

## گزارش وقوع بوتولیسم در دام های اهلی استان بوشهر

• حسین اسماعیلی (نویسنده مسئول)

استادیار گروه میکروپ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

• مونا حامدی

دانشجوی دوره دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

• علی خنجری

استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

• حمید ابراهیم زاده

کارشناس سازمان دامپزشکی کشور

• نفیسه علی قاضی

دانشجوی دوره دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۹۰

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۵۱

Email: hesmaeli@ut.ac.ir

### چکیده

بوتولیسم یک بیماری زئونوز است که انتشار جهانی دارد. معمولاً منبع عفونت در دام های اهلی لاشه پرنندگان، حیوانات اهلی و وحشی می باشد. لاشه های فاسد حیوانات به وسیله *Clostridium butulinum* آلوده می شود. سم این باکتری بیماری کشنده ای ایجاد می کند که باعث فلجی در حیوان می شود. این تحقیق یک اپیدمی بوتولیسم در دام های اهلی در روستاهای استان بوشهر در سال ۱۳۸۵ را بررسی می کند. محتویات روده ۱۰ گاو، ۱۵ بز و ۱۲ گوسفند مبتلا که علائم بیماری را نشان دادند بر طبق دستور العمل مرکز کنترل بیماریها جهت تعیین حضور سم تولید شده توسط باکتری مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایشات بر روی نمونه های کالبد گشایی و محتویات روده حاکی از حضور سم بوتولیسم در دام های مبتلا بود و در بررسی های کالبد گشایی لاشه موش در پیش معده دام ها مشاهده شد. جهت جلوگیری از وقوع بوتولیسم در شرایط خشکسالی، اصلاح کمبودهای غذایی با استفاده از مکمل های فسفر و پروتئین و دفن بهداشتی لاشه ها جهت پیشگیری از آلودگی سایر مراتع توصیه می شود.

کلمات کلیدی: ایران، بوتولیسم، بوشهر، دام های اهلی، گنده خواری

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 94 pp: 45-51

### A report on occurrence of botulism in domestic animal, Bushehr, Iran.

By: Esmaeili.H, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran (Corresponding Author; Tel: +982161117051) Hamedi.M, Undergraduate student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Khanjari.A, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Ebrahim zadeh.H, Iran Veterinary Organization, Alighazi.N, Undergraduate student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran.

Botulism is a zoonotic disease which has a worldwide distribution. The source of infection in livestock is usually carcasses of birds, domestic and wild animals. Rotten carcasses of animals are contaminated by *Clostridium botulinum*. The toxin of this bacteria leads to a fatal paralytic disease. This paper reports an outbreak of domestic animal botulism in the villages of Bushehr province in 2006. Intestinal contents of 10 cows, 15 goats and 12 sheep that showed clinical signs were examined for presence of botulism's toxin according to guideline of control disease center. Tests on autopsy samples and intestinal contents indicated the presence of botulinum toxin in affected animals and in autopsy studies rat carcass were found in for stomach of animals. To prevent botulism in drought conditions, modifying dietary deficiencies by use of phosphorus and protein supplements is recommended and sanitary landfill of carcasses is recommended to prevent contamination of other pastures.

**Key words: Botulism, Booshehr, Domestic animal, Iran, pica**

#### مقدمه

*Cl.botulinum* عامل بیماری بوتولیسم در انسان و حیوانات، باکتری است که با تولید نوروتوکسین باعث فلجی شل در موجودات می گردد. این باکتری هفت تیپ سم تولید می کند که از بین آنها تیپهای C و D در گاو و گوسفند اهمیت بیشتری داشته و سوبه های مولد آنها، غلظت بیشتری از سم را تولید می کنند (۱۳). هاگ *Cl.botulinum* به طور گسترده در خاک و محیط های آبی در نقاط مختلف دنیا پراکنده است (۱). هاگ این باکتری که در pH نزدیک به خنثی و یا بالاتر (۷-۷/۶) ایجاد می شود می تواند بیش از سی سال در محیط باقی بماند و نوروتوکسین آن، قوی ترین سم شناخته شده ای است که در pH بالا، رطوبت، گرما و شرایط بی هوازی تولید می شود. (۱، ۱۳)

مهم ترین منبع بوتولیسم در دام های اهلی تماس با لاشه های آلوده است (۹) چراکه لاشه حیوانات محیط مناسبی برای این باکتری جهت تولید سم بوده و سم آن حداقل به مدت یک سال می تواند در لاشه باقی بماند (۱۳).

