

۱) مقدمه

بیماری بوتولیسم و کزاز هر دو ناشی از مسمومیت با پروتئین نوروتوکسین هستند که به وسیله دو نوع کلوستریدیا (Clostridia) بوجود می آیند. ساختار و عملکرد توکسین ها بسیار شبیه بهم بوده، اما بدلیل مورد تهاجم قراردادن سلول های متفاوت در سیستم عصبی، از نظر اثرات بالینی تفاوت های فاحشی دارند. نوروتوکسین بوتولینوم عمدتاً سیناپس های اتونومیک و محل اتصال اعصاب عضلانی محیطی را مورد حمله قرار داده که مهم ترین تظاهر آن به صورت ضعف است. اگر چه توکسین کزاز می تواند بر همان سیستم ها اثر گذار باشد، اما بدلیل تروپیسیم سلول های مهارکننده سیستم اعصاب مرکزی، اساساً تظاهراتی به صورت سفتی و اسپاسم ایجاد می کند. هر یک از این دو وضعیت، بالقوه بسیار مرگبار بوده اما از طریق آموزش و انجام اقدامات پیشگیرانه در زمینه بهداشت عمومی قابل پیشگیری می باشند.

توکسین بوتولیسم براساس تفاوت آنتی ژنتیک خود به انواع A, B, C, D, E, F, G تقسیم می شود که انواع A, B, E, F, G در انسان موجب بیماری شده، نوع G موجب مرگ ناگهانی بدون بیماری فلجی می شود که در سال ۱۹۷۷ از نمونه های اتوپسی ۵ بیمار در کشور سوئیس جدا شد. در حالی که انواع D و C* تقریباً بطور انحصاری در حیوانات موجب بیماری می گردد.

بوتولیسم یک بیماری پارالیتیک ناشی از نوروتوکسین کلوستریدیوم بوتولینوم و در موارد نادر ناشی از *Clostridium butyricum* و *Clostridium baratii* می باشد و دارای باسیل های گرم مثبت بی هوازی است که قادر به ایجاد اسپور بوده و در نمونه های خاک و رسوبات دریایی در سراسر جهان یافت می شوند. دز کشنده توکسین بوتولیسم برای انسان کمتر از ۱mcg/kg می باشد. دز کشنده برای یک فرد ۷۰ کیلوگرمی از راه خوراکی 70mcg و از راه استنشاقی 0.08 تا ۰.۰۹mcg و از طریق تزریقی ۹% تا ۱۵mcg می باشد (sobel 2005-19). بنابراین توکسین های بوتولینوم جزو سمی ترین مواد شناخته شده بوده و می توانند به عنوان یک سلاح بیولوژیک و در نتیجه تهدید بسیار بزرگی برای ملل دنیا محسوب گردند. هم چنین به دلایل کشندگی بسیار بالا، تولید و حمل آسان و نیاز به درمان و مراقبت شدید و طولانی بیماران، CDC آمریکا آن را جزء یکی از شش عامل با بالاترین میزان خطر تقسیم بندی نموده است.

(۲) تاریخچه

کلمه بوتولیسم از واژه لاتین بوتولوس یا سوسیس گرفته شده است. در قرن ۱۹ گزارش طغیان‌های بیماری مبنی بر مسمومیت با سوسیس و سایر فرآورده‌های غذایی در اروپا وجود داشت. Justinus kerner یکی از کارکنان بهداشتی در جنوب آلمان رابطه بین سوسیس و بیماری فلجی (پارالیتیک) را در ۲۳۰ بیمار در سال ۱۸۲۰ شناسایی کرد و مسمومیت ناشی از سوسیس را یک بیماری قابل گزارش اعلام نمود. در همان زمان پزشکان روسی این بیماری را با علائم مشابه و در اثر مصرف ماهی شناسایی و مسمومیت ناشی از ماهی (Fish poisoning) نامگذاری کردند. در سال ۱۸۹۷ Van Ermengen اولین توصیف بوتولینوم را ارائه نمود و نشان داد که ارگانیسم با تولید سم می‌تواند باعث تولید ضعف در حیوانات شود. این ماده بعداً به عنوان توکسین نوع A شناسایی گردید. در سال ۱۹۰۴ توکسین نوع B، در سال ۱۹۴۳ بوتولیسم زخم و در سال ۱۹۷۶ بوتولیسم اطفال شرح داده شدند. در سال ۱۹۴۶ توکسین نوع A جداسازی و تصفیه گردید. وقوع موارد تک‌گیر بیماری بدون اتیولوژی خاص خصوصاً کلونیزاسیون در دستگاه گوارش، برای اولین بار در سال ۱۹۸۶ گزارش گردید.^(۱)

