

## نقش کلوستریدיום بوتولینوم در ایجاد مسمومیتهای غذایی در ایران

دکتر شهاب مدرس - عضو هیئت علمی - دانشیار - انستیتو پاستور ایران

### A Survey of Clostridium Botulinum in Food Poisoning in IRAN

#### ABSTRACT

Food-borne botulism is one of the dangerous food poisonings in human in the world. The specimens of 115 patients (serum and stool) with clinical symptoms of botulism, who were inpatient and outpatient were collected at some medical centers in Tehran and other areas of Iran, between April 1984 to August 1994.

In this survey, specimens of 73 patients showed the toxin and spore of *C. botulinum*.

*Clostridium botulinum* type E, was the most common causative agent in food-borne botulism, being responsible for 71.24% of all specimens; other etiologic types, in order of frequency were types A (16.43%) and B (12.33%).

The results of this study indicate, that the various kinds of fish, salted fish, smoked fish and canned fish, also cans of greenbeans and cucumber were causative of food-borne botulism in patients.

### خلاصه

انواع مختلف مواد غذایی آلوده به توکسین یا اسپورکلوستریدיום بوتولینوم، برحسب عادات مردم و همچنین انتشار جغرافیائی در ایجاد مسمومیت غذایی بوتولیسم نقش دارند. بمنظور انجام این مطالعه از خرداد ماه ۱۳۶۳ تا شهریور ۱۳۷۳ جمعاً از ۱۱۵ بیمار بستری در مراکز آموزشی، درمانی تهران و مناطق مختلف ایران که مشکوک به علائم بالینی بیماری بوتولیسم بودند نمونه های بالینی شامل سرم خون و مدفوع جمع آوری شد و سپس این نمونه ها جهت شناسایی و بررسی وجود اسپور و توکسین کلوستریدיום بوتولینوم، تعیین تیپهای شایع باکتری و همچنین ارتباط انواع کلوستریدיום بوتولینوم با منابع غذایی آلوده در انستیتو پاستور ایران مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. در این بررسی از نمونه های بالینی ۷۳ نفر از بیماران بستری اسپور و توکسین کلوستریدיום بوتولینوم جدا گردید. در اکثر بیماران، منشاء آلودگی ماهیهای تازه و دودی، تخم ماهی شور، کنسرو ماهی و در مواردی انواع کنسروهای گیاهی (نخود فرنگی، لوبیا، خیارشور) بوده است. شایعترین تیپهای باکتری در نمونه های بالینی بیماران تیپ E کلوستریدיום بوتولینوم (۷۱/۲۴٪)، تیپ A (۱۶/۴۳٪) و تیپ B (۱۲/۳۳٪) مشخص گردید. همچنین در این بررسی بیشترین میزان

آلودگی مواد غذایی مربوط به انواع ماهیها اعم از کنسرو و غیر کنسرو، ۸۳/۷۰٪ بوده است. میزان بالای آلودگی نمونه های بالینی بیماران به توکسین و اسپورکلوستریدיום بوتولینوم تیپ E حائز اهمیت میباشد.

### مقدمه

عامل مسمومیت غذایی بوتولیسم، باکتری کلوستریدיום بوتولینوم است. این باکتری، باسیل گرم مثبت، بی هوازی اجباری و دارای اسپور از نوع Subterminal بوده که متحرک و فاقد کپسول می باشد. از خصوصیات مهم این باکتری، توانایی در ایجاد اسپورهائی است که در برابر حرارت، اشعه، خشکی، برودت و همچنین برخی از مواد شیمیائی و ضد عفونی کننده به مدت طولانی مقاومت نموده و در شرایط مناسب ژرمینه شده و رشد میکنند (۲،۴).

