Review Article

โบทูลิซึม (Botulism)

จิณัติตา จิตติวัฒน์[1]*

[1] คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

***ติดต่อผู้นิพนธ์:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิณัติตา จิตติวัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

E-mail: jinatta@gmail.com

บทคัดย่อ

โบทูลิซึม (Botulism)

จิณัติตา จิตติวัฒน์[1]*

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2559; 12(2) : 11-20

รับบทความ : 15 มีนาคม 2559 **ตอบรับ :** 8 สิงหาคม 2559

โบทูลิซึม (Botulism) เกิดจากการได้รับสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) สร้างจากเชื้อ *Clostidium botulinum* ซึ่งมาจากแบคทีเรียที่สร้างสปอร์โดยไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobe) สปอร์ของ *Clostidium botulinum* พบได้ในดินและน้ำทั่วไป โดยสารพิษโบทูลินัม แบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ A, B, C1, C2, D, E, F และ G สารพิษโบทูลินัมจะเข้าไปในเซลล์และทำลาย SNARE complex ได้แก่ synaptobrevin, SNAP-25 และ syntaxin สารพิษโบทูลินัมแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะต่อโปรตีนตัวใดตัวหนึ่งใน SNARE complex ส่งผลยับยั้งไม่ให้อะซีทิลโคลีน (Acetylcholine) หลั่งออกมาบริเวณรอยต่อระหว่างกล้ามเนื้อร่วมประสาทได้ ทำให้ไม่เกิดการส่งสัญญาณประสาท (Synaptic transmission) ผู้ป่วยจึงมีการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ และเนื่องจากอะซีทิลโคลีนมีบทบาทต่อการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติก (Parasympathetic nervous system) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการของการยับยั้งประสาทโคลิเนอร์จิก (Cholinergic) ร่วมด้วย แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการนำสารพิษโบทูลินัมมาชนิด A มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น เช่น อาการปวดเกร็งของกล้ามเนื้อ ความผิดปกติของหูรูด และการลดริ้วรอยเพื่อความงามในผู้สูงอายุ เป็นต้น

คำสำคัญ: สารพิษโบทูลินัม, SNARE complex, อะซีทิลโคลีน, รอยต่อระหว่างกล้ามเนื้อร่วมประสาท, ตัวรับของอะซีทิลโคลีนชนิดนิโคทินิค

Botulism

Jinatta Jittiwat[1]*

[1] Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150

***Corresponding author:** Assist Prof. Dr. Jinatta Jittiwat , Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150

E-mail: jinatta@gmail.com

Abstract

Botulism

Jinatta Jittiwat[1]*

IJPS, 2016; 12(2) : 11-20

Received : 15 March 2016 **Accepted :** 8 August 2016

Botulism results from intoxication by botulinum toxin, which produced by a group of anaerobic spore forming organism called *Clostidium botulinum*. The spores of *Clostidium botulinum* are distributed widely in soil and water, which produces 8 types of toxin including type A, B, C1, C2, D, E, F and G. The toxin must enter the presynaptic terminal to cleave the SNARE complex, which including synaptobrevin, SNAP-25 and syntaxin. Each type of botulinum toxin is highly specific proteolytic cleavage of one of the proteins of SNARE complex, inhibits the release of acetylcholine (ACh) at neuromuscular junction (NMJ), leading to inhibition of synaptic transmission, leading to flaccid paralysis. Moreover, acetylcholine has an important role on parasympathetic nervous system; therefore the patient must be presented the signs and symptoms of cholinergic block as well. Moreover, injection of botulinum toxin type A have become one of the most popular for medical treatment such as myofascial pain, achalasia and cosmetic use in eldery.

Keywords: Botulinum toxin, SNARE complex, acetylcholine, neuromuscular junction, nicotinic acetylcholine receptor

บทนำ

โบทูลิซึม (Botulism) เกิดจากการได้รับสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) สร้างจากเชื้อ *Clostidium botulinum* ซึ่งมาจากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobe) พบได้ในดินและน้ำทั่วไป เป็นเชื้อรูปแท่งทรงกระบอกที่ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacilli) (Smith and Sugiyama, 1988) โดยเชื้อจะเจริญได้ดีในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน และเนื่องจากเชื้ออยู่ในรูปของสปอร์จึงทนต่อความร้อนได้ดี ถ้าต้องการทำลายจะต้องใช้อุณหภูมิสูงกว่า 120 องศาเซลเซียส (Hatheway, 1995)

โครงสร้างของสารพิษโบทูลินัม จะเป็นโปรตีน 2 สาย (Dichain) ประกอบด้วยโปรตีนสายหนัก (Heavy chain) ซึ่งมีขนาด 100 กิโลดัลตัน และโปรตีนสายเบา (Light chain) ซึ่งมีขนาด 50 กิโลดัลตัน (Turton *et al*., 2002) โดยสารพิษโบทูลินัมแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ A, B, C1, C2, D, E, F และ G (Nigam, 2010; Arnon *et al*., 2001) ชนิดที่มักก่อโรคในคนที่พบได้บ่อยเป็นชนิด A, B, E ส่วนชนิด F จะพบได้น้อย (Arnon *et al*., 2001; Barash *et al*., 2005; Abe *et al*., 2008; Chen and Wan, 2011) ชนิด C1, C2 และ D มักก่อโรคในสัตว์ เช่น แมว วัว ควาย และสัตว์ปีก (Hatheway, 1995; Elad *et al*., 2004; Zhang *et al*., 2010) ส่วนชนิด G นั้นมีรายงานพบผู้ป่วย