(۳) خصوصیات کلستریدیوم بوتولینوم

کلستریدیوم بوتولینوم یک باسیل بزرگ گرم مثبت و بی‌هوازی اجباری مطلق است که می‌تواند اسپور ساب ترمینال Subterminal ایجاد نماید. ک. بوتولینوم در خاک و رسوبات دریایی در سراسر دنیا یافت می‌شوند. به همین دلیل احتمال آلودگی سبزیجات به‌عمل آمده در خاک نیز وجود دارد. همچنین می‌تواند در دستگاه گوارش ماهی‌ها، پرندگان و پستانداران تجمع پیدا نماید.

انواع کلستریدیوم بوتولینوم برحسب نوع توکسین به چهار گروه تقسیم می‌شوند که در جدول زیر به همراه درجه حرارت مناسب رشد هر یک از آنها آورده شده است.

گروه ۱: ارگانیسم در محیط کشت پروتئولیتیک بوده و می‌تواند انواع توکسین‌های A, B, F را تولید نماید.

گروه ۲: ارگانیسم غیرپروتئولیتیک می‌باشد که می‌تواند تولید انواع توکسین‌های E, B یا F را نماید.

گروه ۳: ارگانیسم‌هایی هستند که تولید توکسین‌های C یا D را می‌نمایند.

گروه ۴: توکسین G را تولید می‌نمایند. یک سویه (گروه) تقریباً همیشه یک نوع توکسین را تولید می‌نماید.

گروه‌های کلستریدیوم بوتولینوم				
چهار	سه	دو	یک	
G	C, D	B, E, F	A, B, F	نوع توکسین
درجه حرارت مناسب رشد گروه‌های کلستریدیوم بوتولینوم				
۳۷	۴۰	۱۸ – ۲۵	۳۵ – ۴۰	حداکثر
—	۱۵	۳/۳	۱۲	حداقل

۴) طبقه‌بندی

تاکنون چند نوع بوتولیسم بر حسب راه سرایت بیماری شرح داده شده است

۱- ۴ - **بوتولیسم ناشی از غذا:** بدنبال خوردن غذاهای آلوده که به درستی فراوری نشده و حاوی سم باشند، ایجاد می‌شود.

۲- ۴ - **بوتولیسم نوزادان:** به علت تجمع ارگانیسم‌ها در روده کودکان زیر یکسال بوجود می‌آید. در این گروه سنی، فلور طبیعی روده به حد کافی تکامل پیدا نکرده تا از تجمع ارگانیسم‌ها در روده جلوگیری نماید.

۳- ۴ - **بوتولیسم زخم:** بدلیل انتشار عمومی توکسین که به‌وسیله ارگانیسم‌های موجود در زخم و معمولاً به دنبال ضربه، تروما، سوراخ‌شدگی و جراحی بوجود می‌آید.

۴- ۴ - **بوتولیسم ناشی از استنشاق:** که اخیراً شرح داده شده است. تا این زمان تنها موارد انسانی ناشی از استنشاق غیر عمدی توکسین بوتولیسم در بین کارکنان آزمایشگاه دیده شده است، اما ابتلا از طریق آئروسول و استنشاق توکسین بوتولیسم به عنوان یک شیوه احتمالی در یک حمله تروریستی می‌تواند مطرح گردد.

۵- ۴ - **بوتولیسم بالغین:** به علت تجمع اسپور در روده بوجود آمده و مشابه بوتولیسم کودکان است. این شکل بیماری در کودکان بالای یک سال و در بالغین با دستگاه گوارش غیرطبیعی نظیر ابتلا به کولیت یا انجام اعمال جراحی بای پس روده و یا همراه با شرایطی که قادر به ایجاد اختلال موضعی یا منتشر در فلور طبیعی روده است، بوجود می‌آید.

۶- ۴ - **بوتولیسم ناشی از تزریق:** بدنبال تزریق هروئین زیر جلدی آلوده در معتادان به مواد مخدر بوجود می‌آید.

۷- ۴ - **بوتولیسم ناشی از درمان (Iatrogenic Botulism):** این نوع بوتولیسم در اثر تزریق توکسین بوتولینوم به منظور درمان و یا کاربرد در زیبایی بوجود می‌آید. چهار مورد بوتولیسم Iatrogenic در دسامبر ۲۰۰۴ بدنبال تزریق توکسین بوتولینوم (با دز بالا) به منظور زیبایی در فلوریدا گزارش شده است.