اسپورکلوستریدיום بوتولینوم در برابر حرارت مرطوب ۱۰۰ درجه سانتی گراد بیش از ۲ ساعت پایداری میکند، اما اسپور تیپ E باکتری بر خلاف سایر تیپها مقاومت کمتری نشان داده، به طوری که حرارت ۸۰ درجه سانتی گراد را چند دقیقه بیشتر تحمل

تیپها وجود دارد، اما دارای اثرات مشابه در اتصال به عصب و عضله می باشند.

کلوستریدیوم بوتولینوم به سبب تیپهای مختلفی که دارد از لحاظ بیماریزایی، یک بیماری مشترک محسوب میگردد، زیرا تیپهای F و E و B و A باکتری در انسان، تیپ C در پرندگان و تیپ D در گاو و گوساله بیماری ایجاد می نمایند (۲،۹،۱۲).

## روش کار

هدف از این مطالعه بررسی نقش و میزان کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیت های غذایی، تعیین تیپهای شایع باکتری و همچنین ارتباط انواع کلوستریدیوم بوتولینوم با منابع غذایی آلوده در ایران بوده است.

جهت انجام این مطالعه از خرداد ماه ۱۳۶۳ تا شهریور ۱۳۷۳ نمونه های بالینی ۱۱۵ بیمار بستری و مشکوک با علائم بالینی بوتولیسم شامل سرم خون و مدفوع از مراکز آموزشی، درمانی تهران و سایر مناطق مختلف ایران در ظروف مخصوص نمونه گیری جمع آوری و تا بهنگام آزمایش در شرایط (۱۰- ) درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

باتوجه به این که بررسی باکتريولوژیک نمونه ها جهت جستجو و تعیین تیپ، بدون جستجوی توکسین امکان پذیر نمی باشد، بنابراین این در این مطالعه با استفاده از امکانات انستیتویاستور ایران و براساس روشهای استاندارد باکتريولوژیک بی هوازی، نمونه های مدفوع بیماران کشت داده شده به کمک روش حساس نوترالیزاسیون توکسین، نمونه های مدفوع و سرم خون مورد بررسی و تعیین تیپ قرار گرفتند (۹).

## نتایج

با توجه به نقش کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیت های غذایی خطرناک در بیشتر کشورهای جهان و نیز نوعی که در انتشار جغرافیائی تیپهای مختلف این باکتری مشاهده می شود، مطالعه و شناسائی کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیت های غذایی در ایران موضوع مطالعه حاضر است، که در این خصوص علاوه بر تعیین میزان باکتری و تیپهای شایع آن در نمونه های بالینی مورد مطالعه، منابع غذایی آلوده و مورد مصرف بیماران در ارتباط با انواع کلوستریدیوم بوتولینوم نیز مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته و نتایج حاصل در جدول ۱ و ۲ و نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ و ۴ نمایش داده شده است.

درجه حرارت در رشد کلوستریدیوم بوتولینوم و در نتیجه تولید توکسین از باکتری نقش مهمی بعهده دارد، معمولاً حرارت مناسب جهت فعالیت تیپهای B و A این باکتری ۳۷ درجه سانتی گراد و برای تیپ E، ۳۰ درجه سانتی گراد است. اما تیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم در ۴ درجه سانتی گراد نیز قادر به تولید توکسین می باشد (۴،۸).

pH مناسب از عوامل موثر در رشد کلوستریدیوم بوتولینوم است زیرا مشاهده میشود که کاهش PH در غذاهایی که بشدت اسیدی می باشند، رشد باکتری را مختل نموده قدرت فعالیت و تولید توکسین را متوقف می سازد (۴).

توکسین کلوستریدیوم بوتولینوم قویترین و مهلک ترین توکسین باکتریائی شناخته شده در جهان است. این آگروتوکسین از نظر سرولوژی هموزن بوده، ضمناً دارای خاصیت همولیتیک می باشد و از لحاظ شیمیائی پلی پپتیدی است که از اسیدهای آمینه تشکیل شده است (۴،۷،۸).

