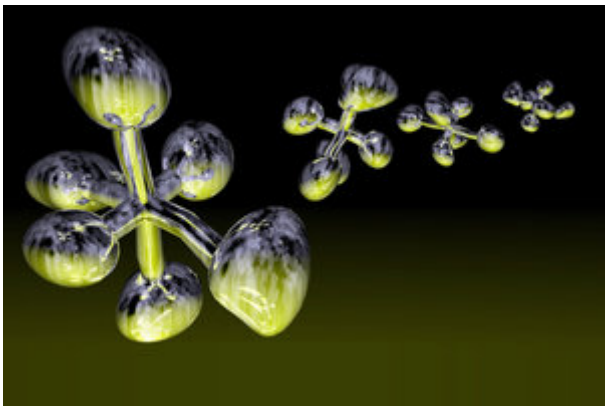
Akceptuję
W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej Polityce Prywatności

Od broni biologicznej do usuwania zmarszczek.

Był koniec lat 90-tych XIX wieku, kiedy belgijski bakteriolog Emil van Ermengem po raz pierwszy wyizolował i opisał nowy drobnoustrój – okazał się być nim producent jednej z najsilniejszych i najniebezpieczniejszych ze znanych toksyn naturalnie występujących w środowisku. Mowa o Clostridium botulinum – bakterii, którą CDC (Center for Disease Control and Prevention – Centrum Zwalczania i Zapobiegania Chorób) w kwalifikacji broni biologicznej zalicza do kategorii A, a więc czynników najwyższego ryzyka, stanowiących potencjalnie największe zagrożenie dla ludzi ze względu na możliwość wywołania wysokiej śmiertelności i chorobotwórczości (1). Gatunek Clostridium botulinum stanowią Gram-dodatnie, bezwzględnie beztlenowe, ruchliwe dzięki peritrichalnemu urzęsieniu laseczki, szeroko rozpowszechnione w naturze – przede wszystkim

w glebie i osadach zbiorników wodnych. Ich rezerwuar stanowi również przewód pokarmowy zwierząt, a także rozkładające się rośliny i resztki pokarmowe (8).



W preparatach z hodowli komórki bakteryjne występują pojedynczo, parami bądź tworzą krótkie łańcuszki, wykazując jednocześnie tendencję do wybrzuszania za sprawą dużych, owalnych przetrwalników ułożonych najczęściej subterminalnie, nadających komórkom charakterystyczny kształt rakiety. Przetrwalniki są oporne na oddziaływanie ultrafioletu i alkoholi, inaktywują je natomiast: ogrzewanie w 121°C przez 20 min., mocne kwasy, formaldehyd, chlor, silne zasady oraz tlenki etylenu i propylenu(2,5).

Na podłożu stałym z krwią, w optymalnej temperaturze 37°C (z wyjątkami) i pH 7,0 – 7,2, bakterie tworzą okrągłe, średniej wielkości, lekko wypukłe, o nieregularnych brzegach kolonie, zazwyczaj otoczone wąską strefą hemolizy. Z kolei rozwijając się w podłożu płynnym powodują jego zmętnienie, przy czym pożywka wydziela zapach zjełczałego tłuszczu czy kwasu masłowego(2).
Wszystkie szczepy C.botulinum hydrolizują żelatynę i wytwarzają lipazę – o właściwościach lipolitycznych świadczy lśniąca warstwa (tzw. warstwa perłowa) pokrywająca kolonie bakterii wyrosłe na agarze z emulsją żółtka jaja kurzego. Ponadto, na ogół trawią kazeinę, nie produkują indolu i nie wytwarzają lecytynazy, z wyjątkiem szczepów typu C i D w przypadku których wokół kolonii widoczna jest strefa zmętnienia wskazująca na aktywność enzymu. Poszczególne szczepy C.botulinum różnią się nie tylko pod względem właściwości proteolitycznych, ale także zdolności fermentacji cukrów – wszystkie bowiem kwaśno fermentują glukozę z wydzieleniem dużych ilości gazów, natomiast tylko niektóre cechuje umiejętność rozkładu maltozy i laktozy (lub mannozy), a także fruktozy. Z kolei niechorobotwórcze szczepy serotypu G w ogóle pozbawione są właściwości sacharolitycznych (7).

Ponadto, katalazo-ujemne klostridia należą do drobnoustrojów cechujących się brakiem zdolności wytwarzania zarówno peroksydazy, jak i oksydazy cytochromowej (3).

