

## ***Type A Botulism in Members of a Family Following the Consumption of Locally Made Cheese***

Fereshteh Shahcheraghi<sup>1</sup>,  
Saman Nobari<sup>1</sup>,  
Parviz Vahdani<sup>2</sup>,  
Jalal Majdian<sup>3</sup>,  
Mohammad Mehdi Aslani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Microbiology Research Center, Department of Bacteriology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Centre, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Loghman Hakim Hospital, Tehran, Iran

(Received April 8, 2012 ; Accepted December 8, 2012)

### ***Abstract***

Botulism is a serious disease caused by botulinum toxin produced by the *Clostridium botulinum*, an anaerobic, gram positive, spore forming bacillus which exists in environment. In this article, we describe the foodborne botulism due to consumption of locally made cheese in two members of a family. Patients attended a clinical center with myasthenia, ptosis and dysphagia. The preliminary diagnosis was myasthenia gravis. However, no improvement was seen in patients after drug therapy. Then, locally made cheese consumed by them was sent to the Microbiology department of Pasteur institute of Iran. In order to diagnose botulinum toxin, mouse injection was done intraperitoneally with prepared samples, alone or mixed with antitoxins A, B, and E. Type A toxin was detected in locally made cheese after specific laboratory testing. The patients received antitoxin and all the symptoms resolved.

**Keywords:** Clostridium botulinum, Type A botulinum toxin, locally made cheese

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(96): 124-129 (Persian).

## وقوع بیماری بوتولیسم تیپ A در میان اعضای یک خانواده به دنبال مصرف پنیر محلی

فرشته شاهچراغی<sup>۱</sup>  
سامان نوبری<sup>۱</sup>  
پرویز وحدانی<sup>۲</sup>  
جلال مجدیان<sup>۳</sup>  
محمد مهدی اصلانی<sup>۱</sup>

### چکیده

بوتولیسم بیماری مهلکی است که از طریق توکسین بوتولینوم تولید شده توسط باکتری بی هوازی، گرم مثبت و اسپوردار کلوستریدیوم بوتولینوم که به وفور در طبیعت یافت می‌شود، ایجاد می‌گردد. در این مقاله، بوتولیسم غذایی ایجاد شده در ۲ نفر از اعضای یک خانواده به علت مصرف پنیر محلی شرح داده شده است. بیماران با علائم مشابه ضعف عضلانی شدید، پتوز و اختلال در بلع به مرکز درمانی مراجعه نمودند. تشخیص اولیه میاستنی گراویس بود اما پس از درمان دارویی صورت گرفته، هیچ‌گونه بهبودی در بیماران مشاهده نشد. در نهایت پنیر محلی مصرفی توسط بیماران، به بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال و بیماران به بیمارستان لقمان در تهران جهت معاینات دقیق‌تر اعزام شدند. تشخیص توکسین بوتولیسم به روش تزریق به موش و با مجاور سازی با آنتی توکسین‌های اختصاصی تیپ‌های A، B و E انجام شد. پس از انجام آزمایشات اختصاصی توکسین بوتولینوم تیپ A در نمونه پنیر محلی شناسایی گردید و علت بروز بیماری در خانواده مذکور، بیماری بوتولیسم ناشی از مصرف پنیر کیسه‌ای آلوده به توکسین A کلوستریدیوم بوتولینوم تشخیص داده شد. پس از درمان با آنتی توکسین، بیماران به طور کامل بهبود یافتند.

**واژه های کلیدی:** کلوستریدیوم بوتولینوم، توکسین بوتولینوم تیپ A، پنیر محلی

### مقدمه

نظر بالینی ایجاد کنند اما موارد انسانی بوتولیسم اغلب توسط توکسین‌های تیپ A، B، E و گاهی F ایجاد می‌شود. توکسین بوتولینوم قوی‌ترین و مهلک‌ترین توکسین باکتریایی شناخته شده در جهان می‌باشد. شرایط بی‌هوازی و درجه حرارت مناسب در تولید توکسین بوتولینوم نقش مهمی ایفا می‌کنند. کنسرو غذایی به ویژه کنسرو ماهی به علت داشتن شرایط مناسب بی‌هوازی منبع عمده‌ای برای توکسین بوتولینوم