توکسین برخی از تیپهای این باکتری تحت تاثیر آنزیمهای پروتئولیتیک فعال میگردد، زیرا مشاهده شده است هنگامیکه آگروتوکسین تیپهای F و E کلوستریدیوم بوتولینوم تحت تاثیر آنزیم تریپسین قرار گیرند، ثبوت شده و دارای قدرت توکسیسیته بیشتری در مقایسه با انواع غیر تریپسینه میگردد (۷،۸).

توکسین کلوستریدیوم بوتولینوم بر خلاف اسپور آن در برابر حرارت بسیار حساس بوده و حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد را حداکثر بمدت ۱۰ دقیقه تحمل خواهد نمود، که به نظر می رسد گروه های آزاد شیمیائی، تحت تاثیر حرارت، توکسین این باکتری را غیر فعال می نمایند (۲،۴،۸).

مقدار کشنده توکسین برای انسان و حیوانات بسیار جزئی است و بهمین جهت متعاقب بیماری، مصونیت ایجاد نمی گردد، زیرا مقدار کشنده توکسین کمتر از مقدار لازم برای بروز پاسخ ایمنی است. یک میلی گرم توکسین خالص تیپ A کلوستریدیوم بوتولینوم دارای  $3 \times 10^7$  دز کشنده برای موش سفید آزمایشگاهی است، ضمناً حداقل مقدار کشنده توکسین (MLD) این باکتری برای انسان حدود ۱ میکروگرم تخمین زده می شود (۴،۸،۱۲).

برحسب خصوصیات آنتی ژنیک که در توکسین کلوستریدیوم بوتولینوم بررسی گردیده، تاکنون ۷ تیپ A-G این باکتری شناسائی شده است. با وجود تفاوتی که از نظر آنتی ژنیک، وزن مولکولی، حرکت الکتروفوریتیک و همچنین محتوای اسیدهای آمینه در این

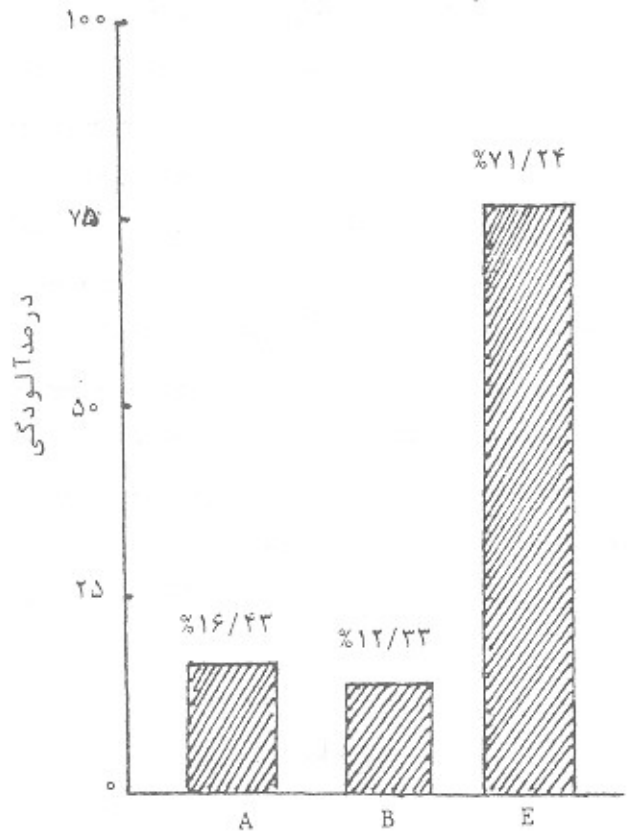
جدول ۱ - فراوانی مطلق و نسبی تیپهای کلستریدیوم بوتولینوم

در نمونه‌های بالینی بیماران مورد مطالعه (مبتلا به بوتولیسم)

