсин добре всмоктується з усіх відкритих слизових оболонок і передусім – верхніх дихальних шляхів.

Відомо, що при витраті XR 5-6 кг/км² утворюється хмара аерозолі з глибиною поширення й уражаючої дії до 6 км. На цій площі створюється концентрація ботулотоксину, яка знищує або виводить з ладу 50 % живої сили супротивника, який не вдався до заходів відповідного захисту, протягом всього 1 хв. Уражаюча дія аерозолі XR зберігається до 12 год. Дуже висока небезпека застосування XR як диверсійного засобу для отруєння води, продовольства і фуражу. Так, за оцінкою ВООЗ для отруєння джерела води, розрахованого на 50 тис. людей, достатньо 140 г XR. Якщо протягом 24 год не будуть здійснені заходи для дезактивації у воді XR і не буде організована медична допомога її споживачам, смертність від застосування цього засобу досягне 80 %. Але навіть якщо антитоксична терапія буде проведена відразу при виявленні ознак ботулізму всього у 5-10 % уражених, смертність знизиться лише до 50 %.

Захист від XR при аерозольному застосуванні надійно забезпечується проти газами і навіть респіраторами. Захистом від XR може бути дезактивація токсинів водними розчинами формальдегіду й речовинами окислювально-хлоруючої дії.

Але найефективнішим методом захисту є профілактична імунізація у вигляді вакцинації анатоксинами. Але необхідно враховувати те, 10-30 % вакцинованих нездатні створити активний і достатній антитоксичний

протиботулінічний імунітет. Крім того, для створення протективного імунітету також необхідно не менше 4 тиж після початку вакцинації [13].

При отруєнні XR прихований період може становити від декількох до 24-36 год. Тривалість цього періоду залежить від шляху попадання XR в організм та отриманої дози. Найкоротший прихований період при рановому ураженні.

У клінічній картині отруєння XR виділяють загальнотоксичний, гастроінтестинальний і паралітичний синдроми. Їх наявність, інтенсивність, швидкість розвитку і тривалість зумовлені способом надходження XR в макроорганізм і його дозою. Основними проявами інтоксикації XR є класична «очна» симптоматика, вегетативні розлади, пов'язані з порушенням ацетилхолінової рецепції, і поступий розвиток парезу або паралічу попереочно-смуғастої мускулатури. Тобто це «класична» симптоматика, але з фактично швидшою динамікою, тяжчим станом хворого і розладами дихання, що також залежно від шляху попадання й дози XR може закінчитися смертю від декількох годин до 10 діб [5, 13].

Фізикальне обстеження

Ранні ознаки:

- слабкість окулобульбарних м'язів;
- порушення акомодатції і птоз виникають унаслідок паралічу III, IV та VI пар черепних нервів;
- слабкість під'язикових м'язів є ознакою ураження IX, X та XII пар черепних нервів.

Пізні ознаки:

- низхідний симетричний параліч уражає м'язи шиї, плечей і верхніх кінцівок, після чого – проксимальні та дистальні м'язи нижніх кінцівок;
- наявні спочатку глибокі сухожилкові рефлекси через декілька діб знижуються або зникають;
- респіраторна дисфункція може бути спричинена слабкістю діафрагми та додаткової мускулатури (фарингеальний колапс у зв'язку з ураженням черепних нервів), або обструкцією верхніх дихальних шляхів;
- розширення зіниць спостерігається у <50 % випадків [11]. Відсутність цієї ознаки не знижує ймовірності ботулізму.

Лабораторна діагностика

Стандартна діагностика ботулізму ґрунтується на виявленні токсину у сироватці, шлунковому секреті, калі хворого та зразках продуктів харчування.

Біологічна проба на мишах

Ця проба є найчутливішим способом виявлення ботулотоксину і здійснюється усім пацієнтам з підозрою на ботулізм.

Сироватка, секрет шлунка, випорожнення, зразки харчових продуктів розводять у фосфатному буфері та вводять у черевну порожнину лабораторних мишей. Потім мишей спостерігають на предмет розвитку ботуліноподібних симптомів: скуйовджена шерсть, м'язова слабкість і дихальна недостатність. Тип токсину можна визначити шляхом ін'єкції інфікованим мишам типоспецифічного ботулінічного антитоксину. Симптомів ботулізму немає в інфікованих мишей, що отримали відповідний антитоксин. Підтвердження і типування токсину успішне майже у 75 % випадків [14].

Бактеріологічне дослідження

Його здійснюють лише у випадках харчового ботулізму та ботулізму немовлят. Використовують зразки харчових продуктів, аспірату шлунку або фекалій пацієнтів.

Для дослідження необхідна наявність анаеростата. Однак і за таких обставин конкуруюча флора фекалій або нетоксигенні штами *C. botulinum* можуть ускладнити виділення патогену.

Посів здійснюють на жовткове середовище. Вирослі колонії мають неправильні контури. Колонії *C. botulinum* типу С, D та Е оточені широкою зоною (2-4 мм) преципітації жовтого кольору, тоді як у колоній типів А та В ця зона менша. Інші представники роду *Clostridium* формують колонії з подібними морфологічними характеристиками, але не продукують токсини. Загальна чутливість бактеріологічного дослідження становить 67-73 % [15].

Електрофізіологічне дослідження

Оскільки це дослідження дуже некомфортне для пацієнта, то його здійснюють лише у разі наявності клінічного синдрому, що нагадує ботулізм, однак біологічна проба на ботулотоксин і результати бактеріологічного дослідження випорожнень негативні [16].

Результати:

- низькі викликані м'язові потенціали дії у відповідь на супрамаксимальну стимуляцію нерва клінічно ураженого м'яза;
- чутливість не порушена;
- нормальна швидкість проведення рухових імпульсів;
- у 85 % випадків знижена амплітуда електрично викликані відповіді м'яза;
- повторні стимуляції нерва з високою частотою (>20 Гц) можуть виявити невелике збільшення інтенсивності моторної відповіді;
- посттетанічна фасилітація (ПТФ) у випадку ботулізму спостерігається на рівні 30-100 % і може тривати декілька хвилин (у разі міастенічного синдрому Ламберта-Ітона ПТФ становить 200 % чи більше, але триває 30-60 с).

Нові методи дослідження для виявлення харчового ботулізму:

- імуноферментний аналіз (ELISA) може підтвердити наявність ботулотоксину у зразках продуктів харчування (філе риби, консервованій лосось і солонина, макаронні вироби та консервовані овочі) [17, 18]. Однак цінність ІФА обмежена наявністю ендогенних протеїназ, що містяться у продуктах харчування (ячний жовток, молоко) та клінічних зразках (сироватка крові або фекалії);
- полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР) може відігравати роль швидкого методу діагностики, однак клітинні компоненти клінічних і харчових зразків можуть обмежувати чутливість [19]. Суттєве підвищення чутливості можна досягти за допомогою екстрагування ДНК, але процес може бути трудомістким і потребувати багато часу.

Фактори ризику захворювання

Сильні

- Вживання контамінованої їжі. До потенційних харчових джерел належать консервовані в домашніх умовах овочі, фрукти, гриби і рибні продукти [20-22].

Ботулізм дітей до 1 року зумовлений токсинами типу А, В та F. У США він є найпоширенішою формою, яка щорічно виникає у 80-100 пацієнтів [10]. Інфекція виникає унаслідок всмоктування токсину, який *C. botulinum* продукує *in situ*. Мікроорганізм колонізує кишківник немовлят віком від 6 днів до 12 міс. за відсутності конкуруючої нормальної флори, яку виявляють у старших дітей та дорослих [6]. Завдяки мікросередовищу травного каналу немовлят спожиті всередину спори здатні проростати, а бактерії потім можуть продукувати токсин. У дорослих спори проростати не можуть.

Ботулізм немовлят часто пов'язаний із споживанням меду. Також підтверджені й інші джерела, зокрема, контамінований ґрунт.

- Біологічний тероризм. Умисне застосування ботулотоксину слід підозрювати, якщо спостерігається велика кількість пацієнтів із гострим в'ялим паралічем і вираженим бульбарним паралічем. Нетипові типи токсину (наприклад, С, D, F або G) чи симптоми серед групи осіб, які одночасно перебували на одній і тій же території, можуть вказувати на акт біотероризму.

Слабкі

- Споживання меду чи проковтування ґрунту немовлятами.
- Вживання ін'єкційних наркотиків. Контамінація «чорного» героїну під час приготування призводить до розвитку інфекції, особливо у пацієнтів, які вводять його підшкірно (ін'єкція наркотика у тканини, а не у вену) [23].

- Травма із розчавленням тканин. Хвороба може бути спричинена токсинами А чи В і є результатом контамінації рани спорами *C. botulinum*. Подальший розвиток мікроорганізму та утворення токсину призводить до формування абсцесу та розвитку клінічного синдрому, що подібний на харчову форму захворювання.

- Анатомічний дефект кишечника. У рідкісних випадках спостерігається колонізація і подальше інфікування дорослих осіб токсин-продукуючою *C. botulinum*, що призводить до шлунково-кишкового захворювання. Дорослі з групи ризику включають осіб без індигенної флори кишечника через анатомічні аномалії (наприклад, дивертикул Мекеля), функціональні недуги або застосування антибіотиків.

- Застосування ботулотоксину з терапевтичною або косметичною метою. Рідкісні випадки ятрогенного ботулізму були зафіксовані у дітей після терапевтичного застосування токсину типу В при лікуванні спастичних тетрапарезів [24] і використанні токсину типу А з метою зменшення дистонії, пов'язаної з церебральним паралічем [25]. Крім того, випадки ятрогенного ботулізму були зафіксовані при застосуванні ботулотоксину типу А з косметичною метою [26].

- Контакт з рептиліями (передусім з черепахами [5, 27]).

ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА БОТУЛІЗМ

При ботулізмі, незалежно від термінів і варіантів перебігу хвороби, тяжкості стану хворого, терапія завжди має бути невідкладною і спостерігатися такі хворі повинні або на базі відділення реанімації та інтенсивної терапії, або в палатах інтенсивної терапії профільних клінічних відділень. Такі хворі потребують постійного динамічного спостереження з неодмінною готовністю в разі потреби здійснити екстрену дихальну реанімацію з переведенням на ШВЛ.

«Харчовий», «рановий», «дитячий» ботулізм»

Незалежно від термінів хвороби, тяжкості стану хворого, вже на догоспітальному етапі таким пацієнтам потрібне промивання шлунку. Спочатку його здійснюють звичайною кип'яченою водою з метою забору матеріалу для лабораторних досліджень. Потім задля інактивації ботулотоксину подальше промивання проводять 2-5 % розчином натрію гідрокарбонату (харчової соди). Навіть у разі порушення ковтання і при переведенні хворого на ШВЛ промивання шлунку потрібне, але роблять його у край обережно, щоб не викликати аспірацію залишками їжі або промивними водами, оскільки це практично завжди ускладнюється аспіраційними пневмоніями з тяжким і у край тяжким перебігом, що неминуче істотно підвищує рівень летальності у таких осіб. Якщо ковтан-

ня не порушене і у хворого збережений блювотний рефлекс, то промивання шлунку проводять механічним способом, викликаючи у пацієнта блювоту. Також можна використовувати товстий шлунковий зонд. Якщо є порушення ковтання, то для промивання шлунку використовують тонкий шлунковий або тонкий назогастральний зонд. Промивання шлунку здійснюють до отримання чистих промивних вод. Після цього необхідно призначити всередину або ввести через зонд ентеросорбенти.

Проте слід зазначити, що промивання шлунку, особливо при високому ризику розвитку аспіраційної пневмонії (порушенні ковтання і дихання), може бути виправданим тільки у разі, коли попадання ботулотоксину в ТК (їжа з ботулотоксином) сталося порівняно недавно. З урахуванням часу перебування їжі в шлунку, цей часовий інтервал («порівняно недавно») становить 12-24 год і рідше – 48 год.

Для виведення та інактивації ботулотоксинів, які не всмокталися в ТК, хворому також здійснюють високі очисні клізми і також з 5 % розчином натрію гідрокарбонату, але тільки після відбору проб для лабораторних досліджень. За відсутності парезу кишечника можливе застосування сольових проносних засобів.

Дітям до 1 року промивання шлунку і/або кишечника не рекомендоване!

Етіотропна терапія

Етіотропна терапія обов'язкова при «харчовому» (екзогенному отруєнні ботулотоксинами), «дитячому» і «рановому» ботулізмі. Але підбір антибактерійних препаратів і їх цільове призначення при цих формах ботулізму різні. Так, при екзогенному отруєнні ботулотоксинами («харчовому» ботулізмі) потрібне пригнічення життєдіяльності вегетативних форм *C. botulinum* в ТК для запобігання або припинення синтезу ними ботулотоксинів. Для цього, з урахуванням локалізації збудника в ТК, найбільш оптимальне пероральне використання антибіотиків упродовж 5 діб:

- левоміцетину по 0,5 г 4 рази на добу, або
- ампіциліну по 0,75-1,0 г на добу, або
- тетрацикліну в середньотерапевтичних дозах упродовж 5 діб.

При «рановому» ботулізмі, а отже тканинній локалізації клостридій, антибіотики вводять парентерально (внутрішньом'язово і/або внутрішньовенно). Також, необхідною умовою, є хірургічна обробка рани з обов'язковою некректомією до здорової тканини, розтином і санацією рани, розкриттям рани і забезпеченням доступу кисню в неї.

При зазначеному варіанті хвороби використовують антибактерійні препарати, активні відносно анаеробних мікроорганізмів і з широким спектром дії. Для цього за-

стосовують високі дози пеніциліну або інших антибіотиків і метронідазол. Вибір саме цих препаратів обумовлений високою чутливістю *C. botulinum* саме до них. Так, до пеніциліну, ампіциліну і амоксициліну чутливі більше 96-100 % виділених *C. botulinum*. Пеніцилін застосовують в дозах 12 000-16 000 млн ОД/добу (з інтервалом між введеннями 3 год). Метронідазол у вигляді 0,5 % розчину (500 мг на 100 мл) вводять внутрішньовенно дорослим і дітям старше 12 років спочатку 15 мг/кг, потім – по 7,5 мг/кг кожні 6 год або по 500-750 мг кожні 8 год (3 рази на добу). Високою антибактерійною активністю відносно збудників володіють також цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон), фторхінолони (моксифлоксацин).

Протипоказані для застосування аміноглікозиди (у т. ч. стрептоміцин) і тетрациклін, оскільки вони можуть порушувати передачу нервових імпульсів у холінергічних синапсах.

Специфічна терапія

Специфічна антитоксична терапія, а саме вибір препаратів антитоксинів, їх дози, режим і шляхи введення при «харчовому» і «рановому» ботулізмі тотожні.

Проте, на відміну від «харчового» ботулізму, при «рановому» варіанті хвороби введення протиботулінічного антитоксину не має тимчасових обмежень і не залежить від термінів від початку хвороби, оскільки при цій формі здійснюється постійний ендогенний синтез і постійне ендогенне всмоктування ботулотоксину у кров і тканини хворого. Антитоксини необхідно вводити на будь-якому етапі хвороби. Але, як і у разі «харчового» ботулізму, чим раніше буде розпочата і проведена антитоксична (а при цій формі ботулізму і антибактерійна) терапія – тим вищою буде ефективність лікування.

Окрему групу становлять діти до 1 року. Незалежно від варіанту ботулізму, застосування гетерогенної (кінської) сироватки у цієї категорії дітей може бути використане, як правило, тільки за життєвими показаннями за відсутності протиботулінічного людського імуноглобуліну, відомого як BabyBIG™ (США). Це пов'язано з тим, що порівняно з людським імуноглобуліном (BabyBIG™) кінська сироватка має коротший період «напіврозпаду», нерідко стає причиною алергічних, у тому числі й анафілактичних реакцій, і довічної підвищеної чутливості до кінських білків. Тому препаратом вибору для дітей до 1 року, незалежно від варіанту ботулізму, є тільки протиботулінічний людський імуноглобулін, відомий як BabyBIG™ (США).

При «харчовому» ботулізмі найефективнішим є проведення антитоксичної терапії в перші 72 год (3 доби) після отруєння! Пізніше цього терміну введення антитоксинів може бути малоефективним! Щоправда це не означає, що необхідно відмовитися від пізнішого вве-

дення, оскільки відомо, що можлива рециркуляція ботулотоксину в системі «кишечник-кров».

Перспективним засобом специфічної антитоксичної терапії є лікувальна гомологічна плазма – людський протиботулінічний імуноглобулін – по 250 мл 1-2 рази на добу (по 1 000-10 250 АО – для типів А та Е і 1 000-5 250 АО – для типу В на курс). Але, на жаль, сьогодні таких препаратів немає.

Специфічна терапія у разі «дитячого» ботулізму наведена далі при описі препарату BabyBIG™ (США) людський імуноглобулін.

Ятрогенний ботулізм

Ятрогенне отруєння ботулотоксином обумовлене передозуванням комерційних фармакологічних препаратів: Botox cosmetic®, Dysport®, Xeomin®, що містять ботулотоксин типу А; а також Neurobloc® і Myobloc® (різні торгові марки одного і того ж препарату), до складу яких входить ботулотоксин типу В. Їх активність виражається в одиницях і для дозування також використовують одиниці активності. І це далеко не повний їх перелік на сьогодні. Так, наприклад, Botox® випускається у вигляді ліофілізованого порошку вмістом у кожному флаконі 100 або 200 од.; Dysport® – 300 або 500 од.; Xeomin® – 100 од.; Neurobloc®, що містить в 1 мл 5 000 од. (випускається в об'ємах 0,5, 1,0 і 2,0 мл); Myobloc®, що містить 5 000 од. (випускається в об'ємі 3,5 мл).

1 одиниця активності ботулотоксину цих препаратів (ботулотоксинів типу А) – еквівалентна одній LD₅₀ для мишей при внутрішньоочеревинному введенні.

Окремі виробники препаратів ботулотоксинів, наприклад, Neurobloc® і Myobloc®, вказують, що одиниці активності їх препаратів не є взаємозамінними з одиницями, використовуваними для вираження ефективності інших препаратів ботулотоксинів. Також виробники вказують на те, що ботулотоксини навіть одного типу, що входять до складу їх препаратів, не є ні ідентичними, ні взаємозамінними. Вони мають індивідуальні властивості й можуть мати відмінні клінічні показання для застосування.

Як вже було зазначено, для природного ботулінічного екзотоксину типу А одна LD₅₀ для мишей при внутрішньоочеревинному введенні становить $1,5 \times 10^{-6}$ мг/кг. Тоді 1 LD₅₀ для одної миші дорівнюватиме $1,5 \times 10^{-3} \times 30/1000 = 4,5 \times 10^{-5}$ мкг. Таким чином, 1 од. ботулотоксину типу А буде рівна за масою приблизно $4,5 \times 10^{-5}$ мкг.

Для дорослої людини середня LD₅₀ ботулотоксину типу А становить 0,001 мкг/кг (або 0,08-0,1 мкг).

Згідно з інструкціями до препаратів ботулотоксинів типу А, їх разова доза для парентерального введення

може становити від 50-300 до 500-1 000 од. У той же час, виходячи з інструкцій для препаратів ботулотоксинів типу В, максимальна практично безпечна разова доза становить 5 000-10 000 од. І тільки перевищення разової дози 15 000 од. може супроводжуватися побічними ефектами та ускладненнями.