با توجه به اینکه شیوع این بیماری در فصول خشک بیشتر است می توان گفت که بوتولیسم یک بیماری فصلی است (۱۳). در دوران خشکسالی به دنبال کمبود فسفر و پروتئین در دام ها رویکردی بنام پیکا (گنده خواری) به وجود می آید که به دنبال آن، دام شروع به خوردن لاشه و یا بقایای حیوانات تلف شده می کند و از آنجا که سم این باکتری در لاشه دام ها تولید شده است، زمینه ابتلا به بوتولیسم در آنها فراهم می شود (۱).

افزایش تلفات حیوانات در فصول خشکسالی و حضور لاشه آنها در مراتع از یک سو و کمبودهای غذایی به خصوص مواد معدنی در دام های زنده و ابتلا به گنده خواری از سوی دیگر باعث می شود تا دام ها با لاشه های آلوده مواجهه بیشتری داشته و علاوه بر مصرف آنها، سم تولید

شده در لاشه با چسبیدن به علوفه اطراف آن، زمینه آلودگی دام ها در اثر مصرف این علوفه را نیز فراهم می کند (۱۳).

Mylykoski و همکاران (۱۱)، در سال ۲۰۰۸ وقوع تلفات ناشی از تیپ *Cl.botulinum* C در گاوهای کشور فنلاند را گزارش کردند که در نتیجه مصرف علوفه های آلوده شده با لاشه حیوانات بود.

گزارش Cameron (۴) در سال ۲۰۰۹ در مورد وقوع بوتولیسم در دامهای آفریقای جنوبی نشان داد که تغذیه از لاشه های آلوده به توکسین باکتری توسط دام های مبتلا به گنده خواری، عمده ترین دلیل وقوع اپیدمی های بوتولیسم در این کشور بوده است.

اپیدمی حاضر در سال ۱۳۸۵ در تعدادی از روستاهای استان بوشهر به وقوع پیوسته است که هدف از نگارش آن، حائز اهمیت بودن از لحاظ جنبه های اپیدمیولوژیکی بوده و همچنین می تواند برای شناسایی منابع آلودگی، راه های انتقال و انتشار بیماری و در نهایت روش های پیشگیری و کنترل بیماری بوتولیسم در دام ها مورد استفاده قرار گیرد.

#### مواد و روش کار

کانون های بیماری از مرداد ماه ۱۳۸۵ آغاز و تا آذر ماه آن سال ادامه داشت. موارد بیماری در روستاهای واقع در شهرستان های دشتستان، بوشهر، تنگستان و گناوه بود. در مجموع، طی این مدت و در این مناطق، تعداد ۸۸ راس گاو و ۳۴۰ راس گوسفند و بز در اثر مسمومیت بوتولیسم تلف و یا ذبح اجباری گردیدند.

۱۰، ۸ و ۴ نمونه از سرهای به ترتیب گاو، گوسفند و بز جهت تشخیص تفریقی با بیماری هاری به موسسه پاستور فرستاده شد.

تعداد ۱۵ راس گاو، ۳۷ راس گوسفند و ۴۵ راس بز تازه تلف شده و یا در مراحل آخر بیماری، کالبد گشایی شدند. همچنین از محتویات روده ۱۰ گاو، ۱۵ بز و ۱۲ گوسفند آزمایش، جهت تعیین حضور سم به عمل آمد.

در پیش معده دام ها و در برخی موارد پرخونی و التهاب در مخاط معده و پیش معده ها وجود داشت (شکل ۴). در تمامی کالبدگشایی ها هیچ گونه ضایعه اختصاصی دال بر وجود بیماری عصبی در مغز مشاهده نگردید. همچنین وجود خونریزی های پتشی بر روی اپیکارد برخی از دام های تلف شده مشاهده گردید. (شکل ۵)

### بحث

مهمترین نکته ای که در پیشگیری از بوتولیسم مورد توجه است این است که از دسترسی دام به لاشه حیوانات کوچک از جمله پرندگان جلوگیری به عمل آید. (۲) همچنین لاشه ها می بایست سوزانده یا دفن شوند و یا حداقل آنها را از محل نگهداری دام ها دور کرد. (۶) در استفاده از مواد ارگانیک آلوده به باکتری به عنوان کود باید احتیاط کرد و از استفاده از سیلوهایی که pH آنها بالاتر از ۵/۵ است و در آنها رشد ظاهری کپک مشاهده می شود خود داری شود. همچنین استفاده از جونده کش ها، خطر ابتلا به بوتولیسم ناشی از لاشه آلوده را افزایش می دهد. (۸)