เสียชีวิตอย่างเฉียบพลัน 1 ราย ในประเทศสวิสเซอร์แลนด์ แต่ไม่พบการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อและระบบประสาทร่วมด้วย (Sonnabend *et al*., 1981) (ตารางที่ 1)

เมื่อได้รับสารพิษโบทูลินัมเข้าไปในร่างกายจะทำให้มีอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ โดยอาการอ่อนแรงนั้นจะเริ่มจากกล้ามเนื้อบริเวณใบหน้า เช่น หนังตาตก กลืนลำบาก พูดไม่ชัด ตาพร่ามัว และมองเห็นภาพซ้อน ในรายที่อาการรุนแรงจะพบว่ามีการหายใจติดขัด เกิดภาวะหายใจล้มเหลวและเสียชีวิตในที่สุด

ตารางที่ 1 ชนิดของพิษโบทูลินัม (Type of botulinum) การก่อโรคและตำแหน่งในการทำลาย SNARE protein ของสารพิษโบทูลินัมแต่ละชนิดที่ผู้ป่วยได้รับ

ชนิดของพิษโบทูลินัม (Type of botulinum)	การก่อโรค	ตำแหน่งในการทำลายของ SNARE complex
ชนิด A	ก่อโรคในคน	SNAP-25
ชนิด B	ก่อโรคในคน	Synaptobrevin
ชนิด C	ก่อโรคในสัตว์	SNAP-25, syntaxin
ชนิด D	ก่อโรคในสัตว์	Synaptobrevin
ชนิด E	ก่อโรคในคน	SNAP-25
ชนิด F	ก่อโรคในคน	Synaptobrevin
ชนิด G	ก่อโรคในคน	Synaptobrevin

วิทยาการระบาด

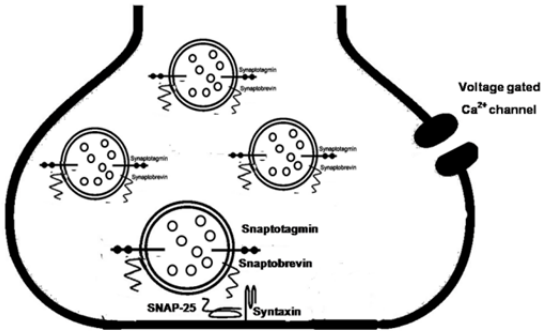
อาหารที่มีการปนเปื้อนของสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) ส่วนมากจะเป็นอาหารกระป๋อง สารพิษโบทูลินัมชนิด A และ B เป็นชนิดที่พบได้มากในประเทศแถบอเมริกาใต้ จีน ยุโรปตอนใต้ หรือประเทศในเขตร้อนที่ทำเกษตรกรรม (Caya *et al*., 2004) ส่วนชนิด E จะพบมากในประเทศแคนาดา ฟินแลนด์ ญี่ปุ่น นอร์เวย์ สวีเดน รัสเซียและอลาสก้า (Macdonald *et al*., 2011) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมชนิด F ในสหรัฐอเมริกาพบร้อยละ 1 ของจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมทั้งหมด มักพบภาวะการหายใจล้มเหลวภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับสารพิษ (Sobel *et al*., 2009) และสารพิษโบทูลินัมชนิด G มีรายงานพบผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างเฉียบพลัน 1 ราย หลังได้รับสารพิษชนิดนี้ในประเทศสวิสเซอร์แลนด์ แต่ไม่พบการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อและระบบประสาทร่วมด้วย (Sonnabend *et al*., 1981) ส่วนในประเทศไทยพบสารพิษโบทูลินัมชนิด A และ B ที่มักปนเปื้อนมากับอาหารพวกหน่อไม้ปี๊บ (Kongdaengdao *et al*., 2006; Wangroongsarb *et al*., 2014)

ประเทศไทยมีรายงานในปี 1997 มีผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมจากหน่อไม้ปี๊บ 6 คน (Swaddiwudhipong and Wongwatcharapaiboon, 2000) และในปี 2006 มีรายงานที่จังหวัดน่านมีผู้ป่วยไปร่วมงานบุญและกินหน่อไม้ปี๊บที่ปนเปื้อนสารพิษโบทูลินัมชนิด A จำนวน 209 คน (Kongdaengdao *et al*., 2006) เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตหน่อไม้ปี๊บอาจไม่ได้คุณภาพ เช่น ล้างหน่อไม้ไม่สะอาดซึ่งปกติเชื้อ *Clostidium botulinum* มาจากแบคทีเรียที่พบได้ในดินและน้ำ และนำไปต้มในอุณหภูมิไม่สูงพอที่จะทำลายเชื้อซึ่งมักอยู่ในรูปของสปอร์ที่ทนความร้อนได้ดี อีกทั้งยังนำมาบรรจุในปี๊บหรือภาชนะที่ไม่มีอากาศ ไร้ออกซิเจน ทำให้เชื้อเจริญได้ดียิ่งขึ้น เมื่อผู้บริโภครับประทานเข้าไปจะทำให้มีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงและมีผลยับยั้งการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติก (Parasympathetic nervous system) ร่วมด้วย โดยในประเทศไทยมักมีรายงานการระบาดจากการปนเปื้อนของสารพิษโบทูลินัมในอาหารเป็นส่วนใหญ่