Якщо врахувати рекомендовані дози для препаратів ботулотоксину типу А, то сумарно внутрішньоочеревинно введена LD_{50} для мишей також буде рівна від 50 до 1 000, а маса введеного токсину становитиме від $22,5 \times 10^{-4}$ мкг (50 од.) до $4,5 \times 10^{-2}$ мкг (1 000 од.) або $1/45 - 1/2 LD_{50}$ для дорослої людини.

Таким чином, ми можемо орієнтовно розрахувати дози введеного токсину і кількісно оцінити міру їх можливої летальності для людини, а також розрахувати дозу антитоксинів, необхідних для інактивації введених ботулотоксинів.

Нам відомо, що 1 МО протиботулінічного антитоксину нейтралізує 10 000 внутрішньоочеревинних мишачих LD_{50} ботулотоксину. Тому, знаючи дозу введеного препарату, його можна інактивувати відповідною кількістю антитоксину. Але при розрахунках ми отримуємо досить дивний результат. Так, для інактивації 1 000 од. ботулотоксину типу А (максимально рекомендованої разової дози фармакологічного препарату ботулотоксину типу А) або $1/2$ летальної дози для дорослої людини – потрібно всього 0,1 МО антитоксину!

Але, як відомо, навіть з профілактичною метою вводять не менше $1/2$ лікувальної дози антитоксину, що для антитоксичної протиботулінічної сироватки становить не більше 5 000 МО (з урахуванням препаратів різних виробників)!

Виходячи з цих даних, для терапії «ятрогенного» ботулізму з успіхом може бути використаний і препарат людського антитоксичного протиботулінічного імуноглобуліну BabyBIG™ (США), який через бівалентність (містить до 30 МО антитоксину до ботулотоксину типу А і не менше 8 МО – типу В) дозволяє інактивувати увесь спектр існуючих на сьогодні препаратів ботулотоксинів і нейтралізувати до 300 000 од. ботулотоксину типу А (3 000 флаконів Botox cosmetic®)!

Це складно пояснити, але можна припустити, що результати, отримані *in vitro*, часто не збігаються з даними, отриманими на практиці (*in vivo*).

Істотною відмінністю ятрогенного ботулізму від інших його форм, є те, що, як правило, відома сумарна доза введеного ботулотоксину і найважливіше – його тип!

Таким чином, завжди можна обмежитися введенням монопрепарату антитоксину або до типу А, або до типу В. Якщо їх немає, вводиться будь-який полівалентний препарат, що містить антитіла до обох серотипів ботулотоксинів.

Дозу антитоксину можна розрахувати за дозою введеного антитоксину. Також, з урахуванням наведених даних, можна орієнтуватися на максимально можливі рекомендовані разові й курсові дози комерційних фармакологічних препаратів ботулотоксинів.

На жаль, чітких рекомендацій стосовно специфічної антитоксичної терапії ятрогенного ботулізму в доступних інформаційних джерелах немає. Є тільки рекомендації, що у випадках ятрогенного ботулізму і дорослим, і дітям старше 1 року необхідно ввести антитоксичний препарат, який містить антитоксини до ботулотоксину типу А, В і Е. Дітям молодше 1 року вводиться BabyBIG™. Але дози, режими, шляхи і кратність введення не вказані.

Тому, виходячи з наведених даних, у випадках ятрогенного ботулізму у дорослих можна обмежитися одноразовим внутрішньом'язовим введенням (внутрішньовенно при тяжкому й украй тяжкому ступеню хвороби) $1/2-1$ «лікувальною» дозою моно- або полівалентної антитоксичної протиботулінічної сироватки (незалежно від виробника) або одноразовим введенням 1-2 доз при тяжкому і украй тяжкому ступеню хвороби. У дітей старше 1 року змінюється тільки об'єм (кількість) препарату. Режим дозування обирається за правилом Солсбері (наведене нижче).

Також у дітей старше 1 року і у дорослих, незалежно від віку і маси тіла, можливе введення препарату BabyBIG™ одноразово внутрішньовенно, що містить до 30 МО антитоксину до серотипу ботулотоксину А і не менше 8 МО – до серотипу В (1 флакон). Дітям молодше 1 року BabyBIG™ також вводиться одноразово і внутрішньовенно згідно з інструкцією і дозується за масою тіла.

Інтегральні рекомендації

Препарати є моновалентними і в 1 флаконі містять протиботулінічні антитоксини відповідно до серотипів А, В і Е – по 10 000, 5 000 і 10 000 МО.

У кожен комплект додатково включено 1 ампулу очищеної розведеної 1:100 кінської сироватки для проведення проби на чутливість до препарату і для десенсибілізації, що є обов'язковими!

1. Проводять шкірно-алергічну пробу з розведеною 1:100 кінською сироваткою (постачається в комплекті з препаратом). 0,1 мл розведеної сироватки вводять внутрішньошкірно.

Якщо проба негативна (через 20 хв набряк або почервоніння на місці введення менше 1 см), то переходять до наступного етапу.

2. Проводять шкірно-алергічну пробу з нерозведеним антитоксином.

Підшкірно вводять 0,1 мл нерозведеної протиботулінічної сироватки (антитоксину).

За відсутності реакції на це введення через 30 хв переходять до останнього етапу введення сироватки.

3. Вводять внутрішньовенно або внутрішньом'язово необхідну дозу антитоксину.

Для запобігання можливим алергічним реакціям, до початку внутрішньовенного введення препарату пацієнтові струменево вводять 60-90 мг преднізолону!

Таке введення сироватки використовують тільки в тому випадку, якщо у пацієнта не було місцевих і/або системних реакцій на введення антитоксину при шкірно-алергічних пробах.

При позитивній внутрішньошкірній пробі (проба вважається позитивною, якщо набряк або почервоніння в місці введення (розведеного або нерозведеного) препарату досягають 1 см і більше) на кінську сироватку або при появі системних реакцій на будь-якому з попередніх етапів препарат вводять тільки з лікувальною метою!

Введення проводять за методом дробної десенсибілізації і з особливими застереженнями:

1) спочатку вводять внутрішньом'язово 60 мг преднізолону;

2) потім підшкірно (не внутрішньошкірно!) вводять очищену розведену 1:100 кінську сироватку (додається в комплекті), призначену для внутрішньошкірної проби, з інтервалом у 20 хв в дозі:

3) 0,5 мл,

4) 2,0 мл,

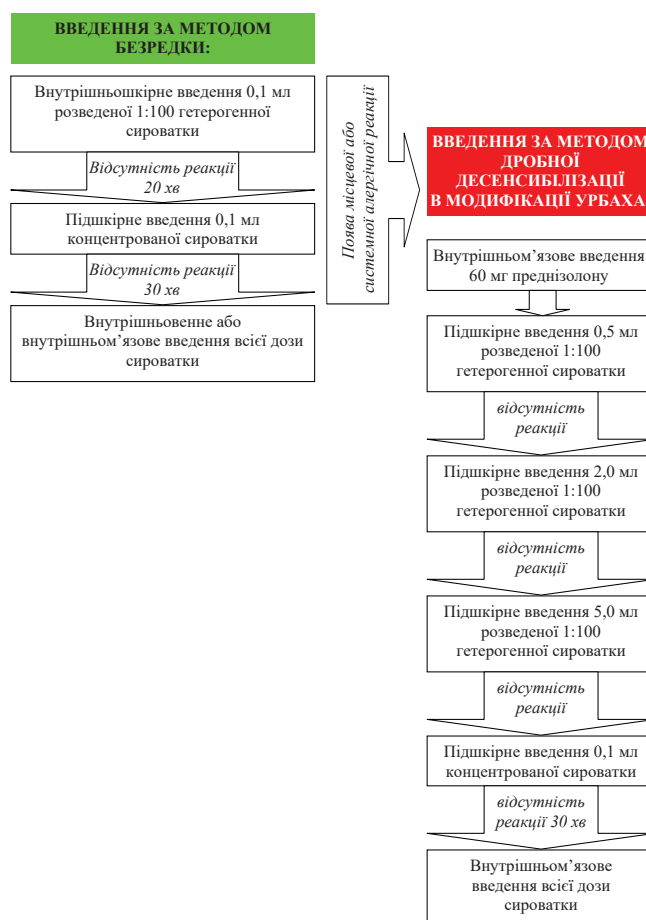
5) 5,0 мл (дозу необхідно розділити на 2-3 частини і вводити в різні місця або вводити всю дозу внутрішньом'язово);

6) за відсутності реакції на ці дози підшкірно вводять 0,1 мл нерозведеної протиботулінічної сироватки;

7) за відсутності реакції через 30 хв внутрішньом'язово вводять усю дозу сироватки.

У разі позитивної реакції на одну з вищезгаданих доз хворому після цієї позитивної проби внутрішньовенно струменево вводять 180-240 мг преднізолону і через 5-10 хв – усю необхідну лікувальну дозу сироватки внутрішньом'язово!

Допускається і такий альтернативний варіант. Рекомендовано змінити препарат, на який було виявлено позитивну реакцію, на іншу гетерогенну сироватку, отриману від іншого коня (на це вказує зазначений на упаковці номер серії препарату – Lot Number). У такому разі нову сироватку також вводять за описаними раніше правилами. Зазвичай у людини розвивається гіперчутливість до білків конкретної тварини, а не до антигенів роду коней. Тому такий прийом у більшості випадків дозволяє уникнути алергічної реакції.



Алгоритм введення гетерогенної сироватки за Безредкою та Урбахом методом дробної десенсибілізації.

У разі застосування препарату за життєвими показаннями (при тяжкому і/або крайньому ступеню хвороби), він може вводитися у кількості від 1 до 5 доз водночас.

При легкому і середньотяжкому ступеню хвороби сироватку можна вводити внутрішньом'язово, а при тяжкому і/або крайньому – перевага надається внутрішньовенному введенню. Воно допускається тільки у разі відсутності реакції на кінський білок при проведенні шкірно-алергічних проб і дробної десенсибілізації.