طبقه بندی بوتولیسم

طبقه بندی	راه انتقال	علت	منبع	شروع علائم و نشانه ها
بوتولیسم ناشی از غذا	دستگاه گوارش	خوردن توکسین ک. بوتولینوم از پیش تولید شده	- غذای کنسروی که بطور ناصحیح تهیه شده باشد - غذای آلوده	معمولاً ۳۶ - ۴ ساعت بعد از خوردن توکسین
بوتولیسم اطفال	دستگاه گوارش	خوردن اسپور ک. بوتولینوم که منجر به تولید توکسین در دستگاه گوارش می شود	- عسل - غذای آلوده	متغیر است، از ۵ - ۱ ماه بعد از خوردن اسپورها
بوتولیسم زخم و تزریق	زخم پوستی	بوجوه آمدن توکسین بوتولینوم در داخل زخم یا محل تزریق (بعد از رشد کلستریدیوم بوتولینوم در زخم آلوده یا محل تزریق)	- آبسه، زخم باز، سوراخ - شدگی، تروما و - تزریقات	۱۴ - ۴ روز بعد از بوجود آمدن زخم
بوتولیسم ناشی از استنشاق	دستگاه تنفسی	استنشاق توکسین، ک. بوتولینوم	- کار با توکسین در آزمایشگاه - حمله بیوتروریستی	نامشخص می باشد
بوتولیسم بالغین	دستگاه گوارش	خوردن اسپور ک. بوتولینوم که منجر به تولید توکسین در دستگاه گوارش می شود	- غذای آلوده	متغیر است، از ۲ - ۱ ماه بعد از خوردن اسپورها

(۵) بیماریزایی

کلستریدیوم بوتولینوم بطور وسیع در محیط گسترش داشته، می‌توان آن را در خاک، آب تازه و رسوبات آب نمک، گرد و خاک خانه و در سطوح بسیاری از مواد غذایی یافت. توکسین دارای پروتئین‌های سیتوپلاسمیک (به وزن ۱۰۰kda و ۱۵۰Kda) بوده که موجب لیز شدن سلول‌ها می‌شود.

اسپورها به مدت ۲ ساعت در ۱۰۰ درجه زنده می‌مانند (اما در حرارت ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به سرعت از بین می‌روند)، در حالیکه اگزوتوکسین نسبت به حرارت حساس بوده و در درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و یا در درجه حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۵ دقیقه غیرفعال می‌گردد.

در بوتولیسم ناشی از غذا، توکسین به همراه غذا خورده می‌شود که ابتدا در دوازدهه و روده کوچک جذب شده، سپس وارد خون شده و از آن طریق به سیناپس‌های کولینرژیک محیطی می‌رسد (از جمله محل اتصال عصب و عضله (Neuromuscular junction)). در بوتولیسم ناشی از زخم اسپورها وارد زخم شده، در آنجا رشد یافته و ایجاد توکسین می‌نمایند. بوتولیسم زخم بیشتر با تزریقات عضلانی و زیر جلدی هروئین همراه است. بوتولیسم اطفال و احتمالاً بوتولیسم بالغین دارای اتیولوژی ناشناخته هستند که معمولاً بعد از خوردن اسپورها بوجود می‌آیند.

در بوتولیسم غذایی اکلوریدریا (Achlorhydria) و مصرف آنتی‌بیوتیک ممکن است به تجمع کلستریدیوم بوتولینوم در دستگاه گوارش کمک نماید و در بوتولیسم استنشاقی، بعد از استنشاق توکسین از طریق اپیتلیوم آلوئول‌های ریوی، وارد جریان خون می‌شود. اگر چه نحوه ورود توکسین به بدن انسان با توجه به اشکال بیماری متفاوت بوده ولی تظاهرات بالینی بوتولیسم عموماً بستگی به نوع توکسین بوتولیسم دارد تا محل ایجاد آن، و به محض ورود توکسین به جریان خون،

جهت ایجاد علائم بالینی به روش یکسانی عمل می‌نماید. توکسین به گیرنده‌های انتهایی پره سیناپتیک سیناپس‌های کولینرژیک متصل و ایجاد وزیکول نموده و سپس به سیتوستول (Cytostol) منتقل می‌شود. در آنجا توکسین مانع آزاد شدن استیل کولین می‌گردد. جلوگیری از آزاد شدن نوروترانسمیترها من جمله استیل کولین در انتهای عصبی دائمی است و بهبودی زمانی اتفاق می‌افتد که اکسون‌های عصبی، انتهاهای جدیدی را ایجاد نمایند.

