

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

فرشته شاهچراغی^۱
سامان نوبری^۱
پرویز وحدانی^۲
جلال مجدیان^۳
محمد مهدی اصلانی^۱

چکیده

سابقه و هدف: 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 می شود، ایجاد می گردد. در این مقاله، بوتولیسم غذایی ایجاد شده در ۲ نفر از اعضای یک خانواده به علت مصرف پنیر محلی شرح داده شده است.

مواد و روش ها: 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، هیچ گونه 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 دقیق تر اعزام شدند. تشخیص توکسین بوتولینوم به روش تزریق به موش و با مجاور سازی با آنتی توکسین های اختصاصی تیپ های A، B و E انجام شد.

یافته ها: 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 کیسه ای آلوده به توکسین A کلوستریدیوم بوتولینوم تشخیص داده شد. پس از درمان با آنتی توکسین، بیماران به طور کامل بهبود یافتند.

استنتاج: تشخیص دقیق بوتولیسم بر اساس علائم بالینی بیمار و کسب اطلاعات در مورد غذای مصرفی بیمار طی ۳ الی ۵ روز پیش از شروع علائم می باشد. تشخیص دقیق و به موقع بوتولیسم نقش حیاتی در درمان بیماران و نجات جان آن ها دارد.

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

مقدمه

بیماری مهلک بوتولیسم در نتیجه عملکرد توکسین های بوتولینوم حاصله از باکتری کلوستریدیوم بوتولینوم ایجاد می شود. کلوستریدیوم بوتولینوم باسیل گرم مثبت، بی هوازی مطلق و اسپوردار می باشد که به صورت گسترده در خاک و آب یافت می گردد (۱). کلوستریدیوم بوتولینوم ۷ توکسین ایمونولوژیک A-G را تولید می کند. همه توکسین ها ساختار تک پلی پپتیدی بزرگی دارند که همگی می توانند سندرم مشابهی را از

بیماری مهلک بوتولیسم در نتیجه عملکرد توکسین های بوتولینوم حاصله از باکتری کلوستریدیوم بوتولینوم ایجاد می شود. کلوستریدیوم بوتولینوم باسیل گرم مثبت، بی هوازی مطلق و اسپوردار می باشد که به

shahcheraghifereshteh@yahoo.com E-mail:

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

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

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

۳. بیمارستان لقمان حکیم تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۹/۱۸

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 کنسروهای ماهی به علت داشتن شرایط مناسب بی‌هوازی منبع عمده‌ای برای توکسین بوتولینوم محسوب می‌گردند. بیشترین میزان مسمومیت غذایی بر اثر کلستریدیوم بوتولینوم در اغلب نقاط دنیا مربوط به مصرف ماهی‌ها به ویژه ماهی‌های دودی، شور و کنسرو ماهی می‌باشد که آلودگی با توکسین تیپ E را نشان می‌دهند (۱،۲).

در ایران در بررسی صورت گرفته طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۹، از ۶۴ مورد بوتولیسم تأیید شده، تیپ‌های E (۳/۳۴ درصد)، A (۸/۲۱ درصد)، و B (۱۱ درصد) به عنوان شایع‌ترین تیپ‌های شناسایی شده گزارش شده‌اند. در طی این دوره غذاهای دریایی و پنیرهای محلی به ترتیب مهم‌ترین عوامل ایجاد بوتولیسم غذایی تیپ E و A در ایران بوده‌اند (۳).

توکسین بوتولینوم بر سیستم کولینرژیک در ناحیه انتهایی پیش‌سیناپسی مؤثر بوده، با توقف ترشح استیل کولین در فضای عصب-عضله منجر به فلج شل می‌گردد (۴). توکسین‌های بوتولینوم بر سیستم آدرنرژیک نیز مؤثر می‌باشند اما این تأثیر بدون علائم مشخص می‌باشد (۵). اگر چه به صورت دقیق دوز کشندگی توکسین‌ها تعیین نشده است اما در مطالعات اخیر دوز کشندگی توکسین بوتولینوم تیپ A را برای یک انسان ۷۰ کیلوگرمی در صورت تزریق وریدی $0.9 \mu\text{g}$ 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 کرده‌اند (۶).