У разі позитивної реакції на кінський білок при проведенні шкірно-алергічних проб і/або дробної десенсибілізації, з лікувальною метою препарат вводиться тільки внутрішньом'язово.

Можливе одночасне комбіноване введення препарату – внутрішньовенне + внутрішньом'язове (для створення депо препарату).

За відсутності позитивної динаміки і/або погіршенні стану хворого можливе повторне введення препарату через 2-4, 12 або 24 год після першого введення.

З профілактичною метою вводять 1/2 лікувальної дози тільки внутрішньом'язово і тільки одноразово.

Технічні особливості застосування

Незалежно від об'єму препарату в ампулі, перед введенням його розчиняють у 200 мл фізіологічного розчину. Перед введенням вже розведеного препарату його слід підігріти до 37 °С (на водяній бані або іншим способом).

При внутрішньовенній інфузії обов'язкове використання апірогенного, вбудованого в систему фільтру з розміром пор 15 мкм і низьким рівнем зв'язування з білками!

ВІДОМОСТІ ПРО ПРОТИБОТУЛІНІЧНІ ПРЕПАРАТИ РІЗНИХ ВИРОБНИКІВ

Ботулінічний антитоксин полівалентний АВЕ – «*Antytoksyna botulinowa ABE*» виробництва «*Wytwórnia Surowic i Szczepionek BIOMED Sp. z o. o.*» (Warszawa, Poland).

В одному флаконі об'ємом 10 мл міститься 3 види антитоксичних антитіл до ботулотоксинів типу А, В і Е, відповідно до типу: А – 5 000 МО; В – 5 000 МО; Е – 1 000 МО, що фактично вважається 1 дозою.

В інструкції з використання зазначено, що:

- 1) сироватка може застосовуватися з профілактичною (1-2 дози) і лікувальною метою (5-10 доз), причому її доза визначається ступенем тяжкості хвороби;
- 2) рекомендоване одноразове або повторне внутрішньом'язове і/або внутрішньовенне введення;
- 3) проведення проби на гіперчутливість до кінської гетерогенної сироватки обов'язкове;
- 4) обов'язкове проведення «дробної» десенсибілізації до ведення повної необхідної дози, в тому числі й при повторному введенні;

5) сироватку не заморожують, що свідчить про її високу стабільність;

6) термін зберігання препарату становить 2 роки.

Сироватку вводять в 3 етапи.

1. Шкірно-алергічна проба з розведеним антитоксином. Пропонується проведення на вибір одного з тестів: внутрішньошкірне введення 0,2 мл препарату, розведеного 1:1000, або 1:100, чи 0,1 мл сироватки, розведеної 1:10 стерильним 0,9 % розчином хлориду натрію.

2. Якщо через 30 хв немає місцевої і/або загальної реакції, здійснюють шкірно-алергічну пробу з нерозведеним антитоксином – вводять 0,2 мл нерозведеного антитоксину підшкірно.

3. Якщо через 30 хв після цього не стається ніякої реакції, вводять усю необхідну дозу сироватки внутрішньом'язово (в різні частини тіла) або за необхідності – внутрішньовенно.

Якщо на будь-яке з перших двох введень у пацієнта виникли місцеві і/або системні реакції, то перед введенням повної необхідної дози сироватки проводять дробну десенсибілізацію одним з пропонувананих двох способів.

1-й спосіб. Після реакції на одну з перших ін'єкцій антитоксину, вводять його підшкірно, розвівши 1:10 стерильним 0,9 % розчином хлориду натрію, з інтервалами від 30 хв до 1 год, в об'ємі від 0,1 до 0,5 мл.

Далі з інтервалом від 30 хв до 1 год вводять по 0,2 мл нерозведеної сироватки, а потім її об'єм збільшують до 0,5 мл.

Після цього за відсутності реакцій вводять необхідну дозу антитоксину внутрішньом'язово або внутрішньовенно.

2-й спосіб. Підшкірно вводять найнижчу раніше переносиму у внутрішньошкірному тесті дозу (це може 0,2 мл препарату, розведеного 1:1 000, або 0,2 мл препарату, розведеного 1:100, або 0,1 мл препарату, розведеного 1:10). Якщо протягом 30 хв не відбувається ніякої реакції, кожні 30 хв збільшують дозу, що вводиться підшкірно, до 0,2 мл (включно) нерозведеного антитоксину.

Після цього за відсутності реакцій вводять необхідну дозу антитоксину внутрішньом'язово або внутрішньовенно.

Перед внутрішньовенним введенням препарат слід підігріти до 37 °С (на водяній бані або іншим способом). Відомостей про застосування препарату у дітей немає.

Ботулінічний антитоксин гептавалентний (А, В, С, D, E, F, G), кінський – «*BAT® Botulism Antitoxin Heptavalent (A, B, C, D, E, F, G) – (Equine)*» виробництва «*Cangene Corporation, a subsidiary of Emergent BioSolutions Inc.*» (Winnipeg, Manitoba, Canada). Препарат стерильний і заморожений.

Один флакон препарату містить антитоксини до 7 серотипів ботулотоксинів. Об'єм флакону (через різну активність) може коливатися від 10 до 22 мл. Так, кожен флакон препарату (чи 1 доза) містить мінімум:

- 4 500 МО антитоксину до серотипу ботулотоксину А,
- 3 300 МО – В,
- 3 000 МО – С,
- 600 МО – D,
- 5 100 МО – Е,
- 3 000 МО – F,
- 600 МО – G.

Зазначений препарат заморожений і транспортується й зберігається тільки в замороженому вигляді, повторне заморожування не допускається!

Термін придатності в замороженому вигляді 48 міс. Зберігання і термін придатності в розмороженому вигляді (якщо сталася розморозка) при температурі 2-8 °С не більше 36 міс.

Цей антитоксин вводиться дорослим людям і дітям тільки один раз, тільки внутрішньовенно і тільки в повній дозі у вигляді 1 флакону.

Технічні особливості застосування. Підлягає попередньому розведенню фізіологічним розчином у співвідношенні 1:10 (у 10 разів). Перед введенням вже розведеного препарату його слід підігріти до 37 °С. При внутрішньовенній інфузії обов'язкове використання апірогенного, вбудованого в систему фільтру з розміром пор 15 мкм і низьким рівнем зв'язування з білками.

Передбачене використання цього препарату і для лікування дітей. При цьому засіб дозується залежно від маси тіла. Обираючи режим дозування, керуються правилом Солсбері.

В інструкції немає жодних вказівок на необхідність попередньої десенсибілізації, яка є обов'язковою умовою при застосуванні гетерогенних протиботулінічних сироваток інших виробників. Разом з тим, зазначено, що для пацієнтів, які мають високий ризик розвитку алергічних реакцій, починати введення цього препарату з найменшою швидкістю, а саме менше 0,01 мл/хв і спостерігати за станом пацієнта. У разі розвитку гіперергічних реакцій слід припинити введення сироватки. Водночас немає вказівок на те, як проводити антитоксичну терапію далі та як боротися з анафілактичними реакціями.

Вибір режиму дозування протиботулінічного анти毒素у у дітей за правилом Солсбері (від 1 до <17 років)

| Маса тіла (кг) | Відсоток дози дорослого (%) |
|----------------|-----------------------------|
| 10-14 | 20 |
| 15-19 | 30 |
| 20-24 | 40 |
| 25-29 | 50 |
| 30-34 | 60 |
| 35-39 | 65 |
| 40-44 | 70 |
| 45-49 | 75 |
| 50-54 | 80 |
| ≥55 | 100 |

Вибір дозування за правилом Солсбері:

– Маса тіла ≤30 кг: $2 \times \text{масу (кг)} = \% \text{ дози дорослого введення}$

– Маса тіла >30 кг: $\text{масу (кг)} + 30 = \% \text{ дози дорослого введення}$

Мінімальна дитяча доза складає 20 % від дози дорослого.

Сироватка протиботулінічна типу А кінська очищена концентрована рідка виробництва «ФГУП НПО «Микроген» МЗ России» (Москва, Россия).

Препарат моновалентний і в 1 флаконі містить протиботулінічний антитоксин до серотипу ботулотоксину А. Кожен флакон містить не менше 10 000 МО анти毒素у з концентрацією не менше 2 500 МО/мл (об'єм не більше 4 мл).

Випускається в комплекті. Комплект складається з 1 ампули сироватки протиботулінічної та 1 ампули розведеної сироватки 1:100. Препарат не заморожений і його заморожування не допускається, транспортується і зберігається тільки в рідкому вигляді при температурі 2-8 °С. Термін придатності 2 роки.

Сироватка протиботулінічна типу В кінська очищена концентрована рідка того ж виробництва. Кожен флакон містить не менше 5 000 МО анти毒素у з концентрацією не менше 600 МО/мл (об'єм не більше 8,4 мл). Усі інші характеристики тотожні з попереднім препаратом.

Сироватка протиботулінічна типу Е кінська очищена концентрована рідка того ж виробництва. Кожен флакон містить не менше 10 000 МО анти毒素у з концентрацією не менше 1 200 МО/мл (об'єм не більше 8,4 мл). Усі інші характеристики тотожні з попереднім препаратом.

При використанні зазначених сироваток передбачені усі необхідні проби для виявлення сенсибілізації до гетерогенних білків і необхідні варіанти дробної десенсибілізації, а також вказані варіації дозування, режимів і шляхів введення препаратів. Відомостей про застосування препарату у дітей немає.

Анти毒素 ботулінічний бівалентний (кінський) типів А і В – «Botulism Antitoxin Bivalent (Equine) Types A and B» виробництва «Sanofi Pasteur Limited» (Toronto, Ontario, Canada).