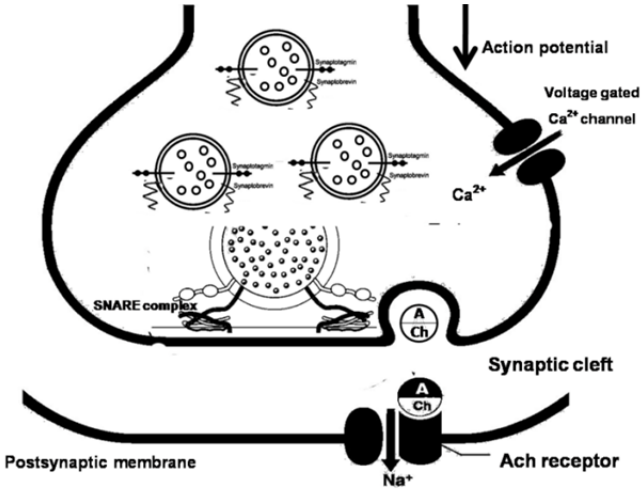
พยาธิสรีรวิทยาการเกิดโรค

ในภาวะปกติกลไกการหลั่งสารสื่อประสาทเกิดขึ้นเมื่อศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ประสาท (Action potential) เดินทางมาถึงปลายประสาท (Axon terminal) จะกระตุ้นให้ voltage gated calcium channel เปิด แคลเซียมไอออนจากภายนอกเซลล์จะไหลเข้ามาภายในเซลล์ทำให้ โปรตีน synaptobrevin ที่อยู่บน

ผิวของถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) ไปจับกับ syntaxin และ synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP-25) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic membrane) อย่างหลวมๆ เรียกการจับกันของโปรตีนเหล่านี้ว่า SNARE complex หลังจากนั้นแคลเซียมจะเข้ามาในเซลล์มากขึ้นและจับกับ synaptotagmin ที่อยู่บนผิวของถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) ที่ตำแหน่ง calcium binding site ทำให้ SNARE complex จับกันแน่นขึ้น เกิดแรงดึงทำให้ ถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) มาหลอมรวม (Fuse) กันกับเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic membrane) เกิดกระบวนการหลั่งสารสื่อประสาทออกมาจากปลายประสาทของเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic terminal) (รูปที่ 1 และ รูปที่ 2)

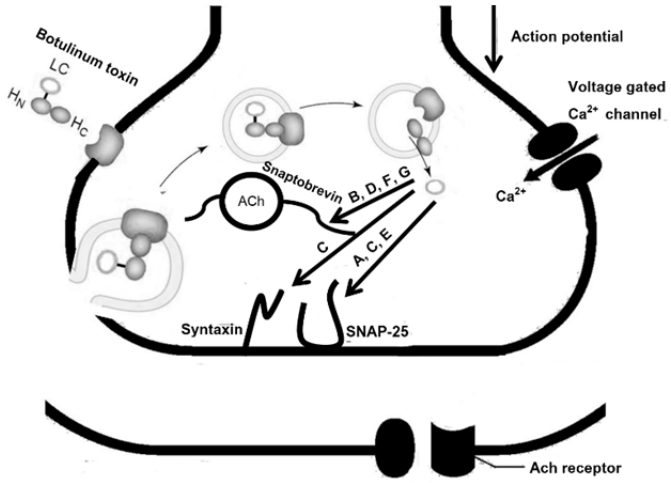


รูปที่ 1 โครงสร้างของโปรตีนหลักที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งสารสื่อประสาทซึ่งประกอบด้วย synaptobrevin และ synaptotagmin ที่อยู่บนผิวของถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) และ syntaxin และ synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP-25) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic membrane)



รูปที่ 2 กลไกการหลั่งสารสื่อประสาทอะซีทิลโคลีน (Acetylcholine) ในภาวะปกติเกิดขึ้นเมื่อศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ประสาท (Action potential) เดินทางมาถึงปลายประสาท (Axon terminal) จะกระตุ้นให้ voltage gated calcium channel เปิด แคลเซียมจากภายนอกเซลล์จะไหลเข้ามาในเซลล์ทำให้ SNARE complex ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน synaptobrevin ที่อยู่บนผิวของถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) และ syntaxin และ synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP-25) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ จับกันและเกิดแรงดึงทำให้ ถุงบรรจุสารสื่อประสาท (Synaptic vesicle) มาหลอมรวมกับเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic membrane) เกิดกระบวนการหลั่งสารสื่อประสาทออกมาจากเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic neuron) โดย อะซีทิลโคลีนที่หลั่งออกมาจะไปจับกับตัวรับของอะซีทิลโคลีน (Acetylcholine receptors; AChR) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ประสาทหลังไซแนปส์ (Postsynaptic membrane)