PATOGENEZA - budowa i mechanizm działania toksyny botulinowej

W trakcie wzrostu bakterie z gatunku C.botulinum wytwarzają 7 serotypów toksyn (BoNT – Botulinal neurotoxin) oznaczonych literami A-G, różniących się budową antygenową, immunogennością, rozpoznawanymi receptorami, celem działania, masą czy lokalizacją kodujących je genów, ale wykazujących identyczny mechanizm działania. Mimo, iż większość szczepów wytwarza tylko jeden typ toksyny, znane są przypadki gdzie u jednego szczepu mogą występować geny odpowiedzialne za syntezę dwóch rodzajów BoNT – wtedy jedna z nich produkowana jest w przeważającej ilości, z kolei geny kodujące syntezę drugiej toksyny nie ulegają ekspresji lub jest to ekspresja na niskim poziomie. Szczepy takie określane są jako typy Ab, Af, Ba i Bf (duża litera wskazuje na dominujący rodzaj

toksyny)(8).

Toksyny botulinowe syntetyzowane są w postaci pojedynczego łańcucha polipeptydowego (biologicznie nieaktywne białko o masie cząsteczkowej ok.150 kDa), podlegającego potranslacyjnej proteolizie do aktywnej formy dwułańcuchowej, w której oba łańcuchy – ciężki o masie ~100 kDa i lekki ~50 kDa – łączy mostek dwusiarczkowy. W obrębie BoNT występują 3 funkcjonalne domeny (każda o masie 50 kDa): * domena wiążąca – odpowiedzialna za wiązanie toksyny na powierzchni właściwego receptora błony presynaptycznej komórki, złożona z dwóch poddomen – NH2-terminalnej (Hc-N) i C-terminalnej (Hc-C); * domena translokacyjna – umożliwiająca transport toksyny przez błonę presynaptyczną (Hn); oraz * N-końcowa domena katalityczna o aktywności cynko-zależnej endopeptydazy (łańcuch lekki L)(1,6).

Syntetyzowane toksyny gromadzone są w cytozolu komórki bakteryjnej, skąd wskutek autolizy ulegają uwolnieniu w postaci kompleksów zwanych protoksynami, w skład których, obok właściwej cząsteczki toksyny, wchodzą nietoksyczne białka tzw. białka NAPS (neurotoxin-associated proteins). Ich rola prawdopodobnie polega na ochronie toksyn przed inaktywacją wskutek niskiego pH soku żołądkowego oraz działania enzymów proteolitycznych przewodu pokarmowego i wysokiej temperatury. Jak dotąd zidentyfikowano 3 formy protoksyn: * M-toksynę (medium toxin, 300 kDa) zbudowaną z pojedynczej cząsteczki BoNT i nietoksycznej niehemaglutyniny (NTNH); * L-toksynę (large toxin), którą tworzy cząsteczka BoNT w połączeniu z białkiem NTNH oraz hemaglutyniną; * LL-toksynę (extra large toxin, ~900 kDa) – dimer złożony z dwóch protoksyn L (9,10).