اثرات توکسین به بلوک کردن انتهاهای اعصاب محیطی کولینرژیک محدود می‌شود که از آن جمله می‌توان به محل‌های اتصال عصبی عضلانی، انتهاهای اعصاب پاراسمپاتیک، پست‌گانگلیونیک (Postganglionic) و گانگلیون‌های محیطی اشاره نمود. بلوک مذکور موجب ایجاد فلج پایین رونده دو طرفه عضلانی که از اعصاب مغزی، نخاعی و اتونومیک کولینرژیک، عصب می‌گیرند شده، اما سبب آسیب دیدن اعصاب آدرنرژیک یا حسی نمی‌شود. هم چنین هیچ گونه آسیبی در اعصاب مرکزی مغزی ایجاد نمی‌کند (سندرم کلاسیک بوتولیسم عبارت از فلج حرکتی پایین رونده دو طرفه در یک بیمار هشیار بدون اختلال حسی است).

علائم و نشانه‌های بوتولیسم در اعضا و یا دستگاه مبتلا شده

اعضاء و یا دستگاه مبتلا شده	علائم و نشانه‌ها
بینایی	دو بینی تاری دید ترس از نور
چشمی	پتوزپلک ضعف حرکت چشم به خارج فلج حرکتی چشم‌ها در نگاه به یک طرف
مردمک‌ها	۵۰٪ نرمال ۵۰٪ متسع و یا بدون پاسخ به نور نیست‌اگموس
تکلم	خشکی دهان اختلال تکلم
بلع	گلودرد اختلال در بلع ضعف عضلات کام ضعف عضلات زبان خفگی
حسی	نرمال
تنفسی	ضعف یا فلج عضلات تنفسی نارسایی تنفسی احساس خفگی
معددهای روده‌ای	استفراغ اسهال دردهای شکمی ایلئوس فلجی
ادراری تناسلی	اتساع مثانه احتباس ادراری یا عدم کنترل آن
انتهای	آتاکسی پاراستزی ضعف تا فلج، از پروکسیمال به دیستال
رفلکس‌های عمقی تاندون	در مراحل اولیه دست نخورده است در فلج شدید، کاهش یافته یا از بین می‌رود

۶) جمع آوری نمونه ها

نمونه های مناسب جهت آزمایش توکسین و میکروارگانیسم کلستریدیوم بوتولینوم، در طغیان های ناشی از غذا شامل سرم، مدفوع، مواد استفراغی، محتویات معده و مواد غذایی مشکوک و در بوتولیسم ناشی از زخم، سرم، مواد ترشحي و بافت های مرده یا سواب گرفته شده از زخم بیماران و در بوتولیسم اطفال شامل نمونه های مدفوع و سرم می باشد. در برخی از موارد، آزمایش نمونه های محیطی از نظر کلستریدیوم بوتولینوم در تعیین منبع احتمالی بیماری کمک کننده است (به عنوان مثال در بوتولیسم اطفال).

تمام نمونه ها به استثناء سواب زخم، بایستی داخل یخچال نگه داری (نباید فریز شوند) و هرچه سریع تر پس از جمع آوری، آزمایش شوند. جهت جداسازی کلستریدیوم بوتولینوم، نمونه های زخم بایستی در محیط های انتقال غیر هوازی بدون نگه داری در یخچال (Without refrigeration) به آزمایشگاه ارسال شوند. همچنین نمونه های غذا بایستی در ظروف اصلی شان یا در ظروف استریل نشکن به همراه برچسب مشخصات ارسال شوند. لازم به ذکر است ظروف خالی و باقی مانده های مواد غذایی مشکوک گاهی می توانند جهت آزمایش مورد استفاده قرار گیرند. در برچسب ظروف نمونه بایستی نام بیمار، تاریخ تهیه، تاریخ ارسال و داروهای مصرف شده نیز نوشته شود. در بعضی از موارد جهت تایید خنثی شدن توکسین، تعیین مقدار و مدت زمان باقی ماندن آنتی توکسین، در نمونه سرمی که بعد از درمان تهیه می شود لازم می باشد. تایید ارگانیسم، توکسین و نوع توکسین در ۷۵٪ موارد اتفاق می افتد. مواردی که زودتر شناسایی می گردند را به احتمال خیلی زیاد از طریق ارزیابی بیولوژیک و مواردی که دیرتر شناسایی می شوند را از طریق کشت مثبت ارگانیسم به طریق آزمایشگاهی می توان تشخیص داد. قابل ذکر است تایید آزمایشگاهی توکسین از طریق ارزیابی بیولوژیک موش و تعیین نوع توکسین، از طریق خنثی سازی توکسین در موش انجام می گیرد.