در مناطق مذکور نیز به دلیل افزایش جمعیت موشها، استفاده از جونده کش ها افزایش یافته بود لیکن لاشه های آنها دفن نشده و این مسئله باعث شده بود تا لاشه های آنها به صورت فراوان در دسترس دام ها قرار گرفته و منجر به مسمومیت در آنها شود که لازم است به صورت کلی در ارتباط با دفن بهداشتی لاشه های جوندگان و دام های اهلی و خصوصاً در شرایط خشکسالی، آموزش های لازم به دامداران داده شود تا از تماس انسان و دام ها با لاشه ها خودداری گردد.

Pamela و همکاران (۱۲) در سال ۲۰۰۰ میلادی تلفات گوسفندان صحرایی در کالیفرنیا را به علت بوتولیسم گزارش کردند. نامبردگان عنوان کردند که آب آشامیدنی این دام ها بوسیله لاشه ها آلوده شده بود و در نتیجه میزان زیادی از تیپ C سم بوتولیسم موجب بروز بیماری در این گله گردیده بود.

بر طبق گزارش Martin (۱۰) در سال ۲۰۰۳ گاوهای مورد مطالعه در اثر خوردن علوفه های آلوده به لاشه جوندگان به بوتولیسم مبتلا شده بودند که مانند مطالعه ما از روش تلقیح به موش آزمایشگاهی جهت تشخیص آن استفاده کرده بودند. همچنین عنوان کردند که اپیدمی های بوتولیسم در آفریقای جنوبی و آمریکای جنوبی بیشتر زمانی رخ می دهد که گاوها در اثر کمبود فسفر، استخوان لاشه های فاسد را می جوند. خشکسالی در مناطق و روستاهای استان بوشهر باعث رهاسازی زمین های زراعی زیر کشت دیم- به دلیل عدم توجیه اقتصادی- شده بود که این زمین های کشاورزی با محصول اندک، به منبع غذایی مناسبی برای جوندگان تبدیل شده و باعث افزایش جمعیت جوندگان و در نتیجه افزایش میزان لاشه های در دسترس دام ها شده بود، به صورتی که دامداران از تغذیه زیاد دام ها از لاشه ی موش ها نیز گلايه داشتند.

Galey و همکاران (۷) در سال ۲۰۰۰ میلادی اپیدمی بوتولیسم را در کالیفرنیا گزارش کردند که در اثر مصرف علوفه آلوده به لاشه گربه توسط دام ها بوده است. همچنین Fitzpatrick و همکاران (۶) در سال ۲۰۰۶ وقوع تلفات ناشی از بوتولیسم را در منطقه شمالی استرالیا گزارش کردند که دام های این منطقه، بیشتر در اثر تغذیه از لاشه حیوانات آلوده، به دلیل ابتلا به

محتویات روده دام های مبتلا جهت تعیین حضور سم تولید شده توسط باکتری بر طبق دستورالعمل CDC مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور خلاصه ۵-۲ گرم از نمونه که به نسبت ۱/۲ با بافر فسفات ژلاتین استریل (۰/۲٪ ژلاتین، ۰/۴٪ Na<sub>۲</sub>PO<sub>۴</sub>، pH: ۶/۲) رقیق و هموژنیزه شده بود در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت حداقل ۳ ساعت به منظور پاک شدن سم از مواد جامد قرار داده شد. نمونه ها به منظور شناسایی سم به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد سپس مایع رویی که حاوی تمام سم از پیش تشکیل شده بود جمع آوری و به صورت داخل صفاقی به دو موش آزمایشگاهی که وزن هر یک ۳۰-۲۰ گرم بود (به میزان ۰/۴ میلی لیتر در هر موش) تزریق شد. موش ها به دقت از جهت مشاهده علائم بوتولیسم (تنفس شکمی و سخت، ضعف عضلانی، باریک شدن کمر که به علت تنفس شکمی ناشی از فلج عضلات تنفسی می باشد Wasp waist و نهایتاً مرگ) مورد بررسی قرار گرفتند. سپس موش هایی که علائم بوتولیسم را نشان دادند به روش مرگ آسان در یک اتاق حاوی کربن دی اکسید کشته شدند. ظهور علائم بعد از تلقیح با مایع رویی نمونه حضور سم از پیش تشکیل شده را نشان داد (۵).