بیماری مهلک بوتولیسم در نتیجه عملکرد توکسین‌های بوتولینوم حاصله از باکتری کلوستریدیوم بوتولینوم ایجاد می‌شود. کلوستریدیوم بوتولینوم باسیل گرم مثبت، بی‌هوازی مطلق و اسپوردار می‌باشد که به صورت گسترده در خاک و آب یافت می‌گردد (۱). کلوستریدیوم بوتولینوم ۷ توکسین ایمونولوژیک A-G را تولید می‌کند. همه توکسین‌ها ساختار تک پلی‌پپتیدی بزرگی دارند که همگی می‌توانند سندرم مشابهی را از

E-mail: shahcheraghifereshteh@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** فرشته شاهچراغی - تهران: خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، بخش باکتریولوژی

۱. مرکز تحقیقات میکروب شناسی، بخش باکتریولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. بیمارستان لقمان حکیم تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۹/۱۸

سالانه CDC در سال ۲۰۰۸، ۱۸ مورد بوتولیسم غذایی در ایالات متحده گزارش شده است (۹). شیوع از طریق مصرف مواد غذایی تهیه شده از طریق رستوران ها و مراکز تجاری نیز گزارش شده است (۱۰، ۱۱). بوتولیسم نوزادان در ایران اولین بار توسط دکتر وحدانی و همکاران (۱۳۸۳) در یک نوزاد ۶ ماهه در اراک گزارش شد (۱۱). در ایالات متحده این شکل از بیماری شایع ترین نوع بوتولیسم می باشد که سالانه ۸۰ تا ۱۰۰ مورد از آن گزارش می گردد (۱۲).

تمامی اشکال بوتولیسم به صورت سندروم مشابهی به شکل فلج اعصاب مغزی تظاهر پیدا می کنند که ممکن است همراه با فلج و شل شدن متقارن عضلات ارادی باشد و در نهایت می تواند به اختلالات تنفسی و مرگ منجر گردد (۱۳، ۱۴). در مواردی از بیماری، تشخیص افتراقی مشکل می باشد و ترکیب یافته های بالینی و آزمایشات اختصاصی تشخیص دقیق را ممکن می سازد. از آنجایی که در بیماری بوتولیسم گاه علائم مبهم می باشد (۱۴) و به طور کلی بوتولیسم بیماری شایعی نمی باشد، اغلب پزشکان به طور دقیق با تظاهرات بوتولیسم آشنا نیستند.

## معرفی بیمار

بیمار اول: خانم ۳۴ ساله دچار ضعف، بی حالی، احساس کاهش قدرت عضلانی و به تدریج افتادگی پلک چپ پیدا می کند. علائم بیمار طی ۲ الی ۳ روز به حدی تشدید می گردد که دیگر قادر به نگه داشتن سر و گردن خود نبوده، با پیشرفت علائم دچار اختلال در بلع حتی مایعات می شود. از علائم درگیری عضلات پروکسیمال، عدم توانایی در مسواک زدن و شانه کردن موی سر بوده است که به تدریج ضعف عضلات منجر به عدم توانایی در ایستادن و راه رفتن می شود. بیمار در چندین نوبت حین خوردن مایعات دچار آسپیراسیون مایع در حال بلع شده بود. به دنبال شدت یافتن علائم بیمار به یک مرکز درمانی مراجعه می کند. بیمار در طی

محسوب می گردند. بیشترین میزان مسمومیت غذایی بر اثر کلستریدیوم بوتولینوم در اغلب نقاط دنیا مربوط به مصرف ماهی ها به ویژه ماهی های دودی، شور و کنسرو ماهی می باشد که آلودگی با توکسین تیپ E را نشان می دهند (۱، ۲).

در ایران در بررسی صورت گرفته طی سال های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۹، از ۶۴ مورد بوتولیسم تأیید شده، تیپ های E (۳۴/۳ درصد)، A (۲۱/۸ درصد) و B (۱۱ درصد) به عنوان شایع ترین تیپ های شناسایی شده گزارش شده اند. در طی این دوره غذاهای دریایی و پنیرهای محلی به ترتیب مهم ترین عوامل ایجاد بوتولیسم غذایی تیپ E و A در ایران بوده اند (۳).