Od miejsca absorpcji (jelito/rana) toksyna botulinowa w szybkim tempie rozprzestrzenia się drogą płynów ustrojowych (poprzez krew), docierając do miejsca działania czyli synapsy nerwowo-mięśniowej. Wiążąc się ze swoistymi receptorami (rola gangliozydów, synaptogaminy I i II oraz białka SV2) obecnymi na powierzchni błony presynaptycznej obwodowych zakończeń cholinergicznych neuronów, cząsteczki toksyny ulegają internalizacji na drodze endocytozy – procesie zależnym od temperatury i energii. Kwaśne środowisko powstałego pęcherzyka endocytarnego indukuje zmiany strukturalne w toksynie prowadząc do zwiększenia hydrofobowości jej cząsteczek, co z kolei ułatwia penetrację podwójnej warstwy lipidowej błony endosomu(3). W skutek zmiany konformacyjnej następuje oddzielenie łańcucha lekkiego od domeny translokacyjnej, będące wynikiem redukcji mostka dwusiarczkowego. Po przejściu do cytozolu łańcuch L wiąże jony cynku, nabywając aktywności specyficznej proteazy rozpoznającej i rozcinającej białka tworzące kompleks błony presynaptycznej, tzw. SNARE (Solube N-ethylmaleiamide-sensitive factor attachment protein receptor) niezbędne w procesie powstawania pęcherzyków synaptycznych wypełnionych neuromediatorem (acetylocholina) i ich fuzję z błoną neuronu. Każdy z serotypów toksyny może degradować różne białka: BoNT/B, BoNT/D, BoNT/F oraz BoNT/G tną białko VAMP (vesicle-associated membrane protein – synaptobrewina), typ A i E powodują proteolizę białka SNAP-25 (25 kDa synaptosomal-associated protein), a celem działania BoNT produkowanej przez szczepy serotypu C jest zarówno SNAP-25, jak i syntaksyna. Degradacja któregokolwiek z tych białek uniemożliwia związanie się pęcherzyka presynaptycznego z błoną komórkową neuronu, w konsekwencji czego dochodzi do zahamowania wydzielania neuroprzekaźnika (acetylocholiny) do szczeliny synaptycznej (2). W efekcie, zablokowanie mechanizmu przekazywania sygnałów nerwowych z zakończeń neuronów ruchowych do komórek mięśniowych (mięśnie szkieletowe) skutkuje wystąpieniem objawów paraliżu wiotkiego, a więc długotrwałego rozluźnienia mięśni (8).

BOTULIZM - źródło i drogi zakażenia, przebieg kliniczny

Z uwagi na fakt, iż laseczki C.botulinum należą do drobnoustrojów mało inwazyjnych, co oznacza że praktycznie nie mogą namnażać się w żywym organizmie, zakażenie najczęściej przebiega jako intoksykacja (rzadziej toksykoinfekcja), kiedy do zatrucia dochodzi w następstwie spożycia żywności

zanieczyszczonej toksyną syntetyzowaną przez bakterie (botulizm pokarmowy). Źródłem choroby może być praktycznie każda żywność zanieczyszczona sporami C.botulinum poddana nieodpowiedniej obróbce (większość zachorowań ma związek z przetworami przygotowywanymi w warunkach domowych). W przypadkach nie gotowanej, a jedynie wędzonej czy puszkowanej żywności w sprzyjających warunkach (odpowiedniej temperaturze i pH > 4,6) może dochodzić do kiełkowania niezniszczonych spor, namnażania się bakterii i produkcji toksyny. Brak właściwej obróbki cieplnej inaktywującej jad kiełbasiany (minimum ogrzewanie w 80°C przez 10 min.; najlepiej jednak gotowanie przez 20 min.) przed spożyciem tego typu pokarmu prowadzi do botulizmu. Wbrew pozorom źródłem zatruć u ludzi częściej okazują się konserwy roślinne (jarzynowe), aniżeli zwierzęce (mięsne) – toksynę botulinową wykrywano w wielu różnych produktach żywnościowych m.in. puszkowanej kukurydzy, papryce, zielonej fasoli, zupach, pieczarkach, miodzie, oliwkach, szpinaku, faszerowanych jajach, ale też szynce, kiełbasie, konserwach mięsnych, wędzonych i solonych rybach, krabach… Dzieje się tak dlatego, iż drobnoustroje znajdują się stale w glebie, stąd roślinne środki spożywcze łatwiej ulegają zanieczyszczeniu niż produkty pochodzenia zwierzęcego(7,8).