Препарат полівалентний (бівалентний) і в 1 флаконі (1 доза) містить:

– 7 500 МО анти毒素у до серотипу А, що еквівалентно 2 381 од. США;

– 5 500 МО анти毒素у до серотипу В, що еквівалентно 1 839 од. США.

Препарат не заморожений і його заморожування не допускається.

В інструкції з використання вказано:

1) два цільові призначення препарату – з лікувальною або профілактичною метою;

2) два шляхи введення – внутрішньом'язово і внутрішньовенно, які залежать від цільового застосування препарату і тяжкості стану хворого;

3) доза і кратність введення може варіювати залежно від тяжкості стану хворого і динаміки хвороби;

4) при профілактичному використанні вводять різні дози сироватки – від 1/5 до повної дози, залежно від можливого рівня токсемії та її тривалості;

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

5) можливе повторне, через 12-24 год після профілактичного введення, лікувальне застосування сироватки при прояві клінічних ознак ботулізму;

6) початкова лікувальна доза препарату може становити одну дозу внутрішньовенно + додатково одну дозу внутрішньом'язово;

7) з лікувальною метою препарат може вводитися повторно через 2-4 год за відсутності достатнього ефекту від першого введення;

8) обов'язкове проведення шкірно-алергічних проб, причому наголошується на можливості виникнення серйозних алергічних ускладнень, у зв'язку з чим рекомендовані максимально безпечні скарифікаційні або скетч-проби;

9) обов'язкове проведення етапної тривалої (не менш 3 год) десенсибілізації не лише за наявності позитивної шкірно-алергічної проби на препарат, але й у разі анамнестичної алергії;

10) експериментальні дані стосовно рівня й кількості антитоксину, необхідного для інактивації ботулотоксинів остаточно не з'ясовані. При цьому зазначене офіційне твердження базується на даних досліджень, проведених більше 50 років тому [28, 29].

Введення сироватки проводять в 2 етапи:

1 – постановка шкірно-алергічної проби з розведеним антитоксином,

2 – введення необхідної дози антитоксину.

Таке введення сироватки використовують тільки у тому разі, коли у пацієнта не було місцевих і/або системних реакцій при шкірно-алергічній пробі.

Алергічна проба проводиться в два етапи [30].

1-й етап – скарифікаційний або скретч-тест. На ділянку поверхневої подряпини, уколу або проколу на зовнішній стороні передпліччя наносять одну краплю розведеної сироватки 1:100 у фізіологічному розчині. Також слід застосовувати позитивний (гістамін) і негативний (фізіологічний розчин) контрольні тести. Позитивним тестом є пухир з навколишньою еритемою, принаймні на 3 мм більшою, ніж негативний контрольний тест, врахований через 15-20 хв. Для правильної інтерпретації обов'язковим є контроль гістамінового тесту.

Якщо скарифікаційний тест негативний – переходять до наступного етапу.

2-й етап – внутрішньошкірний тест. Вводять 0,02 мл сироватки, розведеної 1:1 000 фізіологічним розчином. Результат враховують через 15-20 хв.

Якщо тест негативний, його слід повторити, використовуючи розведення препарату 1:100.

В осіб з негативним алергологічним анамнезом на тварин і конкретно коней замість зазначеного можна використовувати тільки розведення 1:100.

Якщо шкірно-алергічний 2-етапний тест негативний, тоді переходять до введення повної необхідної дози сироватки. У протилежному разі обов'язкове проведення етапної десенсибілізації, методика якої наведена в таблиці [30].

Методика проведення десенсибілізації до введення повної дози сироватки

| Номер введення | Розведення сироватки у фізіологічному розчині | Об'єм введення (мл) |
|----------------|---|---------------------|
| 1-е | 1:1 000 | 0,1 |
| 2-е | 1:1 000 | 0,3 |
| 3-є | 1:1 000 | 0,6 |
| 4-е | 1:100 | 0,1 |
| 5-е | 1:100 | 0,3 |
| 6-е | 1:100 | 0,6 |
| 7-е | 1:10 | 0,1 |
| 8-е | 1:10 | 0,3 |
| 9-е | 1:10 | 0,6 |
| 10-е | не розводять | 0,1 |
| 11-е | не розводять | 0,2 |
| 12-е | не розводять | 0,6 |
| 13-е | не розводять | 1,0 |

Сироватку вводять послідовно з 15-хвилинними інтервалами

Процедура десенсибілізації має бути безперервною. Якщо вона переривається, захист від десенсибілізації втрачається.

Попри те, що в інструкції немає відомостей про шлях введення розведеного препарату, можна припустити, що дози понад 0,1 мл повинні вводитися підшкірно, оскільки такий об'єм впорснути внутрішньошкірно просто неможливо.

У разі розвитку анафілаксії слід негайно вводити розчин адреналіну. Однак подальші дії (сироватку необхідно ввести за життєвими показаннями) не уточнені.

Таким чином, при використанні «Botulism Antitoxin Bivalent (Equine) Types A and B» передбачені необхідні проби для виявлення сенсибілізації до гетерогенних білків і необхідні варіанти дробної десенсибілізації, а також вказані варіації дозування, режимів і повторного введення препарату. Інформації про застосування препарату у дітей немає.

Ботулінічний імуноглобулін внутрішньовенний (людський) – BabyBIG [Botulism Immune Globulin Intravenous (BIG-IV)] виробництва «Baxalta Inc». Westlake Village, CA 91362, USA and «Cangene bioPharma Inc» (Baltimore, USA).

Препарат використовується тільки для лікування ботулізму у дітей до 1 року при синтезі ботулотоксину клостридіями безпосередньо в організмі, а не для анти-

токсичної терапії при попаданні токсину ззовні (з харчовими продуктами)!

Зазначений імуноглобулін бівалентний і в 1 флаконі містить протиботулінічні антитоксини до двох серотипів ботулотоксинів А і В. Випускається у вигляді ліофілизованого порошку.

Так, кожен флакон (1 доза) стандартно містить (100±20) мг сухого порошку імуноглобулінів (розчиняється в 2 мл води для ін'єкцій для досягнення концентрації 50 мг/мл):

– не менше 15 МО/мл (чи 30 МО на флакон) антитоксину до серотипу А,

– не менше 4 МО/мл (чи 8 МО на флакон) антитоксину до серотипу В.

Інфузія повинна початися протягом 2 год після розведення (не пізніше). Зазначена доза при ендогенному ботулізмі забезпечує рівень антитоксинів у тканинах дитини, достатній для нейтралізації очікуваної концентрації циркулюючого нейротоксину серотипів А і В. Концентрація антитоксинів до ботулотоксину типу А у крові пацієнта становить від (537,1±213,4) мМО/мл в перший день введення препарату з наступним поступовим зниженням до (7,6±6,6) мМО/мл на 20-му тижні після ін'єкції.

Імуноглобулін рекомендовано вводити тільки одноразово внутрішньовенно зі швидкістю 0,5 мл/кг/год з використанням трубки малого об'єму і постійного інфузійного насоса (тобто насоса IVAC або аналогічного) через окрему внутрішньовенну лінію. Якщо забезпечити окрему лінію неможливо, вона може бути „поєднана” з вже існуючою лінією, яка містить або фізіологічний розчин хлориду натрію, або один з наступних розчинів декстрази у воді (з додаванням або без додавання NaCl): 2,5 %, 5,0 %, 10,0 % або 20,0 %. Якщо необхідно використовувати вже існуючу лінію, BabyBIG не розводять більше, ніж 1:2 будь-яким з перелічених розчинів. Необхідно використовувати вбудований в систему або одноразовий стерильний одноразовий фільтр (розмір пор 18 мкм).

Якщо через 15 хв не виникає несприятливих реакцій, швидкість збільшують до 1,0 мл/кг/год. Рекомендований час інфузії, наслідуючи вказані режими, повинен займати 67,5 хв. У разі виникнення анафілактичних реакцій слід припинити ін'єкцію препарату і ввести адреналін. Таким чином, навіть незважаючи на гомологічність, препарат може спричинити алергічні й, навіть, анафілактичні реакції.

Ліофілізований ботулінічний антитоксин, кінський – «Freeze-dried Botulism Antitoxin, Equine» виробництва Японія.

Препарат сухий, ліофілізований і складається зі специфічних антитоксичних імуноглобулінів коня. Він

може бути моно- або полівалентним, і містити антитоксини до серотипів ботулотоксинів А, В, Е і F.

Антитоксин ботулінічний тривалентний (А, В, Е), кінський – «Botulism-Antitoxin Behring» виробництва Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH & Co. KG, PO Box 16 30, D – 35006 Marburg, Germany.

Препарат оброблений спеціальною протеолітичною системою «Fermo-Serum®», що містить пепсин, яка забезпечує максимальне очищення від сироваткових білків (руйнуючи їх до пептидів і пептонів). Система також частково розщеплює й імуноглобуліни, але глобуліни антитіл (7S) розкладаються тільки приблизно на одну третину свого розміру (Fc-фрагмент) до F (ab) 2-фрагменту (5S) з практично повним збереженням своєї специфічної антитоксичної активності. Це також значною мірою знижує ризик сенсibiliзації та алергічних реакцій на введення цього засобу.

Випускається у флаконах по 250 мл, в кожному 1 мл якого містяться антитоксини до серотипів ботулотоксину А, В і Е – 750, 500 і 50 МО відповідно. В 1 флаконі вміст цих антитоксинів становить 187 500, 125 000 і 12 500 МО відповідно (це фактично 1/2 дози). Вміст кінського білка у флаконі не перевищує 100 мг/мл.

Препарат полівалентний, може вводиться дорослим і дітям старше 1 року тільки внутрішньовенно з варіацією дози в об'ємі 1-2 флакони або 250-500 мл.