بوتولیسم غذایی، بوتولیسم زخم، بوتولیسم نوزادان و بوتولیسم تنفسی از مهم‌ترین اشکال بیماری بوتولیسم می‌باشند. شکل یاتروژنیک بیماری بوتولیسم که بر اثر

تزریق توکسین بوتولینوم به منظور اهداف درمانی و یا زیبایی ایجاد می‌شود، در سال‌های اخیر رو به افزایش می‌باشد. بوتولیسم غذایی که بر اثر مصرف مواد غذایی حاوی توکسین ایجاد می‌گردد از شایع‌ترین موارد بوتولیسم در ایران می‌باشد (۷). در ایالات متحده طی سال‌های 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 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 رستوران‌ها و مراکز تجاری نیز گزارش شده است (۱، ۱۰). 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 شایع‌ترین نوع بوتولیسم می‌باشد که سالانه ۸۰ تا ۱۰۰ مورد از آن گزارش می‌گردد (۱۲).

تمامی اشکال بوتولیسم به صورت سندروم مشابهی به شکل فلج اعصاب مغزی تظاهر پیدا می‌کنند که ممکن است همراه با فلج و شل شدن متقارن عضلات ارادی باشد و در نهایت می‌تواند به اختلالات تنفسی و مرگ منجر گردد (۱۳، ۲). در مواردی از بیماری، تشخیص افتراقی مشکل می‌باشد و ترکیب یافته‌های بالینی و آزمایشات اختصاصی تشخیص دقیق را ممکن می‌سازد. از آنجایی که در بیماری بوتولیسم گاه علائم مبهم می‌باشد (۱۴) و به طور کلی بوتولیسم بیماری شایعی نمی‌باشد، اغلب پزشکان به طور دقیق با تظاهرات بوتولیسم آشنا نیستند.

معرفی بیمار

بیمار اول: خانم ۳۴ ساله دچار ضعف، بی‌حالی، احساس کاهش قدرت عضلانی و به تدریج افتادگی پلک چپ پیدا می‌کند. علائم بیمار طی ۲ الی ۳ روز به حدی تشدید می‌گردد که دیگر قادر به نگاه داشتن سر و

گردن خود نبوده و با پیشرفت علائم دچار اختلال در بلع حتی مایعات می‌شود. 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 می‌شود. 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 می‌کند. بیمار در طی بروز علائم و هنگام مراجعه به مرکز درمانی فاقد تب بوده است. در این مرکز تشخیص بیماری میاستنی گراویس داده می‌شود و پس از پلاسما فرزیس تحت درمان دارویی با کورتیکواستروئید 60 mg/d و Mestinon قرار می‌گیرد که هیچ‌گونه بهبودی مشاهده نمی‌شود و بیمار به بیمارستان لقمان منتقل می‌شود. در معاینات اولیه پتوز دو طرفه در چهره بیمار مشهود بوده و بیمار قادر به بالا آوردن کامل اندام‌های 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 علائم در خانم، برادر ۲۵ ساله وی نیز دچار علائم مشابهی به صورت عدم توانایی در نگه داشتن سر و گردن و به دنبال آن اختلال در عمل بلع می‌شود و در عرض چند روز پتوز مختصر در چشم‌ها را پیدا می‌کند و گاهی دچار دوبینی می‌شود. با پیشرفت ضعف عضلات پروکسیمال و عدم توانایی در بالا رفتن از پله، بیمار به پزشک مراجعه نموده، با تشخیص میاستنی گراویس تحت پلاسما فرزیس و درمان دارویی مشابه قرار می‌گیرد. به دنبال عدم بهبودی، به بیمارستان لقمان ارجاع داده شد. در معاینات اولیه علائم نسبت به بیمار اول خفیف تر و تنها به صورت ضعف عمومی بدن بود و بیمار تنها در بالا رفتن از پله‌ها دچار اشکال بود. در طول مدت درمان با وجود ادعای بیماران مبنی بر ظهور علائم بیماری آن‌ها هم‌زمان با مصرف پنیر کیسه‌ای 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 فوق‌الذکر و با توجه به بروز علائم مشابه در همسایه بیماران فوق، با احتمال دخیل بودن پنیر در بروز بیماری، پنیر مصرفی جهت بررسی به بخش میکروبی‌شناسی انستیتو پاستور ارسال گردید که با توجه به علائم و شیوه سنتی تهیه پنیر که احتمال حضور توکسین بوتولینوم را نشان می‌داد، بیماران به بیمارستان لقمان حکیم در تهران ارجاع داده شدند. پنیر مصرفی جهت آزمایشات تخصصی به بخش میکروبی‌شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال شد. جهت تشخیص اختصاصی توکسین بوتولینوم، از روش استاندارد تزریق به موش استفاده گردید. مطابق با دستورالعمل‌های WHO و CDC، پس از آماده کردن نمونه، مجاورسازی با آنتی‌توکسین‌های اختصاصی تیپ‌های 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 موش‌ها زنده یا مرده بودن موش‌ها و بروز علائم بوتولیسم در آن‌ها بررسی گردید. نتایج ۲۴ ساعته به طور سریع به پزشک متخصص و مرکز مدیریت بیماری‌ها اطلاع داده شد و پس از ۴۸ ساعت و تأیید مشاهدات قبلی پاسخ‌نهایی آزمایش تهیه گردید و علت بروز بیماری در خانواده مذکور بیماری بوتولیسم ناشی از مصرف پنیر کیسه‌ای آلوده به توکسین A کلاستریدیوم بوتولینوم تشخیص داده شد. جهت درمان از آنتی‌توکسین پلی‌کلونال به میزان 240 IU جهت دستیابی به غلظت 0.13 IU/ml از آنتی‌توکسین استفاده شد. پس از درمان با آنتی‌توکسین، بیماران به طور کامل بهبود یافتند.