تیپ	نوع نمونه	سرم خون		مدفوع		مجموع	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
A	بوتولینوم	۷	۲۰/۵۹	۴	۱۰/۵۲	۱۱	۱۶/۴۳
B		۷	۲۰/۵۹	۲	۵/۲۶	۹	۱۲/۳۳
E		۲۰	۵۸/۸۲	۳۲	۸۴/۲۲	۵۲	۷۱/۲۴
F		۰	۰	۰	۰	۰	۰
جمع		۳۴	۱۰۰	۳۸	۱۰۰	۷۳	۱۰۰

نمودار شماره ۱- فراوانی نسبی تیپ‌های کلستریدیوم

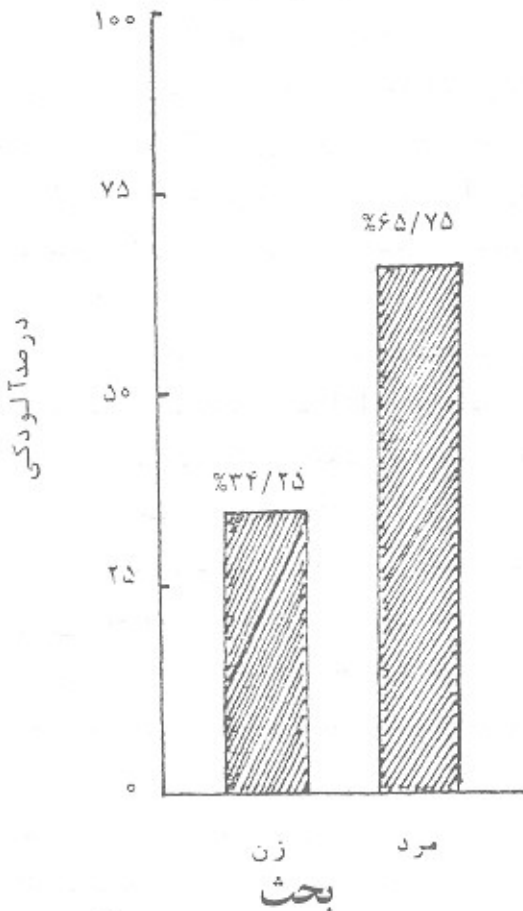
در نمونه‌های بالینی بیماران مورد مطالعه



جدول ۲: فراوانی مطلق و نسبی بیماران مورد مطالعه بر حسب جنس و سن

جنس	سن	زن		مرد		مجموع	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مرد	۱۰-۱ سال	۲	۸%	۸	۱۶/۶۶	۱۰	۱۳/۶۹
	۱۱-۲۰ سال	۷	۲۸%	۱۲	۲۵	۱۹	۲۶/۰۳
	۲۱-۳۰ سال	۷	۲۸%	۷	۱۴/۵۸	۱۴	۱۹/۱۸
	۳۱-۴۰ سال	۵	۲۰%	۱۱	۲۲/۹۲	۱۶	۲۱/۹۲
	۴۱-۵۰ سال	۳	۱۲%	۷	۱۴/۵۸	۱۰	۱۳/۶۹
	۵۱-۶۰ سال	۱	۴%	۲	۴/۱۷	۳	۴/۱۲
	۶۱-۷۰ سال	۰	۰	۱	۲/۰۹	۱	۱/۳۷
جمع		۲۵	۱۰۰	۴۸	۱۰۰	۷۳	۱۰۰