توکسین بوتولینوم بر سیستم کولی نرژیک در ناحیه انتهایی پیش سیناپسی مؤثر بوده، با توقف ترشح استیل کولین در فضای عصب-عضله منجر به فلج شل می گردد (۴). توکسین های بوتولینوم بر سیستم آدرنرژیک نیز مؤثر می باشند اما این تأثیر بدون علائم مشخص می باشد (۵). اگر چه به صورت دقیق دوز کشندگی توکسین ها تعیین نشده است اما در مطالعات اخیر دوز کشندگی توکسین بوتولینوم تیپ A را برای یک انسان ۷۰ کیلوگرمی در صورت تزریق وریدی  $0.09 \mu\text{g}$  الی  $0.15 \mu\text{g}$ ، به صورت استنشاقی  $0.8 \mu\text{g}$  الی  $0.9 \mu\text{g}$  و از راه دهان  $70 \mu\text{g}$  تعیین کرده اند (۶).

بوتولیسم غذایی، بوتولیسم زخم، بوتولیسم نوزادان و بوتولیسم تنفسی از مهم ترین اشکال بیماری بوتولیسم می باشند. شکل یاتروژنیک بیماری بوتولیسم که بر اثر تزریق توکسین بوتولینوم به منظور اهداف درمانی و یا زیبایی ایجاد می شود، در سال های اخیر رو به افزایش می باشد. بوتولیسم غذایی که بر اثر مصرف مواد غذایی حاوی توکسین ایجاد می گردد از شایع ترین موارد بوتولیسم در ایران می باشد (۷). در ایالات متحده طی سال های ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۰ سالانه به طور متوسط ۲۳ مورد بوتولیسم بر اثر مصرف غذای حاوی توکسین گزارش شده است (۸). قابل توجه است که بر اساس گزارش

بروز علایم و هنگام مراجعه به مرکز درمانی فاقد تب بوده است. در این مرکز تشخیص بیماری میاستنی گراویس داده می شود و پس از پلاسما فرزیس تحت درمان دارویی با کورتیکواستروئید  $60 \text{ mg/d}$  و Mestinon قرار می گیرد که هیچ گونه بهبودی مشاهده نمی شود و بیمار به بیمارستان لقمان منتقل می شود. در معاینات اولیه پتوز دو طرفه در چهره بیمار مشهود بوده، بیمار قادر به بالا آوردن کامل اندام های فوقانی نبود. از نکات دیگر در معاینه، عدم توانایی در نشستن از حالت خوابیده به حالت نشسته بود و بیمار توانایی ایستادن طولانی مدت را نداشت.

بیمار دوم: مدتی پس از شروع علایم در خانم، برادر ۲۵ ساله وی نیز دچار علایم مشابهی به صورت عدم توانایی در نگه داشتن سر و گردن و به دنبال آن اختلال در عمل بلع می شود و در عرض چند روز پتوز مختصر در چشم ها را پیدا می کند و گاهی دچار دو بینی می شود. با پیشرفت ضعف عضلات پروکسیمال و عدم توانایی در بالا رفتن از پله، بیمار به پزشک مراجعه نموده، با تشخیص میاستنی گراویس تحت پلاسمافرزیس و درمان دارویی مشابه قرار می گیرد. به دنبال عدم بهبودی، به بیمارستان لقمان ارجاع داده شد. در معاینات اولیه علایم نسبت به بیمار اول خفیف تر و تنها به صورت ضعف عمومی بدن بود و بیمار تنها در بالا رفتن از پله ها دچار اشکال بود. در طول مدت درمان با وجود ادعای بیماران مبنی بر ظهور علایم بیماری آن ها هم زمان با مصرف پنیر کیسه ای خریداری شده از فروشگاه محل که به صورت سنتی تهیه شده بود، پزشکان معالج به این نکته توجه نداشتند. به دنبال عدم بهبودی بیماران پس از گذشت چند هفته از مصرف داروهای فوق الذکر و با توجه به بروز علایم مشابه در همسایه بیماران فوق، با احتمال دخیل بودن پنیر در بروز بیماری، پنیر مصرفی جهت بررسی به بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ارسال گردید که با توجه به علایم و شیوه سنتی تهیه پنیر که احتمال حضور

توکسین بوتولینوم را نشان می داد، بیماران به بیمارستان لقمان حکیم در تهران ارجاع داده شدند. پنیر مصرفی جهت آزمایشات تخصصی به بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال شد. جهت تشخیص اختصاصی توکسین بوتولیسم، از روش استاندارد تزریق به موش استفاده گردید. مطابق با دستورالعمل های WHO و CDC، پس از آماده کردن نمونه، مجاورسازی با آنتی توکسین های اختصاصی تیپ های A، B و E انجام شد. سپس تزریق داخل صفاقی به موش صورت گرفت (۱۵).