В інструкції зазначено:

1) проведення шкірно-алергічних проб на гетерогенний кінський білок і десенсибілізації не передбачене, однак є застереження про необхідність припинення інфузії препарату при появі ознак алергічної реакції, а також обов'язкову готовність до лікування анафілактичного шоку;

2) сироватка використовується лише з лікувальною метою у дозах від 2 до 3 флаконів (500-750 мл);

3) початкова доза сироватки становить 500 мл (2 флакони) – спочатку повільно під контролем гемодинамічних параметрів вводиться 250 мл (1-й флакон), а потім ще 250 мл (2-й флакон);

4) залежно від клінічного ефекту після першого введення сироватки можлива її повторна інфузія через 4-6 год в об'ємі 250 мл (1 флакон);

5) протипоказань до застосування немає, оскільки препарат вводиться за життєвими показаннями;

6) рекомендовані виробником дози препарату українські високі й становлять за антитоксинами А, В і Е – 375 000, 250 000 і 25 000 МО відповідно (це 1 доза);

7) зазначені величезні лікувальні дози стосуються й дітей, оскільки доза препарату не залежить від віку пацієнта;

8) активність препарату вказана в МО, а отже 1 його доза перевищує дози, наприклад, російського виробни-

ка за антитоксинами А, В і Е в 37,5, 50,0 і 2,5 рази відповідно.

Препарат не розводиться. Перед введенням його слід підігріти до температури тіла пацієнта.

В інструкції немає ніяких вказівок про швидкість і тривалість інфузії, а також жодних застережень про необхідність шкірно-алергічних проб на гетерогенний кінський білок і попередньої десенсибілізації, які є необхідною умовою при застосуванні гетерогенних протиботулінічних сироваток інших виробників.

Термін придатності – 48 міс. при температурі 2-8 °С.

Лікування хворих на «інгаляційний ботулізм»

Табельних засобів медичного захисту немає. Лікування засноване на введенні антитоду у вигляді полівалентної антитоксичної кінської сироватки. Враховуючи, як правило, високі дози застосування XR, ефективність антитоксичної терапії в уражених може бути невисокою, що пояснюється також об'єктивно пізнім застосуванням антитодів, оскільки має місце прихований період дії, протягом якого XR (ботулотоксин) проявляє безповоротну дію і молекулярне ураження макроорганізму розвивається значно раніше, ніж проявляється його симптоматика.

Але, незважаючи на це, при появі перших ознак отруєння XR хворому потрібна максимально рання специфічна антитоксична терапія. Тому навіть за відсутності клінічних ознак отруєння XR, але за наявності достовірних даних про те, що конкретна людина перебувала в зоні ураження XR без засобів захисту, і/або не має протективного антитоксичного імунітету (після вакцинації) до ботулотоксинів – їй показана антитоксична терапія вже за життєвими показаннями, хоча б у мінімальних профілактичних дозах [31].

Хоча багато інформаційних джерел рекомендують застосовувати антибіотикотерапію, вона недоцільна, оскільки ураження XR пов'язане з прямою дією ботулотоксину, а не власне його продуцентів.

При використанні ботулотоксинів як біологічної зброї максимально ефективним може бути тільки внутрішньовенне введення антитоксинів.

Можна стверджувати про необхідність антитоксичної терапії навіть в осіб, які мають протективний поствакцинний імунітет, але при появі у них клінічних ознак ботулізму, оскільки це свідчить про те, що захисний антитоксичний бар'єр був прорваний високодозовим застосуванням ботулотоксинів.

Дози антитоксинів мають бути значно вищі, ніж при терапії «природних» форм ботулізму, враховуючи те, що при отруєнні XR, особливо при його інгаляційному попаданні в організм, доза токсину значно перевищуватиме «природну». Відповідно при підозрі на інгаляційне

отруєння ботулотоксином з профілактичною метою вводять антитоксини типів А, В і Е по 1 000-2 000 МО кожного типу з наступним динамічним спостереженням за хворим. Якщо ефекту немає або він незначний, антитоксини вводять повторно. Також необхідно пам'ятати, що інгаляційне введення фармакокінетично практично прирівнюється до внутрішньовенного введення отрути. Це відповідно обумовлює необхідність внутрішньовенного введення антитодів у високих дозах.

Враховуючи високий ризик пригнічення дихання, завжди має бути передбачена можливість переведення потерпілого від XR на штучну вентиляцію легень.

ВАКЦИНАЦІЯ ВІД БОТУЛІЗМУ

Враховуючи те, що сьогодні не можна повністю унеможливити використання ботулотоксинів як зброї масового ураження, при терористичних атаках, а також необхідність захисту персоналу лабораторій, який безпосередньо контактує з ботулотоксинами і/або їх активними продуцентами – бактерійними культурами *Clostridium botulinum*, насущною проблемою є активна імунізація осіб, які належать до груп ризику стосовно отруєння ботулотоксинами, для створення у них активного антитоксичного імунітету.

На жаль, натепер ботулінічної вакцини немає, хоча досить успішно використовуються вакцини для тварин. Раніше (з 1965 по 2011-2012 рр.) для імунізації людей використовувався п'ятивалентний (ABCDE) ботулінічний анатоксин або пентавалентна ботулінічна вакцина «РВТ», яка вироблялася «Michigan Biologic Products Institute» (MDPH), Lansing, Michigan, 48909. «РВТ» була комбінацією адсорбованого фосфатом алюмінію анатоксинів, отриманих інактивацією частково очищених ботулінічних токсинів типу А, В, С, D, Е формаліном. Кожна доза вакцини, яка становила 0,5 мл, містила 7 мг фосфату алюмінію і близько 5 мкг інактивованих ботулотоксинів – анатоксинів.

Для повного курсу вакцинації та створення протективного імунітету з рівнем антитіл у сироватці крові пацієнта від 0,02-0,08 МО/мл (після першого введення анатоксинів) до отримання мінімального захисного рівня 0,25 МО/мл потрібне було введення по 1 дозі «РВТ» за графіком 0-2-12-й тижні з наступною щорічною ревакцинацією бустерною дозою (0,5 мл «РВТ»). Пізніше, із 1976 р., період ревакцинації був збільшений до 2-х і більше років, але тільки в тому випадку, якщо рівень антитоксинів у сироватці крові пацієнтів знижувався до 0,2 МО/мл. Також був змінений і режим вакцинації через 0-2-12-24-48 тижнів з наступною ревакцинацією щороку [13].

Але, незважаючи на те, що до 2012 р. «РВТ» залишалася єдиною дозволеною для людини вакциною від

ботулізму, в 2011 р. CDC спільно з FDA на підставі протоколу «IND Protocol: Use of Pentavalent (ABCDE) Botulinum Toxoid Aluminum Phosphate Adsorbed (PBT) for Workers at Risk of Occupational Exposure to Botulinum Toxins BB - IND 161 Protocol CDC IRB N392, Version 8.0» припинили застосування цього препарату. Це було обумовлено реальним і достовірним зниженням рівня імуногенності вакцини, пов'язаним з її особливостями виробництва, а також збільшенням рівня побічних реакцій на введення.

Тому з 2012 р. (до 2012 р. в США дозволили закінчити розпочату в 2011 р. імунізацію) і досі немає жодної офіційно дозволеної для використання вакцини від ботулізму. Є лише тимчасові дозволи на експериментальну вакцинацію людей препаратами нового покоління, що розробляються, у тому числі й рекомбінантними. У розробці ефективних вакцин проти ботулізму та їх широкому впровадженні передусім зацікавлені військові, які є класичною «групою ризику» оскільки ботулотоксини належать до одних з найефективніших бойових засобів біозброї [32, 33].

Можна припустити, що розробки в галузі створення сучасної високоефективної вакцини від ботулізму усе ж ведуться, однак зі зрозумілих причин ці відомості досі засекречені. Не варто скидати з рахунків і той факт, що виробники фармакологічних препаратів ботулотоксинів і клінічні галузі медицини (в основному сектор косметології), де ці препарати активно використовуються, україстурбовані тим, що при масовій імунізації людей від ботулізму подальше застосування препаратів ботулотоксинів неминуче втрачатиме ефективність, що потягне за собою колосальні фінансові втрати для виробників і медичного сектору. Відтак ця «стурбованість» може бути серйозним чинником гальмування розробки і впровадження нових ефективних вакцин від ботулізму.

Але, враховуючи реальну небезпеку застосування зловмисниками ботулотоксинів як біологічної зброї чи засобу біотероризму, хочеться вірити, що здоровий глузд перемаже і найближчим часом в практиці військових і охорони здоров'я цивільних осіб усе ж буде дозволене використання ефективних і безпечних вакцин від ботулізму.

Висновки

1. Клінічна картина харчового, ранового, ятрогенного, інгаляційного та «дитячого» ботулізму подібна й зводиться до білатерального паралічу черепних нервів; диспепсичних проявів; респіраторної дисфункції; відсутності гарячки, сплутаності свідомості, загальмованості, порушення чутливості.

2. Стандартна лабораторна діагностика ботулізму ґрунтується на виявленні токсину у сироватці, шлунковому секреті, калі та зразках продуктів харчування

шляхом постановки біологічної проби на мишах, зрідка – бактеріологічного та електрофізіологічного дослідження, імуноферментного аналізу, полімеразно-ланцюгової реакції.

3. Аналіз інформації та даних про наведені антитоксинні протиботулінічні препарати, їх цільового призначення, доз, шляхів введення і режимів застосування показав наступне.

3.1. Найвищу активність мають антитоксини російського виробництва «Сироватки протиботулінічні типу А, В і Е кінські очищені концентровані рідкі» по 10 000 МО для антитоксинів А і Е та 5 000 МО для антитоксину типу В, але виробник рекомендує введення лише однієї дози і тільки одноразово.

3.2. Найширший спектр у плані дозування препарату і залежності доз від тяжкості стану хворого, динаміки хвороби, а також доцільності повторного введення препарату за наявності показань має препарат польського виробництва «Ботулінічний антитоксин полівалентний АВЕ».

