نقش کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیتهای غذائی در ایران

دکتر شهاب مدرس ـ عضو هیئت علمی ـ دانشیار ـ انستیوپاستور 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 Apirl 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 resuhs 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 غذائی آلوده به توکسین یا اسپورکلوستریدیوم بوتولینوم، برحسب عادات مردم و همچنین انتشار جغرافیائی در ایجاد مسمومیت غذائی 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 ومدفوع جمع‌آوری شد و سپس این نمونه‌ها جهت شناسایی و بررسی وجود اسپور و توکسین کلوستریدیوم بوتولینوم، تعیین تیپهای شایع باکتری و همچنین ارتباط انواع کلوستریدیوم بوتولینوم با منابع غذائی آلوده در انستیو پاستور ایران مورد بررسی ومطالعه قرار گرفتند. در این بررسی از نمونه‌های بالینی ۷۳ نفر از بیماران بستری اسپوروتوکسین کلوستریدیوم بوتولینوم جداگردید. 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 کلوستریدیوم بوتولینوم (۷۱/۲۴٪)، تیپ A (۱۶/۴۳٪) و تیپ B (۱۲/۳۳٪) مشخص گردید . همچنین در این بررسی بیشترین میزان آلودگی مواد غذائی مربوط به انواع ماهیها اعم از کنسرو و غیر کنسرو، ۷۰/۸۳٪ بوده است .

میزان بالای آلودگی نمونه های بالینی بیماران به توکسین و اسپورکلوستریدیوم بوتولینوم تیپ E حائز اهمیت میباشد.

مقدمه

عامل مسمومیت غذائی بوتولیسم ، باکتری کلوستریدیوم 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 ضدعفونی کننده به مدت طولانی مقاومت نموده و در شرایط مناسب ژرمینه شده و رشد میکنند (۲،۴).

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

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-28]

نمی کند(۴،۷).

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 وبرای تیپ E، ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. اما تیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم در ۴ درجه سانتی‌گراد نیز قادر به تولید توکسین می‌باشد(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 ومهلک‌ترین توکسین باکتریائی شناخته شده در جهان است . این اگزوتوکسین از نظر سرولوژی هموژن بوده، ضمناً دارای خاصیت همولیتیک می باشد واز 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 میگردند، زیرا مشاهده شده است هنگامیکه اگزوتوکسین تیپهای F و E کلوستریدیوم بوتولینوم تحت تاثیر آنزیم تریپسین قرار گیرند، تقویت شده و دارای قدرت توکسیسیته بیشتری در مقایسه با انواع غیر تریپسینه میگردند (۷،۸).

توکسین کلوستریدیوم بوتولینوم بر خلاف اسپور آن در برابر حرارت بسیار حساس بوده و حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد را حداکثر بمدت ۱۰ دقیقه تحمل خواهد نمود، که به نظر می‌رسد گروههای آزاد شیمیایی ، تحت تاثیر حرارت ، توکسین این باکتری را غیر فعال می‌نمایند(۲،۴،۸).

مقدار کشنده توکسین برای انسان و حیوانات بسیار جزئی است و بهمین جهت متعاقب بیماری ، مصونیت ایجاد نمی‌گردد ، زیرا مقدار کشنده توکسین کمتر از مقدار لازم برای بروز پاسخ ایمنی است . یک میلی‌گرم توکسین خالص تیپ A کلوستریدیوم بوتولینوم دارای 3×10^{7} دز کشنده برای موش سفید آزمایشگاهی است ، ضمناً حداقل مقدارکشنده توکسین (MLD) این باکتری برای انسان حدود ۱ میکروگرم تخمین زده می‌شود(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 تفاوتهائی که از نظر آنتی ژنیک، وزن مولکولی، حرکت الکتروفورتیک و همچنین محتوای اسیدهای آمینه در این تیپها وجود دارد، امادارای اثرات مشابه در اتصال به عصب و عضله می‌باشند.

کلوستریدیوم بوتولینوم به سبب تیپهای مختلفی که دارد از لحاظ بیماریزائی ، 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 غذائی، تعیین تیپهای شایع باکتری و همچنین ارتباط انواع کلوستریدیوم بوتولینوم با منابع غذائی آلوده در ایران بوده است .

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

باتوجه به این که بررسی باکتریولوژیک نمونه‌ها جهت جستجو و تعیین تیپ ، بدون جستجوی توکسین امکان پذیر نمی‌باشد ،بنابر این در این مطالعه با استفاده از امکانات انستیتوپاستور ایران و براساس روشهای استاندارد باکتریولوژیک بی‌هوازی، نمونه‌های مدفوع بیماران کشت داده شده به کمک روش حساس نوترالیزاسیون توکسین ، نمونه‌های مدفوع و سرم خون مورد بررسی و تعیین تیپ قرار گرفتند(۹).