نمودار شماره ۲- فراوانی نسبی جنس بیماران مورد مطالعه



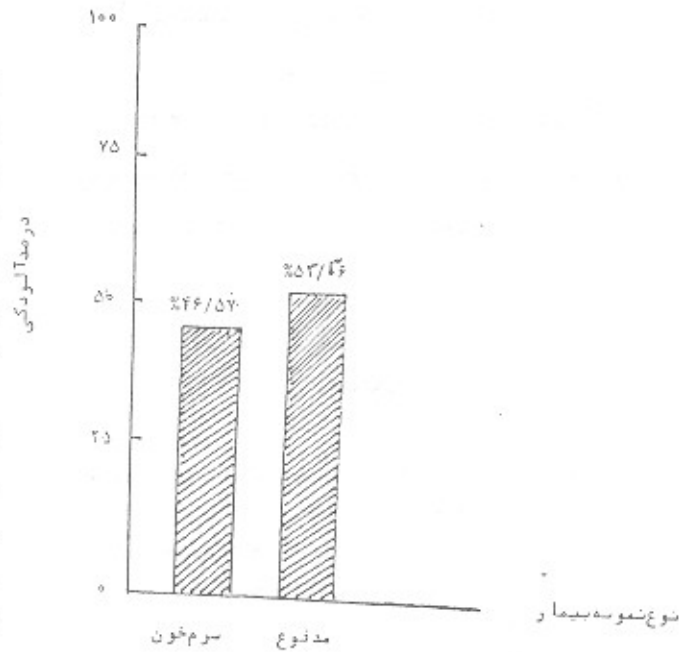
### بحث

مسمومیت‌های غذایی در اکثر نقاط دنیا، خصوصاً مناطقی که دارای تراکم جمعیت بالا، کمبود مواد غذایی و فقر بهداشتی می‌باشند، یکی از متداولترین و در عین حال پیچیده‌ترین بیماری‌هایی هستند که بهداشت و سلامت انسان‌ها را تهدید می‌کنند. در بین عوامل باکتریایی، کلستریدیوم بوتولینوم یکی از مهمترین و در عین حال خطرناک‌ترین عوامل بروز مسمومیت‌های غذایی شناخته شده است.

انتشار بوتولیسم غذایی در اکثر نقاط دنیا وجود دارد، اما شیوع آن در مناطق معتدله بیش از نواحی استوایی است، شاید به علت این که در نواحی معتدله لازم است میوه، سبزیها و حتی فرآورده‌های غذایی گوشتی و از پیش ساخته، ذخیره گردند تا در تمام فصل‌های سال در دسترس قرار داشته باشند (۵ و ۷).

اسپور کلستریدیوم بوتولینوم معمولاً در خاک اکثر نقاط دنیا یافت میشود. همچنین در روده انسان و حیوانات، در آبزیان خصوصاً ماهیهای کپور، دودی و شور، در لجن و رسوبات دریاها و نیز کنسروهای گوشتی، سبزیها، میوه‌ها و غذاهای خانگی از پیش ساخته شده مشاهده شده است. اسپور تیپ E کلستریدیوم بوتولینوم اکثراً محدود به آبهای دریایی است که این امر میتواند تاییدی بر آلودگی ماهیها به اسپور تیپ E این باکتری باشد (۴، ۷، ۹). در کشورهای اسکاندیناوی خصوصاً دانمارک و نیز در ژاپن و کانادا بیش از ۶۰ درصد موارد مسمومیت غذایی حاصل از بوتولیسم متعاقب مصرف ماهی در اشکال شور و دودی و به علت آلودگی با تیپ E کلستریدیوم بوتولینوم اعلام شده است (۵ و ۶).