### نتایج

در تمامی موارد که از محتویات روده آزمایش به عمل آمده بود، حضور سم بوتولیسم در آنها به اثبات رسید. همچنین تمامی سرهای ارسالی، از نظر هاری منفی گزارش گردیدند.

### علائم بالینی

ترشح فراوان بزاق از دهان دام های مبتلا، زمین گیری اکثراً در نتیجه فلجی اندام های خلفی، فلجی زبان و بیرون آمدن از محوطه دهانی (شکل ۱)، بیوست، عدم تحرک روده ها و عدم وجود تب از علائم بارز دام های مبتلا بود.

در زمان های قبل از زمین گیری، دام ها تمایلی برای راه رفتن نداشته و پس از بلند کردن اجباری آنها، تمایل سریعی به نشستن داشتند که به علت شروع فلجی در عضلات بود. همچنین کاهش صدای شکمبه و وجود مدفوع سفت و خشک در لمس مقعدی در دام های مبتلا وجود داشت. تغذیه دام ها از لاشه های دام ها، موش ها و در مواردی تعقیب موش زنده و اقدام به خوردن آن توسط دام های مبتلا مشاهده شد (شکل های ۳ و ۲). نکته قابل توجه آنکه در روستای احشام حسن، تعدادی گوسفندان مبتلا به پدیده گنده خواری به لاشه یک الاغ مرده حمله کرده و از آن تغذیه کردند.

در راه رفتن تعدادی از گوسفندان مبتلا عدم هماهنگی و سختی در راه رفتن وجود داشت همچنین به دلیل نرمی گردن در برخی گوسفندان مبتلا، در حین راه رفتن سر حیوان به سمت بالا و پایین حرکت میکرد. فاصله زمانی بین شروع علائم تا مرگ، از یک تا ۷ روز متغیر بود و در برخی موارد نیز دام های مبتلا، حساسیت و هوشیاری خود را تا زمان مرگ حفظ می کردند.

### علائم کالبدگشایی و آسیب شناسی

حضور بقایای لاشه، اعم از استخوان و پوست خصوصاً لاشه های موش

مورد بالینی و یا ۱۷ روز بعد از از بین رفتن منبع آلودگی از مصرف شیر پرهیز کرد. (۲، ۳، ۹) انتقال سم بوتولیسم از طریق مصرف گوشت نیز نادر است هر چند که اگر بیماری در دامی پیشرفت آهسته داشته باشد و در نتیجه اشتباهها ذبح شود احتمال اینکه چنین گوشتی بتواند سم را به انسان منتقل کند افزایش می یابد، اما از آنجایی که سم بوتولیسم به سرعت غیر فعال می شود و علاوه بر این طی روند پختن گوشت، سم از بین می رود احتمال انتقال آلودگی به انسان از این طریق کم اهمیت جلوه می کند (۳). بوتولیسم می تواند با فرم خاموش هاری اشتباه شود (۱، ۷، ۹، ۱۳) که طبق نتایج دریافتی از موسسه پاستور، هاری در حیوانات منفی گزارش گردید. در اپیدمی بوتولیسم در گاوهای کشور انگلیس تنوع فصلی خفیفی مشاهده شد به طوری که میزان شیوع این بیماری در فصل پاییز و تابستان افزایش یافت (۲) که در اپیدمی مذکور نیز اوج تلفات در اواسط تابستان تا اواسط فصل پاییز گزارش گردید. به طور کلی جهت کنترل و پیشگیری از بیماری در مواقع بروز خشکسالی می بایست اقدامات زیر را انجام داد: اصلاح جیره غذایی و تامین فسفر و پروتئین مورد نیاز دام (۱) که در منطقه مذکور، استفاده از مکمل های معدنی نظیر آجر لیسیدنی به هیچ وجه توسط دامداران در اختیار دام ها قرار داده نمی شد. مورد دیگری که باید در این مواقع مورد توجه قرار گیرد، دفن بهداشتی لاشه ها می باشد (۶) که در این مورد نیز عدم اعتقاد دامداران به دفن لاشه های حیوانات باعث شده بود تا لاشه دام های تلف شده به وفور در اطراف روستا مشاهده شود. همچنین در مناطقی که بیماری بومی است، مایه کوبی با توکسوئید اختصاصی یا واکسن های بر علیه تیپ C و *Cl. dutulinum D* توصیه می گردد. تزریق یکبار توکسوئید پس از دو هفته ایمنی خوبی در دام ایجاد می کند و تا مدت ۲۴ ماه دوام خواهد داشت (۱) که در حال حاضر در کشور ما، واکسن تجاری آن در دسترس دامداران قرار ندارد.