Spożyta wraz z pokarmem toksyna jest absorbowana do krwiobiegu już w żołądku. Czas inkubacji oraz przebieg kliniczny – rodzaj i intensywność objawów – zależą od ilości pochłoniętej toksyny. Pierwsze symptomy zatrucia zwykle pojawiają się po 12-36h, jednakże mogą wystąpić znacznie wcześniej bo już w ciągu 4h, bądź z opóźnieniem - nawet po 8 dniach. Konsekwencją ostrej obustronnej neuropatii nerwu czaszkowego jest upośledzenie wydzielania śliny, a przez to suchość w ustach, utrudnione połykanie, niewyraźna mowa, porażenie mięśni oka, opadanie powiek i powiększenie źrenic. Wczesne objawy manifestują się także osłabieniem, bólami i zawrotami głowy, podwójnym i nieostrym widzeniem czy trudnościami w mówieniu. Nie dochodzi jednak do zmian czucia. Chociaż chory nie gorączkuje i zachowuje przytomność, może popadać w letarg. W 50% przypadków mogą również pojawić się dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, jak nudności, wymioty, skurcze brzucha, biegunka lub zaparcia, poprzedzające objawy neurologiczne(4).
W ciężkiej formie chorobie postępujący symetrycznie, zstępujący paraliż wiotki mięśni - szczególnie głowy i szyi – prowadzi do utraty kontroli nad utrzymywaniem głowy, hipotonii, ogólnego osłabienia. Ponadto zaburzenia w układzie autonomicznym i porażenie mięśni gładkich mogą być przyczyną niestabilności ciśnienia tętniczego, zaburzenia funkcji jelit (osłabienie odruchów ścięgnowych, zaparcia), trudności w oddychaniu a nawet jego zaprzestania. Pacjenci z ciężkimi i ostrymi objawami zatrucia wymagają długiej opieki lekarskiej, konieczne jest także wspomaganie oddychania. W przypadku niepodjęcia leczenia w wyniku porażenia mięśni oddechowych (niedrożność oddychania lub zaprzestanie funkcji oddechowej) oraz zaburzenia pracy serca następuje śmierć. Chociaż częstość występowania botulizmu u ludzi jest niewielka, jednak śmiertelność w wyniku zachorowania jest bardzo wysoka i sięga 70% (w przypadku niepodjęcia natychmiastowego i właściwego leczenia) – to dlatego, że neurotoksyny botulinowe ze względu na mechanizm i szybkość działania są jednymi z najbardziej niebezpiecznych związków dla człowieka – szacuje się, że doustne podanie 70 µg czystej toksyny może wywołać skutek śmiertelny (4,5).

U osób, które przeżyły zatrucie botuliną często utrzymują się trwałe zaburzenia neurologiczne.Rzadką odmianą zatrucia jest tzw. botulizm noworodków dotyczący dzieci poniżej 12 miesiąca życia. Do rozwoju choroby dochodzi w efekcie spożycia przetrwalników C.botulinum, których źródłem najczęściej jest miód, bądź mleko w proszku. Małe dzieci są szczególnie narażone na zatrucie z uwagi na niezupełnie rozwiniętą naturalną florę bakteryjną jelit, co umożliwia germinację spor do form wegetatywnych i kolonizację dolnego odcinka przewodu pokarmowego przez namnażające się laseczki syntetyzujące toksynę, która wchłania się do krwiobiegu. Ponieważ BoNT o wiele wolniej wchłania się z jelita grubego w porównaniu do żołądka, rozwój botulizmu u niemowląt trwa dłużej niż u dorosłych. Choroba może przybierać postać łagodną i manifestować się zaparciami, porażeniem nerwów czaszkowych, a następnie obwodowych. Niedożywienie, osłabienie i popadanie w letarg są skutkiem porażenia mięśni utrudniającego przyjmowanie pokarmu;

charakterystyczne jest również gromadzenie się wydzieliny w jamie ustnej oraz amiotonia (brak napięcia mięśniowego). Z kolei w ciężkich przypadkach paraliż mięśni oddechowych prowadzi do zgonu (7).

Niekiedy przyczyną botulizmu może być dyfuzja toksyn z ran objętych zakażeniem mieszanym. Bakterie C.botulinum nie są w stanie kolonizować i namnażać się w zdrowych tkankach ze względu na obecność zabójczego dla nich tlenu. Mogą jednak rozwijać się w głębokich ranach z martwicą tkanki, gdzie panują warunki beztlenowe, wywołując tzw. botulizm przyranny. Z rany toksyna przenika do krwiobiegu i wraz z krwią rozprzestrzenia się po organizmie wywołując objawy neurologiczne identyczne jak w przypadku botulizmu pokarmowego. Tym, co odróżnia obie formy choroby jest brak symptomów ze strony przewodu pokarmowego w przebiegu botulizmu przyrannego(8).

Ostatnio coraz częściej odnotowuje się przypadki botulizmu przyrannego u osób zażywających narkotyki – najczęściej stosujących domięśniowe lub podskórne iniekcje heroiny, które wielokrotnie powtarzane powodują uszkodzenie i bliznowacenia tkanki mięśniowej, a także miejscowe zmniejszenie przepływu krwi, przez co łatwo dochodzi do powstawania ropni, w których panują warunki beztlenowe idealne dla rozwoju C.botulinum (4,8).