در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق به موش ها زنده یا مرده بودن و بروز علایم بوتولیسم در آن ها بررسی گردید. نتایج ۲۴ ساعته به طور سریع به پزشک متخصص و مرکز مدیریت بیماری ها اطلاع داده شد و پس از ۴۸ ساعت و تأیید مشاهدات قبلی پاسخ نهایی آزمایش تهیه گردید و علت بروز بیماری در خانواده مذکور بیماری بوتولیسم ناشی از مصرف پنیر کیسه ای آلوده به توکسین A کلستری دیوم بوتولینوم تشخیص داده شد. جهت درمان از آنتی توکسین پلی کلونال به میزان  $240 \text{ IU}$  جهت دستیابی به غلظت  $0.13 \text{ IU/ml}$  از آنتی توکسین استفاده شد. پس از درمان با آنتی توکسین، بیماران به طور کامل بهبود یافتند.

## بحث

تمایز بوتولیسم از بیماری هایی با علایم مشابه نظیر Myasthenia gravis، Guillain-Barre syndrome، Easton-Lambert syndrome و آسیب های ناشی از ضربات مغزی حائز اهمیت می باشد. فلج اعصاب مغزی، نشانه ثابتی در بوتولیسم است و عدم مشاهده آن یا شروع آن بعد از تظاهرات عصبی دیگر احتمال بیماری را از بین می برد. از دیگر نشانه های بارز بوتولیسم می توان فلج عضلات خارجی چشم، تاری دید و پتوز پلک ها را نام برد. در بیماران فوق الذکر علاوه بر فلج اعصاب مغزی، پتوز پلک ها و عدم بهبودی بیماران پس از درمان ناموفق با کورتیکواستروئید و Mestinon

علائمی کاملاً مشهود به نفع بوتولیسم بوده‌اند. فلج اعصاب مغزی اغلب با فلج شل عضلات همراه می‌گردد و فلج عضلات تنفسی ممکن است منجر به مرگ و خفگی گردد (۱۴،۱۳).

در مورد بوتولیسم نتایج آزمایشات معمول بر روی مایع مغزی نخاعی به ویژه میزان پروتئین کاملاً طبیعی است در حالی که در سندروم گیلن باره میزان پروتئین مایع مغزی نخاعی افزایش می‌یابد با این حال این افزایش ممکن است تا چند روز بعد از بروز علائم به تأخیر افتد (۱۶). سندروم گیلن باره معمولاً همراه با یک عفونت حاد (در ۱/۳ موارد عفونت کمپلوباکتر ژرونی) می‌باشد و سابقه اسهال و کشت مدفوع می‌تواند مفید باشد. نتایج آزمایش Tensilon با یا بدون حضور اتو آنتی‌بادی‌ها تشخیص Myasthenia gravis را تأیید می‌کند (۱۷). البته جواب مثبت کاذب در آزمایش Tensilon در مواردی از بیماری بوتولیسم گزارش شده است (۱۶،۱). در این موارد اطلاعات کسب شده از بیمار یا خانواده وی در زمینه مصرف مواد غذایی مشکوک توسط بیمار حیاتی می‌باشد همچنان که در مورد اخیر گزارش مصرف پنیر توسط بیماران کاملاً در جهت تشخیص مؤثر بود.