قبل از درمان با آنتی توکسین باید ۱۵-۱۰ میلی لیتر سرم، به همراه ۵۰-۲۵ گرم از مدفوع، نمونه گرفته و در صورت امکان ۵۰-۲۵ میلی لیتر از مایع محتویات معده را آسپیره نمود و همچنین به همان مقدار از مواد غذایی مشکوک نیز بایستی جمع آوری و نمونه برداری نمود و در درجه حرارت یخچال نگهداری کرد. در بیماران مبتلا به یبوست، گاهی تنقیه آب نمک برای تهیه نمونه مدفوع مورد نیاز می باشد.

در بوتولیسم ناشی از غذا، توکسین در ۳۹٪ نمونه های سرم، ۲۴٪ نمونه های مدفوع و ارگانیسم در ۵۵٪ نمونه های کشت شده یافت می شود و معمولاً کشت مدفوع از نمونه هایی که جهت کشف توکسین دیر تهیه شده اند (بیشتر از سه روز بعد از خوردن غذا) حساس تر است. چنانچه بیمار در حال مصرف دارویی است که امکان تاثیر در نتیجه آزمایش توکسین یا کشت مدفوع را دارد، بایستی آزمایشگاه را در جریان قرار داد، بطور مثال داروهای آنتی کولین

استراز خوراکی که جهت درمان بیماران مبتلا به میاستنی گراویس، بکار می روند می توانند در بررسی توکسین بوتولینوم موشها تاثیر گذار باشند.

در بوتولیسم اطفال بدلیل اینکه در آزمایش سرم بیمار از نظر توکسین، بندرت نتیجه مثبت می شود، مدفوع و مایع تنقیه نمونه های انتخابی هستند. امکان تهیه کشت از منابع احتمالی کلستریدیوم مانند عسل، گرد و خاک نیز امکان پذیر است. در بوتولیسم زخم، توکسین را می توان در نمونه های سرم و نمونه های کشت و در بوتولیسم نوع بالغین ارگانیسم را می توان در کشت مدفوع، و توکسین را تا ۱۱۹ روز پس از شروع علائم بیماری در سرم بدست آورد.

۷) ارسال نمونه ها

نمونه ها باید در ظروف غیر قابل نشت، بطور جداگانه بسته بندی و در درجه حرارت یخچال به آزمایشگاه ارسال گردند. همچنین بر روی بسته باید " برچسب مشخصات، فوریت پزشکی، خطر بیولوژیک و به محض دریافت در یخچال قرار داده شوند"، بطور مشخص نوشته و با سریع ترین وسیله ممکن ارسال گردند. ظروف مقوایی برای تهیه نمونه های مدفوع مناسب نیستند. پیش از ارسال، آزمایشگاه باید به وسیله تلفن از زمان ارسال و نحوه ارسال نمونه ها مطلع گردد. در صورت پیش آمدن تاخیر چند روزه غیر قابل اجتناب در ارسال، نمونه ها (سرم یا مدفوع) باید پس از فریز شدن در ظروف دارای فضاهای مجزا و عایق بندی شده به همراه یخ خشک و مواد پوششی مناسب بسته بندی و ارسال نمود. لازم به ذکر است فریز کردن بر توانایی کشف توکسین بوتولینوم نمونه ها تاثیری نداشته، اما بر توانایی کشف کلستریدیوم بوتولینوم موثر است. پس نمونه هایی که جهت کشف ارگانیسم ارسال می گردند می بایست بدون هیچ گونه تاخیر و همچنین قبل از تجویز آنتی توکسین برداشت و ارسال شوند. قبل از ارسال نمونه ها به آزمایشگاه رفرانس کشوری (بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران) باید فرم ارسال نمونه ها در سه نسخه تکمیل و مورد بیماری به صورت فوری و تلفنی به مرکز بهداشت شهرستان و از آنجا با استان و مرکز مدیریت بیماریها گزارش شوند. آزمایشگاه بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران، نتایج آزمایش نمونه ها را در فرم Botulism form به صورت نمابر به مرکز مدیریت بیماری ها و معاونت بهداشتی مربوطه ارسال می نماید.

فلوچارت بررسی بوتولیسم