Якщо порівнювати активності польського і російського препаратів, стає очевидним, що за антитоксином типу А одна доза польського засобу складає всього 1/2 дози російського виробника, за антитоксином типу В – активність тотожна, за антитоксином типу Е – усього 1/10 дози. Тому 1 доза російського антитоксину типу Е відповідає 10 дозам антитоксину типу Е польського виробництва. Тож рекомендовані дози обох виробників повністю збігаються.

3.3. Єдиним препаратом, який може використовуватися як при лікуванні дорослих, так і дітей (згідно з даними офіційних інструкцій), є канадський «Ботулінічний антитоксин гептавалентний (А, В, С, D, Е, F, G) – (кінський)», в інструкції до якого вказані режими дозування для дітей різного віку (режим дозування за правилом Солсбері за масою дитини). Саме цей спосіб може бути використаний для застосування препаратів інших виробників.

3.4. Більшість виробників протиботулінічних антитоксинів як обов'язкову умову їх застосування регламентує оцінку чутливості пацієнта до препарату, а також проведення етапної або дробної десенсибілізації.

3.5. Найбільш оптимальним з наведених методів визначення чутливості та десенсибілізації можна вважати методи, рекомендовані в інструкціях антитоксинів російського виробництва. У них одночасно поєднується простота, доступність, чіткий алгоритм проведення, вже приготовані внесені до набору розведені розчини препарату для проб і десенсибілізації, облік і корекція проведення при можливій появі позитивних реакцій на будь-якому етапі десенсибілізації, чіткі й зрозумілі рекомендації подальших дій у разі появи позитивних реакцій,

логічне завершення процедури десенсибілізації, навіть при появі позитивних реакцій, можливість введення препарату за життєвими показаннями, навіть при загрозі розвитку алергічних і анафілактичних реакцій.

Водночас технічним недоліком цього методу може бути вказівка на підшкірне введення 2,0 і 5,0 мл розведеної сироватки, що практично неможливо, особливо при дозі 5,0 мл. Її треба вводити підшкірно у різні місця або внутрішньом'язово.

3.6. Алергічні реакції досить індивідуальні й специфічні. Тому при високому ризику розвитку анафілактичних реакцій на кінські імуноглобуліни або за наявності у пацієнта алергії на коней, якщо є можливість, доцільно використовувати антитоксин, приготовлений з імуноглобулінів (сироватки або плазми крові) іншого виду тварин (найчастіше великої рогатої худоби). На жаль, натепер відомі тільки препарати протиботулінічних антитоксинів, основою яких є лише кінські імуноглобуліни. У

цьому аспекті використання антитоксину, основою якого є людські імуноглобуліни, не розглядається через його край вузькі показання – застосування тільки у дітей до 1 року і тільки при «дитячому ботулізмі», а також край низьку концентрацію (активність) антитіл, недостатню для терапії екзогенного отруєння ботулотоксинами.

3.7. Враховуючи той факт, що кожна серія антитоксинів готується із сироватки або плазми крові одного конкретного коня, у разі розвитку в пацієнта алергії на цю серію препарату (одного коня), побічних реакцій зазвичай не виникає при використанні іншої серії антитоксину (іншого коня). Тому, при розвитку позитивних реакцій під час проведення шкірно-алергічних проб і/або десенсибілізації, можна рекомендувати (за наявності такої технічної можливості) зміну застосованої серії препарату на іншу серію цього ж засобу. Цей спосіб є одним з найпростіших, що дозволяє уникнути тяжких ускладнень після антитоксичної терапії.

Література

- Hatheway C.L. Clostridium: the sporebearing anaerobes / C.L. Hatheway, E.A. Johnson. – In: L. Collier, A. Balows, M. Sussman eds. – Topley & Wilson's microbiology and microbial infections. – 9th ed. New York, NY: Oxford University Press, 1998. – P. 731-782.
- Role of zinc in the structure and toxic activity of botulinum neurotoxin / F.N. Fu, R.B. Lomneth, S. Cai [et al.] // Biochemistry. – 1998. – Vol. 14, N 37 (15). – P. 5267-5278.
- Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity / D.B. Lacy, W. Tepp, A.C. Cohen [et al.] // Nat. Struct. Biol. – 1998. – Vol. 5 (10). – P. 898-902.
- Hauschild A.H. Clostridium botulinum. In: Doyle M.P., ed. Foodborne bacterial pathogens / A. H. Hauschild. – New York, NY: Marcel Dekker, 1989. – P. 112-189.
- BMJ Best Practice. Ботулізм. 2018. – [Електронний ресурс]. Access mode : bestpractice.bmj.com
- Arnon S. Infant botulism / S. Arnon. – In: R.D. Feigen, J.D. Cherry eds. Textbook of pediatric infectious diseases. – 4th ed. – Philadelphia, PA: WB Saunders, 1998. – P. 570-577.
- Black J.D. Interaction of 125I-labeled botulinum neurotoxins with nerve terminals. II. Autoradiographic evidence for its uptake into motor nerves by receptor-mediated endocytosis / J.D. Black, J.O. Dolly // J. Cell. Biol. – 1986. – Vol. 103. – P. 535-544.
- Inhibition of neurotransmitter release by clostridial neurotoxins correlates with specific proteolysis of synaptosomal proteins / J. Blasi, T. Binz, S. Yamasaki [et al.] // J. Physiol. Paris. – 1994. – Vol. 88. – P. 235-241.
- Production of an expression system for a synaptobrevin fragment to monitor cleavage by botulinum neurotoxin B / J.L. Nowakowski, B.C. Courtney, Q.A. Bing [et al.] // J. Protein. Chem. – 1998. – Vol. 17. – P. 453-462.
- Shapiro R.L. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review / R.L. Shapiro, C. Hatheway, D.L. Swerdlow // Ann. Intern. Med. – 1998. – Vol. 129 (3). – P. 221-228.
- Cherington M. Botulism: update and review / M. Cherington // Semin. Neurol. – 2004. – Vol. 24 (2). – P. 155-163.
- Infant botulism: three cases in a small town / G.R. Istre, R. Compton, T. Novotny [et al.] // Am. J. Dis. Child. – 1986. – Vol. 140 (10). – P. 1013-1014.
- Андрейчин М. Біотероризм: Медична протидія / М. Андрейчин, В. Копча. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. – 300 с.
- Coproexamination for botulinum toxin and Clostridium botulinum: a new procedure for laboratory diagnosis of botulism / V.R. Jr. Dowell, L.M. McCroskey, C.L. Hatheway [et al.] // JAMA. – 1977. – Vol. 238 (17). – P. 1829-1832.
- Sobel J. Botulism / J. Sobel // Clin. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 41 (8). – P. 1167-1173.
- Gutmann L. Electrodiagnosis of botulism / L. Gutmann, J. Bodensteiner, A. Gutierrez // J. Pediatr. – 1992. – Vol. 121 (5 Pt 1). – P. 835.
- Del Torre M. Investigation of the ability of proteolytic Clostridium botulinum to multiply and produce toxin in fresh Italian pasta / M. Del Torre, M.L. Stecchini, M.W. Peck // J. Food. Prot. – 1998. – Vol. 61 (8). – P. 988-993.
- Rodriguez A. Rapid identification of Clostridium botulinum and botulinum toxin in food / A. Rodriguez, M. Dezfulian // Folia Microbiol (Praha). – 1997. – Vol. 42 (2). – P. 149-151.
- Lindström M. Laboratory diagnostics of botulism / M. Lindström, H. Korkeala // Clin. Microbiol. Rev. – 2006. – Vol. 19 (2). – P. 298-314.
- Long-term outcomes of 217 botulism cases in the Republic of Georgia / S.L. Gottlieb, K. Kretsinger, N. Tarkhashvili [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 45 (2). – P. 174-180.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Botulism associated with commercially canned chili sauce – Texas and Indiana, July 2007 // MMWR. – 2007. – Vol. 56 (30). – P. 767-769.
- International outbreak of severe botulism with prolonged toxemia caused by commercial carrot juice / A.N. Sheth, P. Wiersma,

D. Atrubin [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 47 (10). – P. 1245-1251.

23. Wound botulism in California, 1951-1998: a recent epidemic in heroin injectors / S.B. Werner, D. Passaro, J. McGee [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2000. – Vol. 31 (4). – P. 1018-1024.

24. Partikian A. Iatrogenic botulism in a child with spastic quadriplegia / A. Partikian, W.G. Mitchell // J. Child. Neurol. – 2007. – Vol. 22 (10). – P. 1235-1237.

25. Crowner B.E. Iatrogenic botulism due to therapeutic botulinum toxin A injection in a pediatric patient / B.E. Crowner, J.E. Brunstrom, B.A. Racette // Clin. Neuropharmacol. – 2007. – Vol. 30 (5). – P. 310-313.

26. Копча В.С. Випадок ін'єкційного ботулізму / В.С. Копча, В.Т. Борак // Інфекційні хвороби. – 2014. – № 4(78). – С. 88-90.

27. Infant botulism due to *C. butyricum* type E toxin: a novel environmental association with pet terrapins / E.B. Shelley, D. O'Rourke, K. Grant [et al.] // Epidemiol. Infect. – 2015. – Vol. 143(3). – P. 461-469.

28. Iida H. Studies on the serum therapy of type E botulism / H. Iida, T. Ono, T. Karashimada. In: Botulism. – 1966.

29. Proceedings of the Fifth International Symposium on Food Microbiology, Moscow, July 1966. – London: Chapman & Hall, 1967. – P. 346-359.

30. American Academy of Pediatrics: Report of the Committee on Infectious Diseases, 23rd ed. Elk Grove Village. – IL., The Academy, 1994.