Toksyna botulinowa może przenikać przez błony śluzowe nie tylko przewodu pokarmowego, ale również układu oddechowego, powodując botulizm inhalacyjny np. u osób przyjmujących narkotyki drogą wziewną, które mają często uszkodzoną błonę śluzową nosa bądź zatok przynosowych, dzięki czemu bakterie mogą z łatwością wnikać do organizmu. Poza tym istnieje niebezpieczeństwo wykorzystania toksyny C.botulinum w atakach bioterrorystycznych drogą powietrzną w postaci aerozolu.Mimo, iż botulizm u zwierząt jest schorzeniem rzadko spotykanym, przypadki choroby mogą występować na całym świecie. Szczególnie wysokie prawdopodobieństwo jej wystąpienia dotyczy rejonów ubogich w fosfor i białko tj. terenów Afryki Południowej i Australii, gdzie w przypadku zwierząt hodowlanych (szczególnie bydło i owce) botulizm często przyjmuje charakter trudnych do opanowania epidemii. Chore zwierzęta wydalając do środowiska przetrwalniki bakterii stwarzają niebezpieczeństwo przeniesienia schorzenia na zdrowe zwierzęta poprzez zanieczyszczenie źródeł poboru wody czy pokarmu. Najczęściej objawy zatrucia jadem kiełbasianym pojawiają się w następstwie spożycia paszy skażonej toksyną, rzadziej wskutek toksykoinfekcji jelitowej spowodowanej rozwojem przetrwalników C.botulinum w jelitach bądź w miejscu zranienia i produkcji toksyny in situ. Czynnikiem etiologicznym botulizmu u zwierząt są głównie toksyny syntetyzowane przez szczepy typu C i D C.botulinum, rzadziej przyczyną zatrucia jest oddziaływanie BoNT/A, BoNT/B, BoNT/E (serotypy te odpowiadają za zatrucia przede wszystkim u ludzi). Schorzenie cechuje sezonowość występowania - dogodne dla rozwoju patogenu warunki temperaturowe sprawiają, iż częstotliwość wybuchów choroby znacznie wzrasta w okresie letnim. Z kolei zimowe przypadki botulizmu przeważnie związane są z intoksykacją (10).

Podobnie jak u ludzi przebieg kliniczny uzależniony jest od ilości wchłoniętej toksyny, a także gatunkowej wrażliwości zwierząt. Szczególnie wrażliwe są ssaki nieparzystokopytne, ptaki, duże i małe przeżuwacze, a spośród zwierząt mięsożernych – norki. Stosunkowo często choroba obserwowana jest u bydła, dla którego źródło zakażenia stanowi niewłaściwie przygotowana kiszonka lub sianokiszonka – nawożenie pól uprawnych odchodami kurzymi może powodować przeniesienie przetrwalników laseczek typu D na rośliny wykorzystywane do produkcji pasz, a tym samym stanowić czynnik przyczyniający się do wystąpienia botulizmu u bydła. Spory mogą pochodzić również z rozkładających się zwłok drobnych zwierząt przypadkowo dostających się do składowanego ziarna, gdzie odpowiednia wilgotność i warunki beztlenowe panujące w głębszych warstwach sprzyjają przekształceniu przetrwalników w formy wegetatywne i produkcji toksyny. Często na zatrucie narażone są zwierzęta hodowane na terenach ubogich w fosfor, kiedy to bydło

starając się uzupełnić niedobory pierwiastka poprzez spożywanie kości padłych zwierząt, jednocześnie wchłania do organizmu nagromadzone w nich toksyny (3).
Botulizm u zwierząt może przybierać różną formę – od ostrej, poprzez podostrą do przewlekłej. Okres inkubacji wynosi zazwyczaj od 2 do 17 dni; w przebiegu ostrym zwierzęta padają w przeciągu kilku-kilkunastu godzin, w postaci podostrej choroba trwa do ok.7 dni, natomiast w przypadkach przewlekłych śmierć może nastąpić nawet po kilkunastu dniach. Pierwsze objawy zatrucia obejmują utratę apetytu, zaburzenia koordynacji ruchowej, bezład, zataczanie się, do których dołączają się liczne porażenia wiotkie obejmujące początkowo mięśnie kończyn tylnych i ogon, stopniowo rozciągając się na kończyny przednie, głowę (szczególnie żuchwę i język) oraz szyję. W końcowej fazie choroby zwierzę przyjmuje pozycję leżącą z charakterystycznie skręconą w bok głową. W czasie trwania infekcji zwierzę nie gorączkuje, obserwuje się natomiast utratę mleka i zaparcia. W konsekwencji porażenia przepony i innych mięśni oddechowych następuje śmierć wskutek uduszenia(5).