نتایج

با توجه به نقش کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیتهای غذائی خطرناک در بیشتر کشورهای جهان و نیز تنوعی که در انتشار جغرافیائی تیپهای مختلف این باکتری مشاهده می‌شود، مطالعه و شناسائی کلوستریدیوم بوتولینوم در ایجاد مسمومیتهای غذائی در ایران موضوع مطالعه حاضر است ،که در این خصوص علاوه برتعیین میزان باکتری و تیپهای شایع آن در نمونه های بالینی مورد مطالعه ، منابع غذائی آلوده و مورد مصرف بیماران در ارتباط با انواع کلوستریدیوم بوتولینوم نیز مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته ونتایج حاصل در جدول ۱ و ۲ و نمودارهای ۱ و۲ و۳ و۴ نمایش داده شده است .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-28]

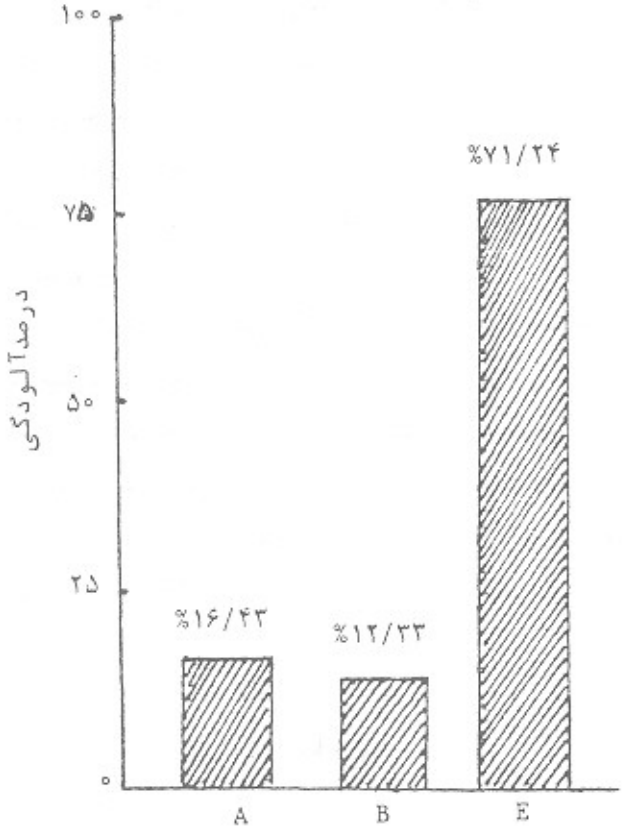
جدول ۱ ـ فراوانی مطلق ونسبی تیپهای کلوستریدیوم بوتولینوم

درنمونه‌های بالینی بیماران مورد مطالعه (مبتلا به بوتولیسم)

نوع نمونه / تیپ بوتولینوم	سرم خون		مدفوع		مجموع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
A	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 ۱ـ فراوانی نسبی تیپ‌های کلوستریدیوم

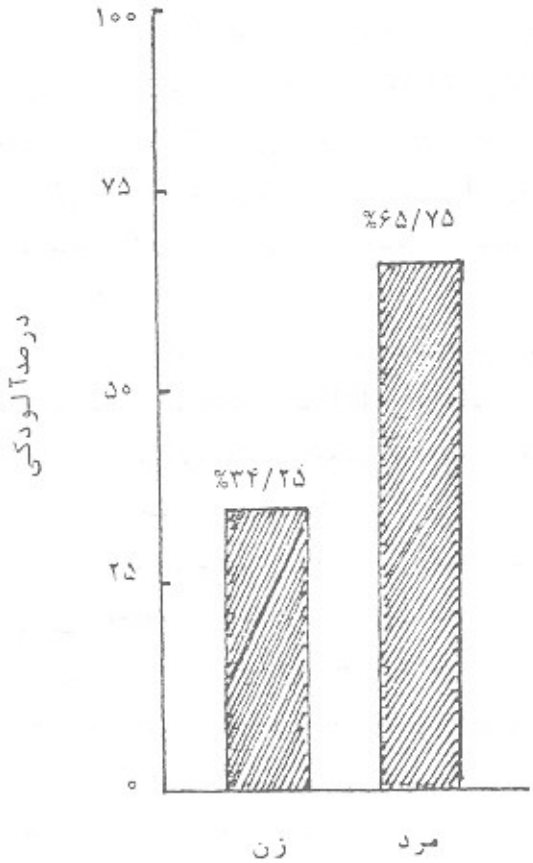
در نمونه‌های بالینی بیماران مورد مطالعه



جدول ۲ : فراوانی مطلق ونسبی بیماران مورد مطالعه برحسب جنس و سن

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

نمودار شماره ۲ـ فراوانی نسبی جنس بیماران مورد مطالعه



بحث

مسمومیتهای غذائی در اکثر نقاط دنیا ، خصوصاً مناطقی که دارای تراکم جمعیت بالا، کمبود مواد غذائی و فقر بهداشتی می‌باشند، یکی از متداولترین و در عین حال پیچیده ترین بیماریهائی هستند که بهداشت و سلامت انسانهارا تهدید می کنند. در بین عوامل باکتریائی ،کلوستریدیوم بوتولینوم یکی از مهمترین و درعین حال خطرناک ترین عوامل بروز مسمومیتهای غذائی شناخته شده است .

