



## Clostridium botulinum

**Clostridium botulinum** เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) พบได้ในดินและน้ำสิ่งแวดล้อมทั่วไป ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ที่ส่วน Subterminal สปอร์สามารถทนต่อความร้อนทำให้สปอร์ยังคงหลงเหลืออยู่ในกระบวนการที่ทำให้ความร้อนไม่เหมาะสม คือไม่มีออกซิเจนและอุณหภูมิที่เหมาะสมสปอร์จะงอกเจริญเติบโตเป็น Vegetative cell และมีการสร้างสารพิษขึ้น อาการป่วยที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษปะปนเรียกว่า **Botulism**

**Botulism** เป็นโรคในระบบ neuromuscular สารพิษเข้าสู่ร่างกายโดยได้รับสารพิษ หรือ อาจเป็นการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในร่างกายแล้วมีการสร้างสารพิษขึ้น เป็นโรคที่พบได้ไม่บ่อยสามารถป้องกันได้ แต่มีความสำคัญเพราะมีอันตรายถึงชีวิตเพียงได้รับสารพิษขนาด 0.5 mcg เท่านั้น

### การก่อให้เกิดโรคในคน

Botulinum Toxin เป็น heat labile toxin โดยการถูกทำให้หมดฤทธิ์ได้ที่อุณหภูมิ 80°C 30 นาที หรือ 100°C 10 นาที มีโครงสร้างเป็น dichain ขนาด 150 KDa ซึ่งประกอบไปด้วย heavy chain ขนาด 100 KDa และ light chain ขนาด 50 KDa เมื่อสร้างระยะแรกเป็น protoxin ซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์ protease เช่น Trypsin ในกระเพาะอาหารเพื่อแบ่ง toxin เป็น 2 chain เชื่อมกันด้วย non-covalent bonds Botulinum Toxin จะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสโลหิตส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เมื่อพบกับบริเวณที่จำเพาะซึ่ง Botulinum Toxin จะมีความจำเพาะต่อปลายประสาทส่วนปลาย ซึ่งเป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างเส้นประสาทและกล้ามเนื้อ กลไกการเกิดโรคคือ Toxin จะจับกับ Presynaptic Receptors ของเซลล์ประสาทซึ่ง Receptors จะแตกต่างกันไปเล็กน้อยตามชนิดของ Toxin

Botulinum Toxin จะเข้าสู่เซลล์ประสาทโดยวิธี Endocytosis เมื่อเข้าไปแล้ว Toxin จะไปยับยั้งขบวนการปล่อย AcetylCholine ของเซลล์ประสาท(รูปที่ 1)ซึ่งทำให้ระบบประสาทไม่สามารถปล่อยสารสื่อประสาท(Neurotransmitter) ก่อให้เกิดการหยุดการทำงานของ Motor Neuron system ทำให้เสียหน้าที่ของระบบประสาทอัตโนมัติทำให้เกิดการเป็นอัมพาตแบบอ่อนแรง ซึ่งแตกต่างจากการเป็นอัมพาตจากโรคบาดทะยักซึ่งเป็นอัมพาตแบบแข็งเกร็ง การจับของ toxin เป็นการจับ แบบถาวร ดังนั้นการฟื้นตัวจาก Botulism จึงเกิดได้โดยการงอกใหม่ของปลายประสาทบริเวณ neuromuscular junction ซึ่งใช้เวลานานมาก

**Botulinum toxin** แบ่งออกเป็น 8 antigenic type (A,B,C1,C2,D,E,F และ G) type ที่ก่อโรคในคนได้แก่ type A,B,E และ F ชนิด C และ D มักก่อโรคในสัตว์ปีก วัว ควาย และ ปลาบางชนิด

### Botulinum แบ่งเป็น 4 แบบคือ

**Food-borne botulism** สาเหตุมาจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน neurotoxin ของเชื้อ *C. botulinum* เข้าไปในร่างกาย ระยะฟักตัวของเชื้อ อยู่ในช่วง 12-36 ชม. อาหารที่เชื้อไปเจริญเติบโตมักเป็นอาหารที่ถูกเก็บในสภาพ anaerobic เช่น อาหารอัดกระป๋องโดยอาหารเหล่านี้มักไม่ผ่านการกำจัด spore อย่างเพียงพอ ตัวอย่างอาหารได้แก่ เนื้อสัตว์ ไส้กรอก เห็ด asparagus และผักต่างๆ สภาพที่แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีได้แก่ อุณหภูมิ 4-10°C มี pH 4.6-7.0 และมี organic acid alanine หรือ cysteine

**Infant botulism** เป็นภาวะที่เกิดในเด็กอายุน้อยกว่า 1 ปี โดยการที่ spore ของ *C. botulinum* เจริญในทางเดินอาหารและสร้าง toxin แล้วถูกดูดซึมจนเกิดอาการ