گنده خواری، به بوتولیسم مبتلا شده بودند. در اپیدمی حاضر تعداد مبتلایان در جمعیت گوسفند و بز بسیار بیشتر از جمعیت گاوان بود که دلیل آن توجه بیشتر به گاو و تغذیه دستی آن بوسیله دامدار می باشد. از آنجا که عموماً دامداران روستایی دارای ۱ یا ۲ راس گاو در کنار گله گوسفند و بز خود می باشند، در شرایط خشکسالی و کمبود علوفه به گاوها علوفه بهتری داده و گوسفندان را برای چرا به بیابان می فرستند. تغذیه بهتر گاوها در مقایسه با گوسفندان دلیل تلفات کمتر آنها در این شرایط بوده است. در دام هایی که در مرتع زندگی می کنند اگر شرایط مناسب باشد باید کمبود مواد غذایی را از نظر فسفر یا پروتئین به وسیله جیره دستی جبران نمود. از بین بردن لاشه ها به منظور جلوگیری از آلودگی بیشتر مراتع توصیه می گردد ولی ممکن است در شرایط پرورش دام در مرتع امکان پذیر نباشد. (۱) به طور کلی توزیع جغرافیایی تیپ های مختلف *Cl. dutulinum* در برنامه ریزی مایه کوبی به عنوان یک عامل مهم مطرح می باشد. (۱) استفاده دام ها از آبگیرهایی که محل رشد جلبک ها شده بودند دلیل وجود التهاب در روده و پیش معده ها بود (شکل ۴) زیرا در شرایط خشکسالی که دام ها به آب سالم و تمیز دسترسی ندارند، از آب های جلبک زده نیز مینوشند. در اپیدمی حاضر تعدادی دام مبتلا نیز به صورت اجباری ذبح شده و در مواردی از گوشت آنها استفاده شده بود، همچنین تعداد محدودی دام شیروار وجود داشته که از شیر و محصولات لبنی آنها استفاده می شده است. پاستوریزاسیون شیر گرچه میزان سم را در شیر کاهش می دهد اما آن را به طور کامل از بین نمی برد پس نمی توان به پاستوریزاسیون به عنوان عامل کنترل بوتولیسم در شیر تکیه کرد (۳). به طور کلی چنانچه در گله ای از دام ها موارد ابتلا به بوتولیسم مشاهده شد می توان از شیر دام هایی که علائم بالینی نشان نداده اند استفاده کرد اما در مورد دام هایی که علائم بالینی در آنها مشاهده می شود باید به مدت ۱۴ روز بعد از شروع آخرین