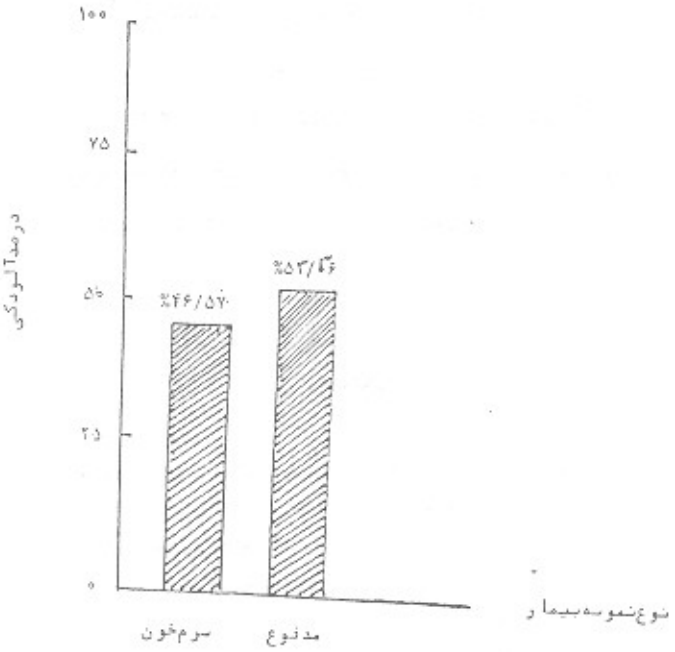
انتشار بوتولیسم غذائی در اکثر نقاط دنیا وجود دارد، اما شیوع آن در مناطق معتدله بیش از نواحی استوائی است ، شاید بعلت این که در نواحی معتدله لازم است میوه، سبزیها وحتی فرآورده‌های غذائی گوشتی و از پیش ساخته، ذخیره گردند تا در تمام فصل های سال دردسترس قرار داشته باشند(۷و۵).

اسپور کلوستریدیوم 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 ونیز کنسروهای گوشتی ، سبزیها ، میوه ها و غذاهای خانگی از پیش ساخته شده مشاهده شده است . اسپورتیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم اکثراً محدود به آبهای دریائی است که این امر میتواند تاییدی برآلودگی ماهیها به اسپورتیپ E این باکتری باشد(۴،۷،۹).

در کشورهای اسکاندیناوی خصوصاًدانمارک و نیز در ژاپن و کانادا بیش از ۶۰ درصد موارد مسمومیت غذائی حاصل از بوتولیسم متعاقب مصرف ماهی در اشکال شور ودودی و بعلت آلودگی با تیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم اعلام شده است (۶و۵).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-28]