**Wound botulism** เป็นภาวะที่ spore ของ *C. botulinum* ปนเปื้อนเข้าทางบาดแผล สร้าง toxin เข้าสู่กระแสโลหิต

**Undetermined classification** เป็นกลุ่มที่เกิดในคนที่มีอายุมากกว่า 1 ปี ไม่สามารถค้นพบอาการที่เป็นสาเหตุของโรคได้

## อาการของโรค

ผู้ที่บริโภคอาหารที่มีสารพิษของ *Clostridium botulinum* เข้าไปพบว่าอาการจะเกิดขึ้นภายใน 12-36 ชม. หลังการบริโภค และอาจเสียชีวิตภายใน 1-6 วัน อาการสารพิษแต่ละ type พบว่าคล้ายคลึงกันคือจะมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน หน้ามืด ระบบย่อยอาหารผิดปกติ ปวดท้อง อาจมีอาการท้องเสียเกิดขึ้น หลังจากนั้นจะพบว่ามีอาการอิดโรย มึนงง กระหายน้ำ มีความรู้สึกแสบที่ปาก มีเสมหะมากในคอ สำหรับในรายที่รุนแรง มีอาการระบบประสาทด้วย เช่น มองเห็นไม่ชัด มองเห็นภาพซ้อน กล้ามเนื้อตาเป็นอัมพาต ลิ้มตาไม่ขึ้น ตากระตุกตลอดเวลา กลืนอาหารลำบาก พูดตะกุกตะกัก หายใจขัด ระบบหายใจขัดข้อง และเสียชีวิตในที่สุด

## การเก็บตัวอย่างส่งตรวจหา *Clostridium botulinum*

### Serum

ควรเก็บอย่างน้อย 5-10 ml. ก่อนทำการให้ antitoxin ใส่ใน Sterile tube นำส่งในห้องปฏิบัติการเร็วที่สุด หลังจากทำการเก็บแล้ว ไม่ควร เก็บแช่แข็ง (Frozen) ที่อุณหภูมิ 4-8 °C

### Stool

ควรเก็บอย่างน้อย 25-50 กรัม ก่อนทำการให้ antitoxin ใส่ในภาชนะที่สะอาด ไม่ต้องใช้ transport medium นำส่งห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุด ที่อุณหภูมิ 4-8 °C

### Vomitus Gastric contents

เก็บใส่ภาชนะที่ปิดสะอาด ก่อนทำการให้ antitoxin นำส่งห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุด ที่มีอุณหภูมิ 4-8 °C

### Suspected food

ควรส่งตรวจอาหารพร้อมภาชนะที่บรรจุอาหารนั้นถ้าเป็นไปได้ แต่ถ้าทำไม่ได้ให้เก็บตัวอย่างอาหารใส่ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ ปริมาณอย่างน้อย 200-300 กรัม นำส่งให้ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง

### Wound

ควรเก็บตัวอย่างจากแผลบริเวณลึก ทำด้วยความรวดเร็ว ใส่ใน transport medium สำหรับตรวจหาเชื้อ anaerobe เช่น Wilkins broth ปิดฝาจากเกลียวให้แน่น รีบนำส่งห้องปฏิบัติการทันที ไม่ต้องแช่เย็น

## การรักษาโดยการให้ Antitoxin

ปัจจุบันมี Botulinum antitoxin เพื่อใช้ในการรักษา โดยมีหลายรูปแบบเช่น Monovalent antitoxin มีความจำเพาะต่อ Botulinum toxin เพียง type เดียวต้องมีข้อมูล Type ของ Botulinum toxin ที่ผู้ป่วยได้รับ Bivalent antitoxin Type A,B, Trivalent Antitoxin ประกอบด้วย antitoxin type ,B,E และ Heptavalent antitoxin ซึ่งประกอบด้วย Antitoxin ทั้ง 7 type A,B,C,D,E,F และ G

## การตรวจวินิจฉัย/ยืนยันโรค Botulism ทางห้องปฏิบัติการ

1. วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium botulinum*
2. การทดสอบหาสารพิษ Botulinum toxin ในหนูทดลอง

## การป้องกันโรค

1. การถนอมอาหารอย่างถูกต้องทำให้อาการเป็นกรดที่มี  $pH < 4.5$  หรือให้ความร้อนสูงและนานเพียงพอเพื่อทำลาย toxin และการแช่แข็งเพื่อถนอมอาหารเป็นเวลานาน
2. ถ้าอาหารมีลักษณะผิดปกติเช่น ระเบิด หรือเสียหาย หรือมีรสผิดปกติอาจมี fermentation เป็นความเสี่ยงต่อการนำโรค
3. บริโภคอาหารกระป๋องที่ผ่านความร้อนเพียงพอที่จะทำลาย toxin ทุกครั้ง

## เอกสารอ้างอิง

1. Centers for Disease Control and Prevention. Botulism in the United States, 1899-1996. Handbook for Epidemiologist, Clinicians and Laboratory workers.
2. U.S. Food and Drug Administration. In .Chapter 17 *Clostridium botulinum*, Bacteriological Analytical Manual Online, Jan 2001.
3. Lindstrom M, *et al*(2001). Multiplex PCR Assay for Detection and Identification of *Clostridium botulinum* Type A, B ,E and F in Food and Fecal Material. Appl. Environ. Microbiol. 67:5694-5699.
4. Holdeman LV and Moore WEC. Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia 3<sup>rd</sup> ed., 1975.
5. Dowell VR, Hawkins TM. Detection of *Clostridium botulinum* and Botulinal toxin in Laboratory Methods in Anaerobic Bacteriology CDC Laboratory Manual. 5<sup>th</sup> ed., 1981, P.41-44.
6. Paula S, Ellen JB, Drane MC, Catherine S, Hannah MW and Sydney MF. Advanced Identification Methods (level III) in Wadworth Anaerobic. Bacteriology Manual 5<sup>th</sup> ed., 1993,P. 85-87.
7. Ramathibodi Poison Center. พิษจากอาหาร : Botulism Bulletin. July – September 1998, Vol.6 no. 3
8. Laboratory Response Network(LRN), Center for Diseases Control and Prevention. Botulinum Toxin Type A,B,E DIG-ELISA KIT
9. Albert Balows. Manual of Clinical microbiology. Fifth Edition. USA: Washington D.C, 1991.