Szczepy C.botulinum produkujące toksynę typu C są głównym czynnikiem etiologicznym botulizmu u ptaków wolnożyjących, zamieszkujących tereny podmokłe (bagna, okolice jezior), na których wiosną dochodzi do gnicia materiału roślinnego, a w efekcie wytworzenia warunków beztlenowych i rozwoju bakterii. Spośród ptaków udomowionych chorują w głównej mierze kaczki, kury, bażanty i indyki – potencjalnym źródłem zakażenia może być kał oraz padłe na botulizm zwierzęta. W rozprzestrzenianiu się choroby wśród ptactwa ważną rolę odgrywają również larwy owadów (chrząszcze, muchy), którymi się odżywiają. Zazwyczaj larwy nie wykazują wrażliwości na działanie BoNT/C, mogą natomiast stanowić idealny rezerwuar zarazka gromadząc w swoich organizmach zarówno przetrwalniki, jak i toksynę (10).
U ptaków po okresie inkubacji trwającym kilka godzin-kilka dni, początkowo pojawia się niezborność ruchów i zataczanie się. W miarę postępu choroby narastające niedowłady mięśni przechodzą w porażenia wiotkie obejmujące kończyny i skrzydła, a następnie mięśnie szyi powodując jej charakterystyczne skręcenie wraz z opadaniem głowy. W przypadku kurcząt brojlerów nie obserwuje się porażeń wiotkich, botulizm przebiega bowiem pod postacią zapalenia jelita i biegunki.

Spośród wszystkich gatunków zwierząt szczególnie wrażliwe na działanie toksyny botulinowej (typ C, D, B, A) są konie, u których podobnie jak u bydła zatrucie ma miejsce z reguły po spożyciu zanieczyszczonej toksyną lub przetrwalnikami paszy. Szczególna forma toksykoinfekcji odnotowywana jest u źrebiąt – ich niedostatecznie wykształcona naturalna mikroflora jelitowa sprzyja bowiem rozwojowi patogenu. Ponadto czynnikiem predysponującym do wystąpienia u źrebiąt botulizmu jest przyjmowane przez nie mleko klaczy zawierające duże stężenie hormonów kortykosteroidowych (1,3).

Do niedawna poważny problem stanowiły epidemie botulizmu w hodowlach norek i lisów (niekiedy też trzody chlewnej i psów) związane z karmieniem zwierząt padliną, odpadkami drobiu i ryb z rzeźni zawierającymi spory C.botulinum lub toksyny. Obecnie jednak masowe zatrucia wśród tej grupy zwierząt zostały znacznie ograniczone dzięki wprowadzeniu programu szczepień ochronnych.

DIAGNOSTYKA, LECZENIE, ZASTOSOWANIE BOTULINY

Rozpoznanie botulizmu opiera się na obserwacji charakterystycznych objawów klinicznych. Nie jest jednak łatwe ze względu na zróżnicowany obraz choroby, zależny od jej stadium oraz dawki toksyny jaka przedostała się do organizmu. Szczególny kłopot sprawia rozpoznanie pojedynczych przypadków charakteryzujących się łagodnym przebiegiem. W diagnostyce różnicowej

ważne jest uwzględnienie innych chorób, mianowicie: syndromu Guillain-Barre, miastenii, udaru, zatrucia wywołanego alkoholem metylenowym, węglanem baru, chlorkiem metylenu, organicznymi związkami fosforu, zatrucia grzybami, atropiną, tlenkiem węgla, jak również zapalenia substancji szarej rdzenia, zakażenia CUN, guza mózgu czy chorób psychicznych. W wywiadzie lekarskim nie bez znaczenia pozostaje także informacja o spożywaniu domowych przetworów. W przypadku noworodków botulizm należy różnicować z sepsą głównie na tle meningokokowym i wrodzoną miopatią. Przydatnymi badaniami pozwalającymi odróżnić botulizm od innych chorób jest też tomografia komputerowa, elektromiografia umożliwiająca określenie porażenia mięśniowego spowodowanego działaniem botuliny, oraz badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, w którym poszukuje się czynników zakaźnych lub oznacza poziom białka, którego ilość wzrasta np. w chorobie Guillaina-Barre ale pozostaje w normie przy zatruciu BoNT.