ในกรณีที่ได้รับสารพิษโบทูลินัม สารพิษนี้จะเข้าไปในเซลล์โดยโปรตีนสายหนัก (Heavy chain) จะเข้าไปยึดกับผิวของปลายประสาท (Axon terminal) โดยจับกับโปรตีนตัวรับบริเวณผิวของปลายประสาทนั้น (Surface protein receptor) และเข้าสู่ปลายประสาทด้วยกระบวนการนำสารเข้าสู่เซลล์แบบใช้ตัวรับ (Receptor mediated endocytosis) กลายเป็นถุง (Vesicle) ที่บรรจุสารพิษโบทูลินัม เมื่อถุงนี้เข้าไปอยู่ในปลายประสาทแล้วนั้น โปรตีนสายเบา (Light chain) ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรตีเอสเอนไซม์ (Protease enzyme) ไปทำลายผนังของถุงที่บรรจุสารพิษโบทูลินัมเพื่อเข้าสู่ไซโตพลาสซึมของแอกซอน (Axoplasm) ทำให้โปรตีนสายเบาจะหลุดออกมาและไปทำลาย SNARE protein (Rizo and Sudhof, 1998; Dressler *et al*., 2005) ได้แก่ synaptobrevin, synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP-25) และ syntaxin ส่งผลให้ไม่สามารถปล่อยอะซีทิลโคลีนออกมาจากปลายประสาทได้ เมื่ออะซีทิลโคลีนไม่สามารถหลั่งออกมาจากเซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic neuron) ได้จึงส่งผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย คือ อะซีทิลโคลีน ไม่สามารถไปจับกับตัวรับของอะซีทิลโคลีนชนิดนิโคทินิค (Nicotinic acetylcholine receptor) ที่รอยต่อระหว่างกล้ามเนื้อร่วมประสาท (Neuromuscular junction; NMJ) ได้ ทำให้ไม่เกิดความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นเฉพาะที่ (End plate potential; APP) จึงไม่มีสัญญาณที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อหดตัว ผู้ป่วยจึงมีการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ และเนื่องจากอะซีทิลโคลีนมีบทบาทต่อการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติก (Parasympathetic nervous system) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการของการยับยั้งประสาทโคลิเนอร์จิก ร่วมด้วย เช่น การหลั่งเมือกหรือน้ำย่อยในทางเดินอาหารลดลง การเคลื่อนไหวของกระเพาะและลำไส้น้อยลง เป็นต้น แต่ตำแหน่งในการทำลาย SNARE protein จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารพิษโบทูลินัมที่ได้รับ โดยที่ชนิด A และ E จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ SNAP-25 (Elad *et al*., 2004; Blasi *et al*., 1993) ชนิด B D F และ G จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ synaptobrevin (Hanson and Stevens, 2000) ส่วนชนิด C จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ syntaxin และ SNAP-25 (Schiavo *et al*., 1995) (รูปที่ 3 และตารางที่ 1)



รูปที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของสารพิษโบทูลินัม โครงสร้างของสารพิษโบทูลินัม ประกอบไปด้วยโปรตีนสายหนัก (Heavy chain) และโปรตีนสายเบา (Light chain) สารพิษนี้จะเข้าไปในเซลล์โดยโปรตีนสายหนักจะเข้าไปยึดกับผิวของปลายประสาท (Axon terminal) โดยจับกับโปรตีนตัวรับบริเวณผิวของปลายประสาทนั้น (Surface protein receptor) และเข้าสู่ปลายประสาทด้วยกระบวนการนำสารเข้าสู่เซลล์แบบใช้ตัวรับ (Receptor mediated endocytosis) กลายเป็นถุงที่บรรจุสารพิษโบทูลินัม เมื่อถุงนี้เข้าไปอยู่ในปลายประสาทแล้วนั้น โปรตีนสายเบา (Light chain) ที่มีคุณสมบัติเป็น เป็นโปรตีเอสเอนไซม์ (Protease enzyme) ไปทำลายผนังของถุงที่บรรจุสารพิษโบทูลินัมเพื่อเข้าสู่ไซโตพลาสซึมของแอกซอน (Axoplasm) ทำให้โปรตีนสายเบาจะหลุดออกมาและไปทำลาย SNARE protein โดยที่ชนิด A และ E จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ SNAP-25, ชนิด B D F และ G จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ synaptobrevin ส่วนชนิด C จะทำลาย SNARE protein ในส่วนของ syntaxin และ SNAP-25

อาการที่สำคัญ

ผู้ป่วยที่บริโภคอาหารที่มีสารพิษโบทูลินัมปนเปื้อนจะแสดงอาการภายใน 12-36 ชั่วโมงหลังบริโภค (Vugia *et al*., 2009) โดยจะเริ่มมีอาการของทางเดินอาหารนำมาก่อน ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง หรือท้องเสีย (Nigam, 2010) หลังจากนั้นจะเริ่มมีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง โดยอาการอ่อนแรงจะเริ่มจากความผิดปกติของเส้นประสาทสมองเส้นที่ 3, 4 และ 6 (Oculomotor cranial nerve; CN III, Trochlear nerve; CN IV, Abducens nerve; CN VI) ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการเคลื่อนไหวของตา การหรี่ม่านตา และช่วยในการลืมตา ทำให้มองเห็นภาพซ้อนและตาพร่ามัว และผู้ป่วยยังมีอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อใบหน้าตามมาด้วย ความผิดปกติของ bulbar nerve ส่งผลให้กลืนลำบาก พูดไม่ชัด การอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลายนั้นมักเริ่มจากศีรษะ แขน กล้ามเนื้อที่ช่วยในการหายใจลงไปจนถึงขา (Descending paralysis) ในรายที่อาการรุนแรงจะพบว่ามีการหายใจติดขัด เกิดภาวะหายใจล้มเหลวและเสียชีวิตในที่สุด (Hughes *et al*., 1981)

การวินิจฉัยโดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

วิธีการตรวจหาพิษโบทูลินัมจากเลือด อุจจาระ หรือเศษอาหารในกระเพาะอาหาร รวมไปถึงอาหารที่ต้องสงสัยว่าจะเป็นพิษทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานที่ช่วยยืนยันการวินิจฉัย ได้แก่

1. Mouse bioassay (Hatheway *et al*., 1988) เป็นวิธีการตรวจมาตรฐานที่สามารถยืนยันชนิดของสารพิษโบทูลินัมที่ผู้ป่วยได้รับ โดยนำตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนสารพิษโบทูลินัมฉีดเข้าไปในหนูทดลองซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมและกลุ่มที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมร่วมกับโบทูลินัม แอนตี้ท็อกซินที่จำเพาะต่อชนิดนั้นๆ (Monovalent antitoxin) เปรียบเทียบอัตราการเกิดพิษของหนูทั้งสองกลุ่ม วิธีนี้มีความแม่นยำมากแต่ค่าใช้จ่ายสูง และต้องทำในสัตว์ทดลอง ซึ่งวิธีนี้สามารถรายงานผลเบื้องต้นได้ภายใน 48-96 ชั่วโมง แต่การรายงานผลว่าเป็นสารพิษโบทูลินัมชนิดใดนั้นต้องใช้เวลา 7-10 วัน

2. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) (Szilagyi *et al*., 2000) เป็นการตรวจหาสารพิษโบทูลินัมวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก รวดเร็วและมีความผิดพลาดต่ำ โดยวิธีนี้จะพยายามหาแอนติเจน (Antigen) ในสารตัวอย่าง เช่น เลือด อุจจาระ หรือเศษอาหารในกระเพาะอาหาร รวมไปถึงอาหารที่ต้องสงสัยว่าจะเป็นพิษที่นำมาวินิจฉัยโรค ซึ่งเป็นวิธีที่รายงานผลได้ภายใน 48 ชั่วโมง

3. Polymerase chain reaction (PCR) assays (Chao *et al*., 2004) เป็นเทคนิคสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) โดยอาศัยหลักการของการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) จากสารตัวอย่าง ในทางการแพทย์นำวิธีนี้มาใช้เพื่อตรวจวินิจฉัยหาเชื้อที่ก่อโรคเนื่องจากมีความไวสูง สะดวกและรวดเร็ว รายงานผลได้ใน 5-7 วัน

4. Culture for *Clostidium botulinum* (Sharma *et al*., 2006) เป็นการนำตัวอย่างจากอุจจาระ หรือ เศษอาหารในกระเพาะอาหาร มาเพาะเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจนบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบพิเศษ และนำไปศึกษาทางชีวเคมีเพื่อแยกชนิดของเชื้อต่อไปว่าเป็นเชื้อชนิดใด สามารถรายงานผลภายใน 7 วัน

การวินิจฉัยแยกโรค

การวินิจฉัยแยกโรคโบทูลิซึมกับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงอื่นๆต้องอาศัยข้อมูลประวัติของผู้ป่วยและอาการคลินิกประกอบกัน โดยอาการหลักที่พบคือ 5 D ได้แก่ dry mouth (ปากแห้ง) dysphagia (กลืนลำบาก) dysarthria (พูดลำบาก พูดไม่ชัด) diplopia (มองเห็นภาพซ้อน) และ descending paralysis (อ่อนแรงโดยเริ่มจากข้างบนลงไปสู่ข้างล่าง) อาการของผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมในช่วงแรกจะคล้ายคลึงกับผู้ป่วยอาหารเป็นพิษทั่วไป แต่อาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นหลังจากนั้นจะมีความแตกต่างจากผู้ป่วยที่มีอาการอ่อนแรงจากโรคอื่นๆ เช่น ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษเตโตรโด (Tetrodotoxin) ซึ่งเป็นพิษที่ได้รับมาจากการรับประทานอาหารเหมือนกันและมีลักษณะคล้ายกับสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) โดยความแตกต่างของทั้ง 2 โรคทั้งสาเหตุการเกิดโรค กลไกการออกฤทธิ์ อาการและอาการแสดงและการทนต่อความร้อนของพิษทั้ง 2 สรุปไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบสาเหตุการเกิดโรค กลไกการออกฤทธิ์ อาการและอาการแสดง ระยะเวลาที่แสดงอาการ และการทนต่อความร้อนระหว่างสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) กับสารพิษเตโตรโด (Tetrodotoxin)