روش‌های آزمایشگاهی معمول از جمله بیوشیمی ادرار و خون و هماتولوژی در تشخیص بیماری بوتولیسم مؤثر نمی‌باشند (۱۸). در حال حاضر با وجود پیشرفت‌های حاصل شده در زمینه تشخیص بوتولیسم از طریق روش‌های مولکولی و ایمونولوژیک، استاندارد طلایی تشخیص بوتولیسم شناسایی توکسین بوتولینوم از طریق روش مطالعه حیوانی با تزریق به موش می‌باشد (۱). تأیید بیماری بوتولیسم منوط به نشان دادن توکسین در نمونه‌های مشکوک شامل سرم بیمار، محتویات معده، مدفوع و یا باقیمانده مواد غذایی مصرفی توسط بیمار می‌باشد. میزان مناسب سرم برای شناسایی توکسین احتمالی ۱۰ ml، مدفوع ( $\geq 10g$ )، محتویات معده ۲۰ ml و مواد غذایی حداقل ۱۰۰ gr می‌باشد، به ویژه

در مورد سرم با توجه به اهمیت تعیین تیپ، میزان نمونه ارسالی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین سرم باید فوراً به میزان کافی و قبل از استفاده از آنتی‌توکسین از فرد بیمار تهیه گردد زیرا آنتی‌توکسین، تمام توکسین‌های در حال گردش در خون را خنثی می‌کند و آزمایش بر روی سرم را بی‌معنی می‌سازد. نمونه‌ها باید با رعایت زنجیره سرد ارسال گردند. به طور متوسط توکسین بعد از یک هفته در سرم قابل تشخیص نمی‌باشد اما در مورد مدفوع این زمان بیشتر بوده، در مورد مواد غذایی تا مدت طولانی توکسین قابل تشخیص می‌باشد (۱۵).

استفاده از روش‌های سنتی مثل دفن کردن در خاک، جهت تهیه و طعم دار کردن مواد غذایی به ویژه پنیر از گذشته در مناطق روستایی ایران رایج بوده است. شرایط بی‌هوایی و دمایی ایجاد شده در این روش‌ها، تولید توکسین توسط کلستریدیوم بوتولینوم را ممکن می‌سازد. اولین بار در سال ۱۳۷۷، شیوع بوتولیسم بر اثر مصرف پنیر آلوده به کلستریدیوم بوتولینوم تیپ A با همکاری انستیتو پاستور ایران و بیمارستان لقمان حکیم در شمال ایران گزارش گردید (۱۹). علاوه بر بیماران معرفی شده در این مقاله، در سال‌های اخیر چندین مورد از بروز بیماری بوتولیسم در ایران بر اثر مصرف این گونه پنیرهای محلی دیده شده است. در سایر نقاط جهان نیز مواردی از شیوع بوتولیسم به علت مصرف مواد لبنی به ویژه پنیرهای محلی گزارش شده است (۲۱،۲۰) بنابراین آگاه‌سازی عمومی و نظارت دقیق بر نحوه تهیه این گونه پنیرها الزامی به نظر می‌رسد.

در مورد اخیر گزارش شده بیماران به مدت بیش از ۳ ماه تحت درمان پلازما فرزیس و داروهای Mestinon و کورتیکواستروئید قرار داشتند اما متأسفانه بهبودی حاصل نشده بود. از این رو توجه به نکات زیر باید مد نظر قرار گیرد:

- ۱- Myasthenia gravis هرگز در یک خانواده ۴ یا ۵ نفری، همزمان با هم مشاهده نمی‌شود.
- ۲- در Myasthenia gravis هم‌زمان با آغاز درمان و

سطح ملی محسوب می‌گردد و در صورت مشاهده علائم بارز بیماری، شک فوری به بوتولیسم و درخواست فوری آزمایشات اختصاصی برای شناسایی توکسین‌های بوتولیسم ضروری می‌باشد.

پزشکان باید نمونه‌های مشکوک را به طور سریع طی ۲۴ ساعت به آزمایشگاه بوتولیسم در بخش میکروبی‌شناسی انستیتو پاستور ایران جهت تشخیص ارسال کنند و موارد مثبت و نتایج درمان به آزمایشگاه و مرکز مدیریت بیماری‌های وزارت بهداشت گزارش گردد. توصیه می‌شود که مراکز بهداشتی در سراسر کشور در صورت گزارش موارد مشکوک فوراً بررسی‌های اپیدمیولوژیک را برای تعیین منبع عفونت و شناسایی سایر اشخاص آلوده احتمالی آغاز نمایند.

ادامه آن کاهش علائم دیده می‌شود و به تدریج به سمت بهبودی کامل پیش می‌رود در حالی که در مورد اخیر علائم قبل و بعد از درمان تغییر قابل توجهی نداشته است.