Słuszność postawionej diagnozy pozwalają potwierdzić odpowiednie badania laboratoryjne, mające na celu wykrycie toksyny w pobranym od pacjenta materiale klinicznym lub w podejrzanej o spowodowanie zatrucia żywności. Jadu kiełbasianego poszukuje się więc głównie w surowicy krwi, kale, treści żołądkowej i jelitowej, aspiratach z dróg oddechowych, tkankach i materiale pobranym z okolicy rany, a także żywności którą wcześniej spożywał chory.
Niekiedy próbki materiałów (kał, treść żołądka/jelit) posiewa się na podłoża celem izolacji laseczek beztlenowych, a następnie identyfikuje wyrosłe kolonie drobnoustrojów i określa toksyczność wyhodowanych izolatów C.botulinum – niestety jest to postępowanie czasochłonne, a dodatkowo właściwości biochemiczne C.botulinum nie zawsze pozwalają na pewną identyfikację gatunku (niektóre szczepy proteolityczne mogą wykazywać cechy podobne do C.sporogenes). W niektórych przypadkach niemożność pobrania odpowiednich próbek materiałów klinicznych ze względu na nieznaczną zawartość toksyny (stężenie poniżej progu wykrywalności) lub ryzyko jej degradacji podczas transportowania próbek stanowi dodatkowe ograniczenie dla badań laboratoryjnych.

Klasyczną metodą wykrywania toksyny botulinowej i określenia jej typu jest przeprowadzenie próby biologicznej na wrażliwych zwierzętach laboratoryjnych – myszach/świnkach morskich. Metody biologiczne służą jako testy referencyjne, wymagają jednak długiego czasu obserwacji zwierząt (kilka dni), co opóźnia szybkie podjęcie ukierunkowanego leczenia. Dodatkowo mogą dawać niespecyficzne wyniki w przypadku gdy czynnikiem etiologicznym choroby jest szczep zdolny do produkcji dwóch typów neurotoksyny; ponadto ostateczne rozpoznanie powinno być poparte metodami hodowlanymi.
W zatruciu jadem kiełbasianym szybka diagnostyka ma decydujące znaczenie dla natychmiastowego podjęcia właściwej terapii, dlatego coraz częściej w laboratoriach stosowane są metody umożliwiające uzyskanie wyniku w krótszym czasie. Należą do nich metody biologii molekularnejtakie jak: PCR, multiplex PCR, real-time PCR, przy pomocy których wykrywane są specyficzne fragmenty genów odpowiedzialne za syntezę neurotoksyn. Wadę tych metod może stanowić fakt, iż przy ich użyciu nie bada się aktywności neurotoksyn w próbkach, a także często konieczność stosowania etapu przednamnażania na podłożach płynnych umożliwiającego germinację spor i zwiększenie liczby komórek C.botulinum w badanej próbce. Co ważne – obecność w próbkach kału, surowicy i żywności m.in. soli kwasów żółciowych, immunoglobulin, krwi, białka i tłuszczu wpływa negatywnie na czułość reakcji PCR oraz hybrydyzacji DNA(9).

W diagnostyce botulizmu oprócz wspomnianych metod wykorzystuje się także odczyn immunoenzymatyczny (ELISA), hemaglutynacji pośredniej bądź odczyn immunofluorescencyjno-adsorpcyjny oraz metody radioimmunologiczne – wszystkie charakteryzujące się wysoką czułością, swoistością, prostotą wykonania i interpretacji wyników, jak również krótkim czasem oczekiwania na wynik(4).

W leczeniu botulizmu podstawowym założeniem jest inaktywacja toksyny, która przedostała się do organizmu. Obecnie jedyną dostępną terapią jest immunizacja bierna, a więc dożylne podanie