การวินิจฉัยโรค	สารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin)	สารพิษเตโตรโด (Tetrodotoxin)
สาเหตุ	ได้รับสารพิษที่สร้างจาก *Clostidium botulinum*	ได้รับสารพิษที่สร้างจากแบคทีเรียในปลาปักเป้าหรือสัตว์ทะเลบางชนิด
กลไกการออกฤทธิ์	ไปทำลาย SNARE complex ทำให้ยับยั้งการหลั่งของอะซีทิลโคลีน ส่งผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อลายและระบบประสาทพาราซิมพาเธติก	หมู่ Guanidinium ของโครงสร้างสารพิษเตโตรโดมีคุณสมบัติคล้าย hydrated sodium cation และมีความจำเพาะต่อ sodium channel แต่มีขนาดใหญ่กว่าทำให้เกิดการปิดกั้นของ sodium channel จึงขัดขวางการเกิด depolarization
อาการและอาการแสดง	กล้ามเนื้ออ่อนแรงเป็นแบบ descending paralysis และมีอาการของการยับยั้งการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติก เช่น การหลั่งเมือกในทางเดินอาหารลดลง การบีบตัวของกระเพาะและลำไส้ลดลง เป็นต้น	กล้ามเนื้ออ่อนแรงเป็นแบบ ascending paralysis ร่วมกับปัญหาด้านการรับความรู้สึก เช่น ชาบริเวณปาก ปลายมือและปลายเท้า เป็นต้น
ระยะเวลาแสดงอาการ	แสดงอาการภายใน 6-24 ชั่วโมง	แสดงอาการภายใน 30 นาที- 24 ชั่วโมง
ความทนต่อความร้อน	ไม่ทนความร้อน	ทนความร้อนได้ดี

การรักษา

จากการรายงานในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่ได้รับพิษโบทูลินัมจากอาหารในศตวรรษที่ 20 สูงถึง 60-70% ของผู้ป่วยทั้งหมดแม้จะได้รับโบทูลินัม แอนตี้ท็อกซิน (Sobel, 2005) ก็ตาม เนื่องจากในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจะพบว่ามีการหายใจติดขัด เกิดภาวะหายใจล้มเหลว ดังนั้นการรักษาแบบประคับประคองอาการจึงจำเป็นมาก เมื่อผู้ป่วยมาถึงโรงพยาบาลแพทย์ทำการประเมินการหายใจหรือวัดค่าความอิ่มตัวของออกซิเจนในเลือด (Oxygen saturation) ก่อนเพื่อพิจารณาใส่เครื่องช่วยหายใจให้กับผู้ป่วย และถ้าผู้ป่วยมีอาการกลืนลำบาก พูดไม่ชัด ซึ่งมักจะทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสสำลักได้ง่าย ควรพิจารณาใส่ท่อหลอดลมคอ (Endotracheal tube) ทั้งนี้ในผู้ใหญ่ยังสามารถให้ถ่านกัมมันต์ (Activated charcoal) 50 กรัมต่อครั้ง ทุก 4 ชั่วโมง จนกว่าอาการของผู้ป่วยจะดีขึ้น เพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษร่วมด้วย

โบทูลินัม แอนตี้ท็อกซิน (Botulinum Antitoxin) เป็นยาที่จำเพาะต่อสารพิษโบทูลินัม ได้มาจากเซรั่ม (Serum) ของม้าที่ได้รับสารพิษโบทูลินัมชนิดต่างๆ ซึ่งจะมีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) ประมาณ 5-7 วัน แล้วจะถูกขับออกทางไต โบทูลินัม แอนตี้ท็อกซิน มีหลายชนิด คือ Bivalent (Anti A, B), Trivalent (Anti A, B, E), Quadrivalent (Anti A, B, E, F) และ Pentavalent (Anti A, B, E, F, G) (Zhang *et al*., 2010)

การให้โบทูลินัม แอนตี้ท็อกซิน กับผู้ป่วยควรให้อย่างรวดเร็วต้องน้อยกว่า 24 ชั่วโมงหลังแสดงอาการ (Chang and Ganguly, 2003) โดยไม่ต้องรอผลจากห้องปฏิบัติการ เนื่องจากผลการยืนยันจากห้องปฏิบัติการนั้นใช้เวลานาน ซึ่งโบทูลินัม แอนตี้ท็อกซิน จะช่วยผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษโบทูลินัม โดยช่วยป้องกันไม่ให้สารพิษโบทูลินัมที่อยู่ในกระแสเลือดเข้าไปที่ปลายประสาท (Axon terminal) ทำให้สามารถหยุดความก้าวหน้าของการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อได้ (Progression of paralysis)

การใช้โบทูลินัมทางคลินิก

ปัจจุบันมีการนำสารพิษโบทูลินัมมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น โดยมีการศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างกว้างขวางเพื่อนำมาใช้เป็นยาในการรักษาอาการต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ผลในการลดปวด การฉีดสารพิษโบทูลินัม (Botulinum toxin) ชนิด A ช่วยลดอาการปวดกล้ามเนื้อแบบเรื้อรัง โดยเชื่อว่าสารพิษโบทูลินัมจะลดอาการปวดโดยช่วยลดการส่งสัญญาณประสาททำให้กล้ามเนื้อคลายตัว ลดการทำงาน

ของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Muscle spindle) ทำให้สามารถบรรเทาอาการปวดบริเวณจุดกดเจ็บ (Trigger point) และการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่เกิดจากโรค myofascial pain ได้ (Casale and Tugnoli, 2008)

2. รักษาโรคอะคาเลเซีย (Achalasia) เกิดจากการที่หูรูดของหลอดอาหารส่วนล่าง (Lower esophageal sphincter) หดเกร็ง การฉีดสารพิษโบทูลินัม ชนิด A บริเวณนี้จะช่วยลดการหดเกร็งของหูรูดหลอดอาหารส่วนล่าง ทำให้ผู้ป่วยสามารถกลืนอาหาร และบีบไล่อาหารจากหลอดอาหารลงสู่กระเพาะอาหารได้ดีขึ้น (Storr *et al*., 2002)

3. รักษาอาการตาเหล่ (Strabismus) โดยฉีดสารพิษโบทูลินัมชนิด A ที่กล้ามเนื้อตาทำให้กล้ามเนื้อมัดนั้นอ่อนแรง มีฤทธิ์อยู่ได้นาน 2-3 เดือน (Lang, 2004)

4. รักษาอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อใบหน้าครึ่งซีก (Hemifacial spasm) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการกดเบียดของเส้นประสาทสมองคู่ที่ 7 (Facial nerve) การฉีดสารพิษโบทูลินัม ชนิด A เป็นทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัยในการรักษาอาการกล้ามเนื้อหน้ากระตุก (Defazio *et al*., 2002)

5. รักษาอาการจากการทำงานของระบบประสาทอัตโนวัติผิดปกติ เช่น การฉีดสารพิษโบทูลินัมชนิด A สามารถลดอาการเหงื่อออกมาก และการหลั่งน้ำลายมากกว่าปกติได้ (Bushara and Park,1994)

6. ลดริ้วรอยเพื่อความงาม การฉีดสารพิษโบทูลินัมชนิด A สามารถลดริ้วรอยบนใบหน้าได้ (Cheng, 2007)

สรุป

โบทูลิซึม เกิดจากการได้รับสารพิษโบทูลินัม ที่สร้างจากเชื้อ *Clostidium botulinum* ซึ่งสารพิษโบทูลินัมจะเข้าไปที่ปลายประสาทและทำลาย SNARE complex ทำให้อะซีทิลโคลีนไม่สามารถหลั่งออกมาได้ ส่งผลให้เกิดการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลาย การรักษาผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษชนิดนี้จะเป็นแบบประคับประคองอาการร่วมกับการให้โบทูลินัม แอนตี้ท็อกซินเพื่อหยุดความก้าวหน้าของการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ ความเร็วในการวินิจฉัยและการรักษาที่จำเพาะต่อโรคจะทำให้อัตรารอดชีวิตของผู้ป่วยนั้นสูงขึ้น นอกจากนี้การป้องกันโรคโบทูลิซึมก็ถือเป็นเรื่องที่สำคัญ โดยการรักษาสุขอนามัย ป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษโบทูลินัมในกระบวนการถนอมอาหาร รวมถึงการทำความสะอาดพืชผักที่จะนำมาถนอมอาหารให้ดี ใช้ความร้อนที่เพียงพอในการถนอมอาหาร และใช้ความร้อนในการปรุงอาหารก่อนนำมารับประทานเสมอ

นอกจากโทษของสารพิษโบทูลินัมแล้วในปัจจุบันมีการนำสารพิษนี้มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เพิ่มมากขึ้น โดยมีการศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างกว้างขวางเพื่อนำมาใช้เป็นยาในการรักษาอาการต่างๆ เช่น อาการปวดเกร็งของกล้ามเนื้อ ความผิดปกติของหูรูด และการลดริ้วรอยเพื่อความงาม เป็นต้น

References

Abe Y, Negasawa T, Monma C, Oka A. Infantile botulism caused by *Clostridium butyricum* type E toxin. *Pediatr Neurol*. 2008; 38(1): 55-7.

Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, et al. Botulinum toxin as a biological weapon: medical and public health management. *Jama*. 2001; 285(8): 1059-70.

Barash JR, Tang TWH, Arnon SS. First case of infant botulism caused by *Clostridium baratii* type F in California. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(8): 4280-2.

Blasi J, Chapman ER, Link E, et al. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature*. 1993; 365(6442): 160-3.

Bushara KO and Park DM. Botulinum toxin and sweating. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994 Nov; 57(11): 1437-8.

Casale R. and Tugnoli V. Botulinum toxin for pain. *Drug R D*. 2008; 9(1): 11-27.

Caya JG, Agni R, Miller JE. Clostridium botulinum and the clinical laboratorian: a detailed review of botulism, including biological warfare ramifications of botulinum toxin. *Arch Pathol Lab Med*. 2004; 128(6): 653-62.

Chang GY, Ganguly G. Early antitoxin treatment in wound botulism results in better outcome. *Eur Neurol.* 2003; 49(3): 151-3.

Chao HY, Wang YC, Tang SS, Liu HW. A highly sensitive immuno-polymerase chain reaction assay for *Clostridium botulinum* neurotoxin type A. *Toxicon*: official journal of the International Society on Toxinology. 2004; 43(1): 27-34.