۳- پیشنهاد می‌شود که متخصصین اعصاب و داخلی در برخورد با بیمارانی با تشخیص احتمالی Guillain-Barre syndrome، Myasthenia gravis و Easton-Lambert syndrome حتماً بیماران را از نظر احتمال بوتولیسم غذایی و یا بوتولیسم یاتروژنیک مورد ارزیابی قرار دهند. مشاهده علائم مشکوک، نمونه‌گیری به موقع و ارسال سریع مواد غذایی مصرفی مشکوک به آلودگی با توکسین به آزمایشگاه جهت آزمایشات تخصصی می‌تواند به درمان به موقع بیمار مبتلا و نجات جان وی کمک کند. طبق توصیه کارشناسان WHO و CDC هر موردی از بوتولیسم یک فوریت پزشکی در

## References

1. Sobel J. Botulism. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41(8): 1167-1173.
2. Sugiyama H. Clostridium botulinum Neurotoxin. *Microbiological Reviews* 1980; 44(3): 419-448.
3. Nobari S, Aslani MM, Masoumi-Asl H, Vahdani P, Shouraj F, Shahcheraghi F. Botulism in Iran, 2004-2010. 20<sup>th</sup> Iranian Congress of Infectious Diseases and Tropical Medicine. Tehran, Iran. 2011.
4. Hatheway CL. Clostridium botulinum. In: Bartlett JG, Blacklow NR, (eds). *Infectious diseases*. Orlando: Saunders Company; 1991. p. 1583-1586.
5. Hatheway CL. Clostridium botulinum and other clostridia that produce botulinum neurotoxin. In: Hauschild AHS, Dodds KL, (eds). *Clostridium botulinum: ecology and control in foods*. New York: Marcel Dekker; 1992. p. 3-20.
6. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, et al. Botulism toxin as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 2001; 285(8): 1059-1070.
7. Shahcheraghi F. Annual report of Botulism cases in Iran. *Scientific Seminar of Botulism*. Qazvin, Iran. 2010. (Persian).
8. Sobel J, Tucker N, McLaughlin J, Maslanka S. Foodborne botulism in the United States, 1990-2000. *Emerg Infect Dis* 2004; 2004; 10(9): 1606-1611.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2008. Summary of Botulism Cases Reported in 2008. Atlanta, GA: CDC; 2008.
10. CDC 2003. Outbreak of Botulism Type E Associated with Eating a Beached Whale Western Alaska, July 2002. *MMWR* 2003; 52(2): 24-26.
11. Vahdani P, Dore F, Velayati AA, Ramezani A, Sharafi K. First report of infant botulism in Iran. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2004;

- 9(24): 70-73 (Persian).
12. Shapiro R, Hatheway CL, Swerdlow DL. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. *Ann Intern Med* 1998; 129: 221-228.
  13. Vahdani P. Botulism and Food poisoning. 1<sup>th</sup> ed. Tehran: Nozhat; 2001. p. 21-32 (Persian).
  14. Lindstrom M, Korkeala H. Laboratory Diagnostics of Botulism. *Clinical Microbiology Reviews* 2006; 19(2): 298-314.
  15. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Botulism in the United States, 1899-1996, handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers. Atlanta, GA: CDC; 1998.
  16. Pascuzzi RM, Fleck JD. Acute peripheral neuropathy in adults: Guillain-Barre syndrome and related disorders. *Neurol Clin* 1997; 15: 529-547.
  17. Cherington M. Electrophysiologic methods as an aid in diagnosis of botulism, a review. *Muscle Nerve* 1982; 5(9s): S28-29.
  18. Centers for Disease Control and Prevention. Botulism in the United States, 1899-2006. Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers. Atlanta, GA: CDC; 2008.
  19. Pourshafie MR, Saifie M, Shafiee A, Vahdani P, Aslani MM, Salemian J. An outbreak of food-borne botulism associated with contaminated locally made cheese in Iran. *Scand J Infect Dis* 1998; 30(1): 92-94.
  20. AHVLA Disease Surveillance Report. Large outbreak of suspected botulism in a dairy herd in northern England. *Vet Rec* 2011; 169(26): 675-678.
  21. Aureli P, Di Cunto M, Maffei A, De Chiara G, Franciosa G, Accorinti L, et al. An outbreak in Italy of botulism associated with a dessert made with mascarpone cream cheese. *Eur J Epidemiol* 2000; 16(10): 913-918.