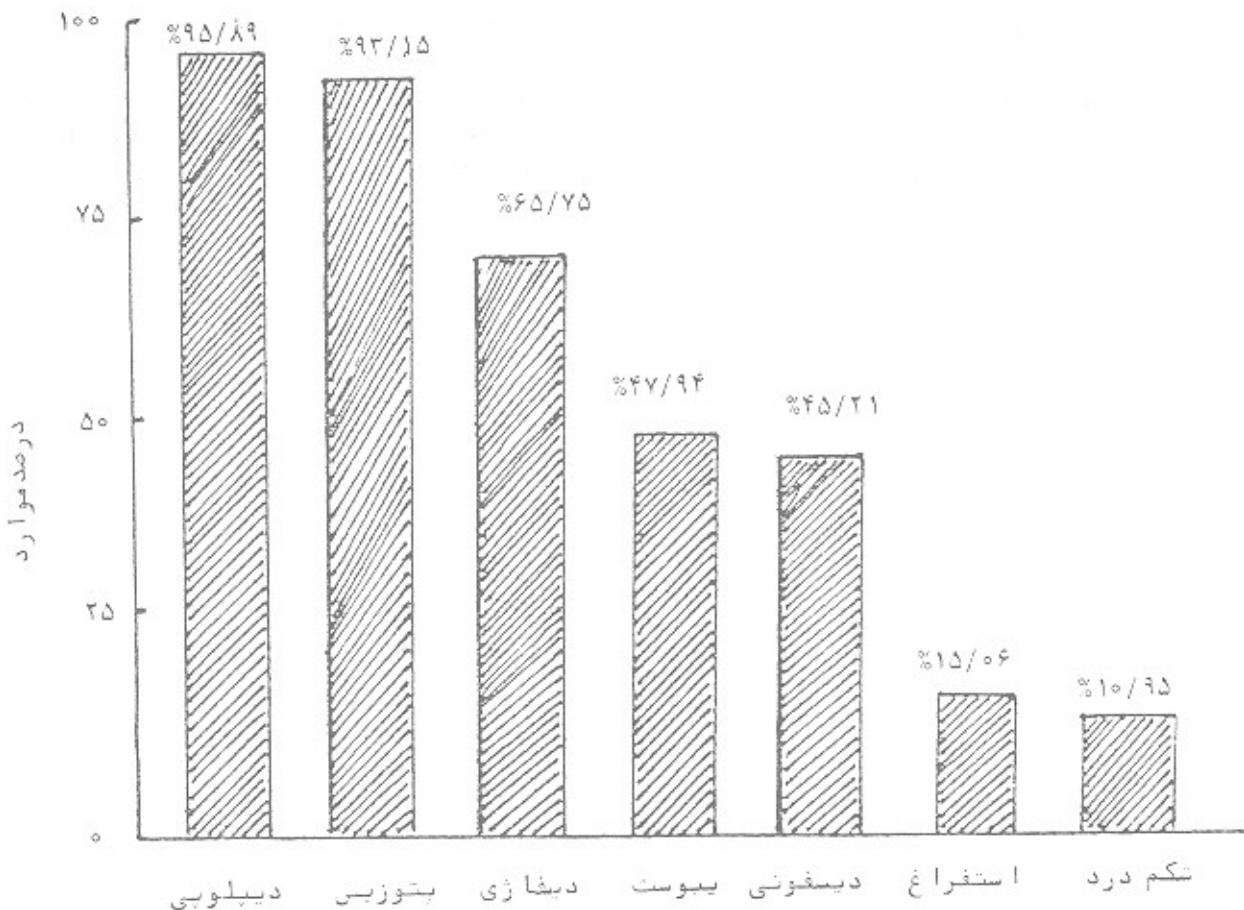
نمودار شماره ۳- فراوانی نسبی نمونه‌های مثبت در بیماران مورد مطالعه



در مطالعه حاضر نیز شایعترین تیپ کلوستریدیوم بوتولینوم که از نمونه های بالینی بیماران دارای علائم مسمومیت غذایی بوتولیسم جدا شد، تیپ E باکتری با میزان ۷۱/۲۴ درصد بوده که اکثراً بدنیاال مصرف ماهی خصوصاً اشکال دودی، شور و همچنین کنسرو ماهی روی داده است. در روسیه نیز در بیشتر همه گیریهای بوتولیسم غذایی ماهیهای شور، دودی و کنسرو شده بعنوان مواد غذایی آلوده معرفی شده‌اند که اسپور و توکسین تیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم عامل آلودگی شناخته شده‌اند (۵۷).