antytoksyny (surowica końska lub ludzka), której zadaniem jest neutralizacja wolnej toksyny, niezwiązanej jeszcze z zakończeniami nerwowymi. Niezwykle istotne jest jak najszybsze podjęcie tego typu działania, bowiem po upływie 24h od momentu wystąpienia objawów klinicznych botulina, która uległa internalizacji staje się niedostępna dla antytoksyny. W leczeniu botulizmu pokarmowego antybiotykoterapia nie ma zastosowania, co więcej – aplikacja leku może nawet przyczynić się do uwolnienia toksyny w jelitach. W przypadkach ciężkiego przebiegu zatrucia jadem kiełbasianym pacjenci często wymagają leczenia wspomagającego m.in. odżywiania za pomocą sondy lub parenteralnego (pozajelitowego), oddychania przy pomocy respiratora, czy leczenia zakażeń wtórnych.
Jak dotąd nie ma na rynku dostępnej szczepionki przeciw-botulinowej, aczkolwiek dopuszczalne są szczepienia osób z grupy podwyższonego ryzyka pięcioważną szczepionką przeciw C.botulinum (toksoid – mieszanina 5 serotypów BoNT unieczynnionych formaldehydem, zaadsorbowana na solach aluminium)(6).
Aktualnie prowadzone są badania nad stworzeniem/możliwością wykorzystania w terapii nowych leków wykazujących zdolność hamowania aktywności toksyny na każdym etapie jej działania, a więc blokujących wiązanie się BoNT do komórek docelowych (ludzkie przeciwciała monoklonalne, lektyny pochodzenia zwierzęcego i roślinnego wykazujące powinowactwo do kwasów sialowych, rozpuszczalne analogi receptorów i związki blokujące receptory), proces internalizacji, translokacji lub aktywność enzymatyczną (krótkie peptydy, pochodne kwasów hydroksamowych, aptamery – krótkie oligonukleotydy (RNA lub DNA) wykazujące wysokie powinowactwo do cząsteczek docelowych, głównie białek)(9).

Pomimo wysoce trującego działania, botulina jest pierwszą biologiczną toksyną dopuszczoną przez FDA (Food and Drug Administration – Agencja ds. Żywności i Leków) do stosowania w klinicystyce. Wysoka specyficzność wobec obwodowych zakończeń nerwowych, pełna odwracalność skutków działania na poziomie komórkowym, a także fakt iż małe dawki toksyny wstrzyknięte miejscowo właściwie nie rozprzestrzeniają się poza miejsce iniekcji spowodowały, że BoNT znalazły szerokie zastosowanie w terapii schorzeń, w których korzystna jest blokada połączeń nerwowych np. różnego rodzaju zaburzeń neurologicznych, takich jak: dystonia krtaniowa, dystonia karku oraz kończyn, kurcz powiek, dłoni, zez, nadmierna potliwość i ślinienie się czy migrenowe bóle głowy. Ponadto od lat toksyna botulinowa stanowi alternatywę chirurgii plastycznej – BoNT/A (słynny Botox) jest bowiem z powodzeniem stosowana w medycynie estetycznej m.in. w celu wygładzania zmarszczek mimicznych (2,9).

Opracowała: Katarzyna Sowa-Lewandowska

1. Zatrucie jadem kiełbasianym – problem wciąż aktualny. M.Kizerwetter-Świda, M.Binek; Post. Mikrobiol. 2010; 40,2,75-85
2.Struktura i mechanizm http://laboratoria.net/actualizer/img/rte_v_html_n.gifdziałania neurotoksyn bakterii rodzaju Clostridium. S.Parasion, M.Bartoszcze, R.Gryko; Przegl. Epidemiol. 2007; 61,519-527
3.Clostridium botulinum – charakterystyka i znaczenie epidemiologiczne. T.Grenda, K.Kwiatek; Medycyna Wet. 2009; 65(11)
4. Nowe strategie poszukiwania leków przeciw-bakteryjnych – leki przeciw-toksynowe. E.K.Jagusztyn-Krynicka, J.Rybacki, A.M.Łasica; Post. Mikrobiol. 2009; 48,2,93-104
5. Wykłady i ćwiczenia z mikrobiologii lekarskiej – własne notatki
6.Od broni biologicznej do usuwania zmarszczek – zastosowania toksyny botulinowej. D.Śliwa
7. Jad kiełbasiany w teorii i praktyce. M.Staroń; http://laboratoria.net
8.Toxigenic Clostridia.Ch.L.Hatheway; Clin. Microbiol. Rev. 1990; 3,1,66-98
9. Clostridial neurotoxins. A.Goonetilleke, J.B.Harris; J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004; 75

10.Pathogenic Clostridia, including botulism and tetanus. K.Toodar 2009

https://laboratoria.net/artykul/14771.html

Informacje dnia: Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki

Partnerzy