Chen S, Wan HY. Molecular mechanisms of substrate recognition and specificity of botulinum neurotoxin serotype F. *Biochem J.* 2011; 433(2): 277-84.

Christine M Cheng. Cosmetic use of botulinum toxin type A in the elderly. *Clin Interv Aging*. 2007 Mar; 2(1): 81-3.

Defazio G, Abbruzzese G, Girlanda P, et al. Botulinum toxin A treatment for primary hemifacial spasm: a 10-year multicenter study. *Arch Neurol.* 2002 Mar; 59(3): 418-20.

Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arq Neuro-Psiquiat* 2005; 63(1): 180-5.

Elad D, Yas-Natan E, Aroch I, et al. Natural *Clostridium botulinum* type C toxicosis in a group of cats. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(11): 5406-8.

Hanson MA, Stevens RC. Cocrystal structure of synaptobrevin-II bound to botulinum neurotoxin type B at 2.0 A resolution. *Nature Struct Biol.* 2000; 7(8): 687-92.

Hatheway CL. Botulism. In: Balows A, Hausler WH, Ohashi M, Turnano A,ediotrs. Laboratory diagnosis of infection diseases principles and practice. New York: Springer, 1988: 111-33.

Hatheway CL. Botulism: the present status of the disease. *Curr Top in Microbiol*. 1995; 195: 55-75.

Hughes JM, Blumenthal JR, Merson MH, Lombard GL, Dowell VR, Jr., Gangarosa EJ. Clinical features of types A and B food-borne botulism. *Ann Intern Med*. 1981; 95(4): 442-5.

Kongsaengdao S, Samintarapanya K, Rusmeechan S, et al. An outbreak of botulism in Thailand: clinical manifestations and management of severe respiratory failure. *Clin Infect Dis*: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2006; 43(10): 1247-56.

Lang A. History and uses of BOTOX (botulinum toxin type A). Lippincott's Case Manag. 2004; 9: 109-12.

Macdonald TE, Helma CH, Shou Y, et al. Analysis of *Clostridium botulinum* serotype E strains by using multilocus sequence typing, amplified fragment length polymorphism, variable-number tandem-repeat analysis, and botulinum neurotoxin gene sequencing. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(24): 8625-34.

Nigam PK, Nigam A. Botulinum toxin. *Indian J Dermatol.* 2010; 55(1): 8-14.

Rizo J, Sudhof TC. Mechanics of membrane fusion. *Nature Struct Biol.* 1998; 5(10): 839-42.

Schiavo G, Shone CC, Bennett MK, Scheller RH, Montecucco C. Botulinum neurotoxin type C cleaves a single Lys-Ala bond within the carboxyl-terminal region of syntaxins. *J Biol Chem*. 1995; 270(18): 10566-70.

Sharma SK, Ferreira JL, Eblen BS, Whiting RC. Detection of type A, B, E, and F *Clostridium botulinum* neurotoxins in foods by using an amplified enzyme-linked immunosorbent assay with digoxigenin-labeled antibodies. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(2): 1231-8.

Smith LDS, Sugiyama H. Botulism: the organism, its toxins, the disease, 2nd ed. Thomas, Springfield; 1988.

Sobel J. Botulism. *Clin Infect Dis*: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2005; 41(8): 1167-73.

Sobel J, Dill T, Kirkpatrick CL, Riek L, Luedtke P, Damrow TA. Clinical recovery and circulating botulinum toxin type F in adult patient. *Emerg Infect Dis*. 2009 Jun; 15(6): 969-71.

Sonnabend O, Sonnabend W, Heinzle R, Sigrist T, Dirnhofer R, Krech U. Isolation of *Clostridium botulinum* type G and identification of type G botulinal toxin in humans: report of five sudden unexpected deaths. *J Infect Dis*. 1981; 143(1): 22-7.

Storr M, Born P, Frimberger E, et al. Treatment of achalasia: the short-term response to botulinum toxin injection seems to be independent of any kind of pretreatment. *BMC Gastroenterology*. 2002; 2: 19. doi: 10.1186/1471-230X-2-19.

Swaddiwudhipong W, Wongwatcharapaiboon P. Foodborne botulism outbreaks following consumption of home-canned bamboo shoots in Northern Thailand. Journal of the Medical Association of Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2000; 83(9): 1021-5.

Szilagyi M, Rivera VR, Neal D, Merrill GA, Poli MA. Development of sensitive colorimetric capture elisas for Clostridium botulinum neurotoxin serotypes A and B. *Toxicon*: official journal of the International Society on Toxinology. 2000; 38(3): 381-9.

Turton K, Chaddock JA, Acharya KR. Botulinum and tetanus neurotoxins: structure, function and therapeutic utility. *Trend Biochem Sci*. 2002; 27(11): 552-8.

Vugia DJ, Mase SR, Cole B, et al. Botulism from drinking pruno. *Emerg Infect Dis*. 2009; 15(1): 69-71.

Wangroongsarb P, Kohda T, Jittaprasartsin C, Suthivarakom K, Kamthalang T, Umeda K, et al. Molecular characterization of Clostridium botulinum isolates from foodborne outbreaks in Thailand, 2010. *PLoS One*. 2014; 9(1): e77792.

Zhang JC, Sun L, Nie QH. Botulism, where are we now? *Clin Toxicol*. 2010; 48(9): 867-79.