در کشورهای اروپایی بیماری بوتولیسم بیشتر متعاقب مصرف گوشتهای آلوده پدید می آید، به طوری که سوسیس های تهیه شده از خون و یا جگر در آلمان و برخی از کشورهای اروپائی در بیشتر مواقع عامل بروز بیماری شناخته شده اند. در فرانسه زامبون، سبزیها و حبوبات در اکثر همه گیریهای بوتولیسم غذایی بعنوان مواد آلوده کننده معرفی شده‌اند (۵۷).

نمودار شماره ۴- فراوانی نسبی علائم بالینی در بیماران مورد مطالعه



توکسین قوی و خطرناک آن می باشند، همچنین کنسروهای ماهی و گیاهی دارای شرایط مناسب برای فعالیت این باکتری می باشند (۷). در ایالات متحده آمریکا بطور متوسط سالانه ۲۰ همه گیری از

کنسرو میوه‌ها بعلت دارا بودن مواد قندی و نشاسته بهترین محیط جهت رشد و فعالیت کلوستریدیوم بوتولینوم و تولید

مسمومیت غذایی بوتولیسم، متعاقب مصرف کنسروهای گیاهی (نخودفرنگی، لوبیا و خیارشور) بوده، که تیپهای شایع در این رابطه تیپ های A و B کلستریدیوم بوتولینوم به ترتیب بامیزان ۱۶/۴۳ درصد و ۱۲/۳۳ درصد مشخص گردیدند. همان طور که مشاهده می شود نتایج حاصل از این مطالعه در ایران با بیشتر تحقیقات و گزارشهای بهداشتی از سایر کشورهای جهان مطابقت دارد.

بیماری بوتولیسم غذایی گزارش میشود، خصوصاً در ایالت کالیفرنیا تیپهای E و B و A مسبب بسیاری از همه گیریهای این بیماری بوده اند، که در ۹۰ درصد موارد منشاء مسمومیت، کنسروهای ماهی و گیاهی معرفی گردیده اند (۱۲، ۱۳).

در مطالعه انجام شده در ایران نیز بعد از ماهی در اشکال تازه، ماهی دودی، شور و کنسرو شده، بیشترین میزان آلودگی در بیماران دچار

## منابع

- 1- Behrman R.E, and Vaghan V.C, Nelson Textbook of Pediatrics . W.B. Saunders Co, 13 th edition , 1987 , 622 - 624.
- 2- Davis. B.D. Dulbeco , R., Eisen , H. N, Gimsburg, H. S. Microbiology , 3rd edition , 1980 , 535 - 538.
- 3- Finegold , S.M, Martin W.J , and Scotts Diagnostic Microbiology , 8th edition , 1990 , 509 - 519.
- 4- Frobisher and Fuersts , Microbiology in health and disease , 15th edition , 1983, 418 - 432.
- 5- Hobbs , Betty , C and Diane Roberts , Food Poisoning and Food Hygine , 5th edition , 1987 , 427 - 436.
- 6- International outbreak of type E botulism associates with unguitted, salted white fish ,MMWR , Dec 18 ,36 (4),1987.
- 7- James , M.Jay Modern Food Microbiology , copyright (c),1970.
- 8- Jawetz, E, Melnick , J.L., Adelberg, E.A, Review of Medical Microbiology. Lange medical publication , 21th edition, 1995, 175- 176.
- 9- John , T, Nickerson , Anthony , J , Sinskey , Microbiology Foods and food processing , American Elsevier publishing company, New York, 1971.
- 10- Lennette , E.H, Balows , A, Hausher . W.J, and Traunt , J.P. Manual of clinical microbiology, 3rd edition , 1980.
- 11- Midura , T.F, Isolation of clostridium botulinum from honey , J. Clin. Microbiology , (9), 1979, 1235-1240.
- 12- Petersdorf , R . G , Adams , R.D, Braumwald, E : Harrisons Principles of Internal Medicine, 13th , edition , 1993, 561 - 563.
- 13- Wain Wright ,R.B, etal , Food - born botulism in Alaska , 1997 - 1985 : Epidemiology and clinical findings , J. Infect. Dis , 157 (6), 1988.