31. Немекин В.Н. Токсины и оценка их поражающего действия / В.Н. Немекин, О.Н. Рябинин // Современные технологии обеспечения гражданской обороны и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. – 2015. – № 2(6). – С. 228-232.

32. Notice of CDC's Discontinuation of Investigational Pentavalent (ABCDE) Botulinum Toxoid Vaccine for Workers at Risk for Occupational Exposure to Botulinum Toxins / CDC // Morbidity and Mortality Weekly Report. – October 28, 2011. – Vol. 60 (42). – P. 1454-1455.

33. Enhancing toxin-based vaccines against botulism / A. Przedpelski, W. H. Tepp, M. Zuverink [et al.] // Vaccine. – 2018. – Vol. 36 (6). – P. 827-832.

References

1. Hatheway, C. L., & Johnson, E. A. (1998). *Clostridium: the spore-bearing anaerobes*.

2. Fu, F. N., Lomneth, R. B., Cai, S., & Singh, B. R. (1998). Role of zinc in the structure and toxic activity of botulinum neurotoxin. *Biochemistry*, 37 (15), 5267-5278.

3. Lacy, D. B., Tepp, W., Cohen, A. C., DasGupta, B. R., & Stevens, R. C. (1998). Crystal structure of botulinum neurotoxin type A and implications for toxicity. *Nature Structural Biology*, 5 (10), 898-902.

4. Doyle, M. (Ed.). (1989). *Foodborne bacterial pathogens*. CRC Press.

5. BMJ Best Practice. Botulism. (2018). [Electronic resource]. Retrieved from: bestpractice.bmj.com [in Ukrainian].

6. Feigin, R. D., & Cherry, J. D. (1998). *Textbook of pediatric infectious diseases* (No. 616.9-053.2). WB Saunders.

7. Black, J. D., & Dolly, J. O. (1986). Interaction of 125I-labeled botulinum neurotoxins with nerve terminals. II. Autoradiographic evidence for its uptake into motor nerves by acceptor-mediated endocytosis. *The Journal of Cell Biology*, 103 (2), 535-544.

8. Blasi, J., Binz, T., Yamasaki, S., Link, E., Niemann, H., & Jahn, R. (1994). Inhibition of neurotransmitter release by clostridial neurotoxins correlates with specific proteolysis of synaptosomal proteins. *Journal of Physiology-Paris*, 88 (4), 235-241.

9. Nowakowski, J. L., Courtney, B. C., Bing, Q. A., & Adler, M. (1998). Production of an expression system for a synaptobrevin fragment to monitor cleavage by botulinum neurotoxin B. *Journal of Protein Chemistry*, 17 (5), 453-462.

10. Shapiro, R. L., Hatheway, C., & Swerdlow, D. L. (1998). Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. *Annals of Internal Medicine*, 129 (3), 221-228.

11. Cherington, M. (2004). Botulism: update and review. In *Seminars in neurology* (Vol. 24, No. 02, pp. 155-163). Copyright© 2004 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

12. Istre, G. R., Compton, R., Novotny, T., Young, J. E., Hatheway, C. L., & Hopkins, R. S. (1986). Infant botulism: three cases in

a small town. *American Journal of Diseases of Children*, 140 (10), 1013-1014.

13. Andreychyn, M., & Kopcha, V. (2005). *Bioterrorism: a medical counter*. Ternopil: Ukrmedknyha [in Ukrainian].

14. Dowell, V. R., McCroskey, L. M., Hatheway, C. L., Lombard, G. L., Hughes, J. M., & Merson, M. H. (1977). Coproexamination for botulinum toxin and *Clostridium botulinum*: a new procedure for laboratory diagnosis of botulism. *Jama*, 238 (17), 1829-1832.

15. Sobel, J., Dill, T., Kirkpatrick, C. L., Riek, L., Luedtke, P., & Damrow, T. A. (2009). Clinical recovery and circulating botulinum toxin type F in adult patient. *Emerging Infectious Diseases*, 15 (6), 969.

16. Brook, I. (2007). Infant botulism. *Journal of Perinatology*, 27 (3), 175-180.

17. Torre, M. D., Stecchini, M. L., & Peck, M. W. (1998). Investigation of the ability of proteolytic *Clostridium botulinum* to multiply and produce toxin in fresh Italian pasta. *Journal of Food Protection*, 61 (8), 988-993.

18. Rodriguez, A., & Dezfalian, M. (1997). Rapid identification of *Clostridium botulinum* and botulinum toxin in food. *Folia Microbiologica*, 42 (2), 149-151.

19. Lindström, M., & Korkeala, H. (2006). Laboratory diagnostics of botulism. *Clin. Microbiol. Rev.*, 19, 298-314.

20. Gottlieb, S. L., Kretsinger, K., Tarkhashvili, N., Chakvetadze, N., Chokheli, M., Chubinidze, M., ... & Sikharulidze, M. (2007). Long-term outcomes of 217 botulism cases in the Republic of Georgia. *Clinical Infectious Diseases*, 45 (2), 174-180.

21. July, T. O. (2007). Botulism associated with commercially canned chili sauce – Texas and Indiana, July 2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56.

22. Sheth, A. N., Wiersma, P., Atrubin, D., Dubey, V., Zink, D., Skinner, G., ... & Drenzek, C. (2008). International outbreak of severe botulism with prolonged toxemia caused by commercial carrot juice. *Clinical Infectious Diseases*, 47 (10), 1245-1251.

23. Werner, S. B., Passaro, D., McGee, J., Schechter, R., & Vu-gia, D. J. (2000). Wound botulism in California, 1951-1998: recent

epidemic in heroin injectors. *Clinical Infectious Diseases*, 31 (4), 1018-1024.

24. Partikian, A., & Mitchell, W. G. (2007). Iatrogenic botulism in a child with spastic quadriplegia. *Journal of Child Neurology*, 22 (10), 1235-1237.

25. Crowner, B. E., Brunstrom, J. E., & Racette, B. A. (2007). Iatrogenic botulism due to therapeutic botulinum toxin a injection in a pediatric patient. *Clinical Neuropharmacology*, 30 (5), 310-313.

26. Kopcha, V. S., & Borak, V. T. (2014). The case of "injection botulism". *Infectious Diseases*, (4) [in Ukrainian].

27. Shelley, E. B., O'rourke, D., Grant, K., McArdle, E., Capra, L., Clarke, A., ... & Cosgrove, C. (2015). Infant botulism due to C. butyricum type E toxin: a novel environmental association with pet terrapins. *Epidemiology & Infection*, 143 (3), 461-469.

28. Iida, H., Ono, T., & Karashimada, T. (1966). Studies on the serum therapy of type E botulism. *Botulism*, 346-362.

29. *Proceedings of the Fifth International Symposium on Food Microbiology*. Moscow, July 1966. (1967). London, Chapman & Hall.

30. American Academy of Pediatrics: Report of the Committee on Infectious Diseases, 23rd ed. (1994). Elk Grove Village, IL., The Academy.

31. Nemekin, V. N., & Ryabinin, O. N. (2015). Toxins and assessment of their damaging effect. *Modern Technologies for Civil Defense and Emergency Response*, 2 (1 (6)).

32. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2011). Notice of CDC's discontinuation of investigational pentavalent (ABCDE) botulinum toxoid vaccine for workers at risk for occupational exposure to botulinum toxins. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 60 (42), 1454.

33. Przedpelski, A., Tepp, W. H., Zuverink, M., Johnson, E. A., Pellet, S., & Barbieri, J. T. (2018). Enhancing toxin-based vaccines against botulism. *Vaccine*, 36 (6), 827-832.

MODERN DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF PATIENTS WITH SAUSAGE-POISONING

V.S. Kopcha, A.M. Bondarenko

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Clinical Hospital No. 2 of Kryvyi Rih, Center of Health of Kryvyi Rih

SUMMARY. Draft of methodical recommendations are made taking into account modern information about clinical displays of food, wound, paratherapeutic, inhalation sausage-poisoning and illness for babies. Clinical presentation of food, wound, paratherapeutic, inhalation and "child's" sausage-poisoning is similar and presents in the bilateral paralysis of cranial nerves; dyspepsia manifestations; respiratory disfunction; absence of fever, confusing of consciousness, dormancy, violation of sensitiveness.

Objective displays over are brought at a physical inspection, methods of laboratory diagnostics. Risk of disease factors are distinguished. Standard laboratory diagnostics of sausage-poisoning is based on the exposure of toxin in a serum, gastric secret, fecal masses and standards of foods of feed by raising of bioassay on mice, now and then – bacteriological and electro-physiology research, immune enzymic analysis, PCR.

Treatment of patients with different clinical forms of sausage-poisoning were analyzed in detail. Taking into account absence of domestic immunobiological drugs, collected information about anti-sausage-poisoning medicines by different producers, that allows to use accessible in concrete terms foreign drugs. The different methods of avoidance of heavy complications are considered after antitoxic therapy.

The prospect of the use of effective and safe vaccines from sausage-poisoning was discussed.

Key words: sausage-poisoning; clinical presentation; diagnostics; treatment; antitoxic serum; biological weapon.

Відомості про авторів:

Копча Василь Степанович – д. мед. н., професор кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними і венеричними хворобами Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; e-mail: kopcha@ukr.net ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9499-3733>

Бондаренко Анатолій Миколайович – д. мед. н., завідувач кафедри екології Криворізького національного університету; керівник Центру діагностики та лікування інфекційних хвороб, м. Кривий Ріг; e-mail: kryobon@ukr.net

Information about the authors:

Kopcha V.S. – MD, Professor of the Infectious Diseases and Epidemiology, Skin and Venereal Diseases Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: kopcha@ukr.net ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9499-3733>

Bondarenko A.M. – MD, Head of the Department of Ecology, Kryvyi Rih National University; Head of the Center for the Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Kryvyi Rih; e-mail: kryobon@ukr.net

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 20.12.2019 р.