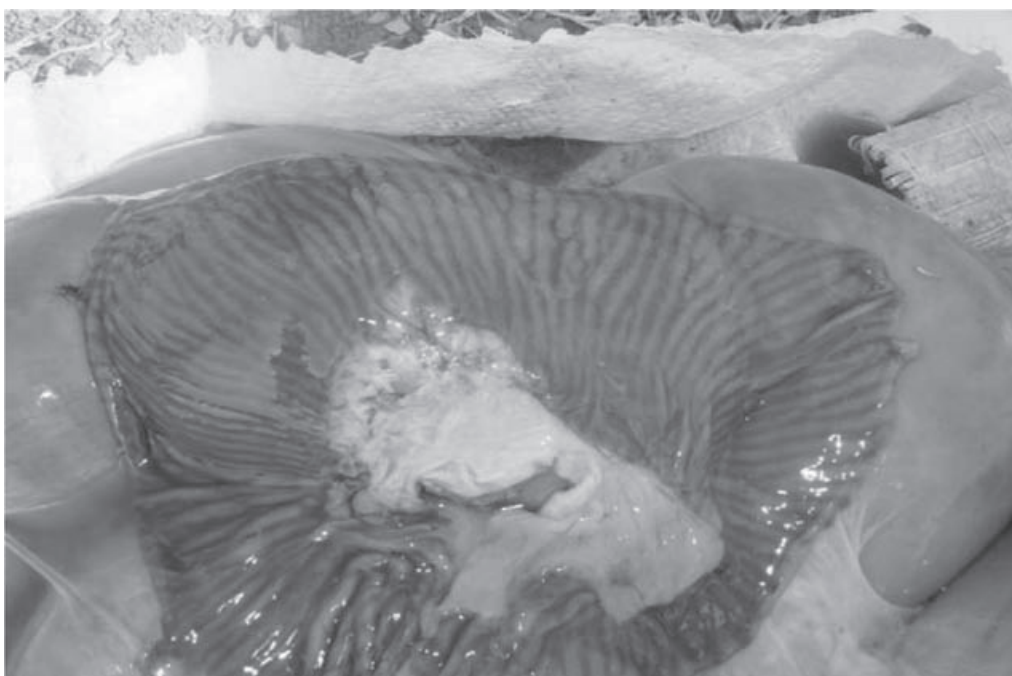
شکل ۱- بیرون افتادگی زبان از محوطه دهانی در اثر فلجی ناشی از سم بوتولیسم



شکل ۲- گوسفند مبتلا در حال تغذیه از لاشه موش مرده



شکل ۳- لاشه موشی که گوسفندان در حال تغذیه از آن بودند.



شکل ۴- التهاب و خونریزی در دیواره پیش معده یک راس گاو در اثر نوشیدن آب های جلبک زده در منطقه



شکل ۵- خونریزی های پتشی در سطح اپی کارد قلب در یک راس گاو

- feed contaminated with a dead cat. *Vet Diagn Invest* .Vol, 12.PP: 204-209.
- 8- Gyles, Carlton. L, Prescott, John F, Songer, Glenn and Charles, O. Thoen. (2010) *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 4th ed. Wiley Blackwell .U.S. PP:189-197.
- 9- Hogg, Robert. Livesey, Chris and Payne, Jo. (2011) Diagnosis and implication of botulism. *Farm Animal Practice*. PP:392-397.
- 10- Martin, S. (2003) *Clostridium botulinum* type D intoxication in a dairy herd in Ontario. *Can Vet J*.Vol,44. PP: 493-495.
- 11- Myllykoski, J, Lindstrom, M, Keto- Timonen, R, Soderholm, H, Jakala, J, Kallio,H, et al. (2009) Type c bovine outbreak due to carcass contaminated non-acidified silage. *Epidemiol. Infect*. Vol,137. PP: 284-293.
- 12- Pamela, K. Swift, Wehausen, John D, Ernest, Holly B, Singer, Randall S, Pauli, Andrew M, Kinde, Hailu, et al. (2000) Desert bighorn sheep mortality due to presumptive type c botulism in California. *Journal of wildlife disease*. Vol, 36. PP: 184-189
- 13- Radostits Otto M, Clive C Gay, Kenneth W Hinchcliff and Peter D Constable. (2007) *Veterinary Medicine*. 10th ed. Elsevier PP:824-828.

### منابع مورد استفاده

- ۱- حسنی طباطبایی، عبدالمحمد و فیروزی، رؤیا. (۱۳۸۰) بیماری های باکتریایی دام . چاپ سوم . انتشارات دانشگاه تهران. صفحه ۱۸۵-۱۸۱.
- 2- Advisory Committee On The Microbiological Safety Of Food. Report on botulism in cattle. Available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/botulismincattlereport1206.pdf>
- 3- Advisory Committee On The Microbiological Safety Of Food . (2009) Report on botulism in sheep and goats. Published by Food Standards Agency .PP: 1-24 .
- 4- Cameron, C. M. (2009) A brief history of botulism in south Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* .Vol, 76.PP : 11-12 .
- 5- Centers for Disease Control and Prevention (1998) *Botulism in the United States, 1899-1996*. Handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.
- 6- Fitzpatrick, S. (2006) Botulism poisoning in cattle in the Northern Territory. *Agnote*. Vol,29.PP : 1-6 .
- 7- Galey, F.D, Terra, R, Walker, R, Adaska, J, Etchebarne, M.A, Puschner, B, et al. (2000) Type c botulism in dairy cattle from