بحث

تمایز بوتولیسم از بیماری‌هایی با علائم مشابه نظیر Myasthenia gravis، Guillain- Barre syndrome،

Easton- Lambert syndrome و آسیب‌های ناشی از ضربات مغزی حائز اهمیت می‌باشد. 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 می‌برد. از دیگر نشانه‌های بارز بوتولیسم می‌توان فلج عضلات خارجی چشم، تاری دید و پتوز پلک‌ها را نام برد. در بیماران فوق‌الذکر علاوه بر فلج اعصاب مغزی، پتوز پلک‌ها و عدم بهبودی بیماران پس از درمان ناموفق با کورتیکواستروئید و Mestinon علائمی کاملاً مشهود به نفع بوتولیسم بوده اند. فلج اعصاب مغزی اغلب با فلج شل عضلات همراه می‌گردد و فلج عضلات تنفسی ممکن است منجر به مرگ و خفگی گردد (۱۳، ۱۴).

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 کمپیلوباکتر 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 (۱، ۱۶). 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 تلاشی تشخیص بوتولیسم 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 (۲۰، ۲۱) بنابراین

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 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.

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 پلاسما 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 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 Myasthenia gravis، Guillain- Barre syndrome و Easton- Lambert syndrome حتماً بیماران را از نظر احتمال بوتولیسم غذایی و یا بوتولیسم ایاتروژنیک مورد ارزیابی قرار دهند. مشاهده علائم مشکوک، نمونه‌گیری

References

- Sobel J. Botulism. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41: 1167-1173.
- Sugiyama H. Clostridium botulinum Neurotoxin. *Microbiological Reviews* 1980; 44(3): 419-448.
- Nobari S, Aslani MM, Masoumi-Asl H, Vahdani P, Shouraj F, Shahcheraghi F. Botulism in Iran, 2004-2010. 20th Iranian Congress of Infectious Diseases and Tropical Medicine. Tehran, Iran. 2011.
- Hatheway CL. Clostridium botulinum. In: Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious diseases*. Orlando: Saunders Company 1991; p. 1583-1586.
- 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.
- Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV. Botulism toxin as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 2001; 285: 1059-1070.
- Shahcheraghi F. Annual report of Botulism cases in Iran. *Scientific Seminar of Botulism*. Qazvin, Iran. 2010. (Persian).
- Sobel J, Tucker N, McLaughlin J, Maslanka S. Foodborne botulism in the United States, 1990-2000. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:

- 1606-1611.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Summary of Botulism Cases Reported in 2008. Atlanta, GA: CDC, 2008.
 10. Outbreak of Botulism Type E Associated with Eating a Beached Whale Western Alaska, July 2002. *MMWR* 2003; 52(2): 24-26.
 11. Vahdani P, Velayati AA, Ramezani A, Sharafi K. [First report of infant botulism in Iran]. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2004; 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.
 13. Vahdani P. Botulism and Food poisoning. 1th ed. Tehran: Nozhat; 2001. p. 21-32 (Persian).
 14. Lindstrom M, Korkeala H. Laboratory Diagnostics of Botulism. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006; 19: 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: 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.