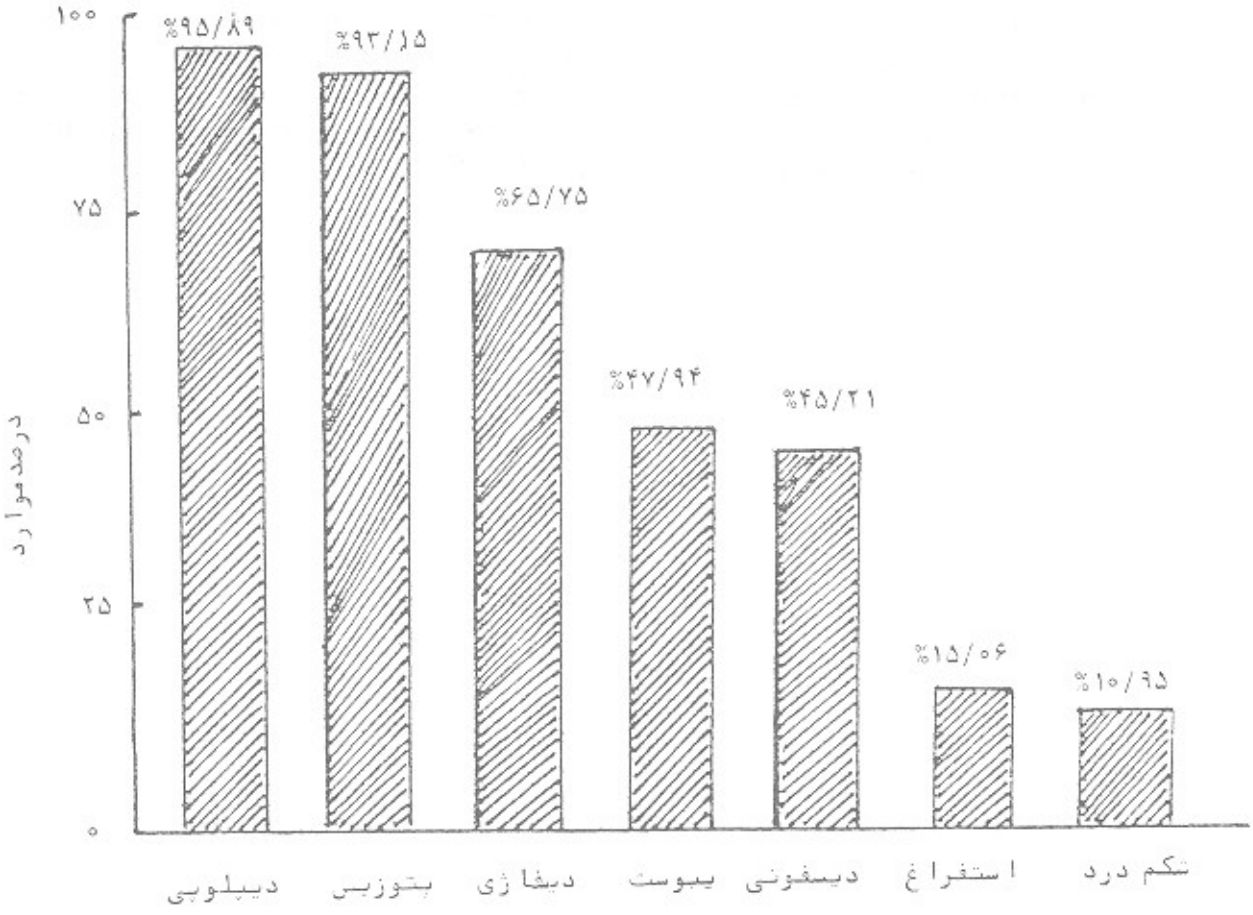
نمودار شماره ۳ـ فراوانی نسبی نمونه‌های مثبت در بیماران مورد مطالعه



در مطالعه حاضر نیز شایعترین تیپ کلوستریدیوم بوتولینوم که از نمونه های بالینی بیماران دارای علائم مسمومیت غذائی بوتولیسم جدا شد، تیپ E باکتری با میزان ۷۱/۲۴ درصد بوده که اکثراً بدنبال مصرف ماهی خصوصاً اشکال دودی ، شور و همچنین کنسرو ماهی روی داده است. در روسیه نیز در بیشتر همه‌گیریهای بوتولیسم غذائی ماهیهای شور، دودی و کنسرو شده بعنوان مواد غذائی آلوده معرفی شده‌اند که اسپور و توکسین تیپ E کلوستریدیوم بوتولینوم عامل آلودگی شناخته شده‌اند(۷و۵).

در کشورهای اروپایی بیماری بوتولیسم بیشتر متعاقب مصرف گوشتهای آلوده‌پدید می‌آید، به طوری که سوسیس‌های 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 ژامبون ، سبزیها و حبوبات در اکثر همه‌گیریهای بوتولیسم غذائی بعنوان مواد آلوده‌کننده معرفی شده‌اند(۷و۵).

نمودار شماره ٤ـ فراوانی نسبی علائم بالینی در بیماران مورد مطالعه



کنسرو میوه‌ها بعلت دارابودن مواد قندی و نشاسته بهترین محیط جهت رشد وفعالیت کلوستریدیوم بوتولینوم و تولید 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 سالیانه ۲۰ همه گیری از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-28]

بیماری بوتولیسم غذائی گزارش میشود، خصوصاً در ایالت کالیفرنیا تیپهای E و B و A مسبب بسیاری از همه گیریهای این بیماری بوده‌اند، که در ۹۰ درصد موارد منشاء مسمومیت ، کنسروهای ماهی وگیاهی معرفی گردیده‌اند(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 مسمومیت غذائی بوتولیسم ، متعاقب مصرف کنسروهای گیاهی (نخودفرنگی، لوبیا و خیارشور) بوده ، که تیپهای شایع در این رابطه تیپ های B و A کلوستریدیوم بوتولینوم به ترتیب بامیزان ۱۶/۴۳ درصد و ۱۲/۳۳ درصد مشخص گردیدند. همان طور که مشاهده می‌شود نتایج حاصل از این مطالعه در ایران با بیشتر تحقیقات وگزارشهای بهداشتی از سایر کشورهای جهان مطابقت دارد.

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 ungutted, 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 Elsvier 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.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-28]