

## BOTULIZMAS: LITERATŪROS APŽVALGA

### BOTULISM: REVIEW OF LITERATURE

Daiva Radzišauskienė, Kęstutis Žagminas, Arvydas Ambrozaitis

Vilniaus universiteto Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinika

Department of Infectious Diseases, Dermatovenerology and Microbiology, Vilnius University

#### SANTRAUKA

*Reikšminiai žodžiai:* botulizmo toksinas, acetilcholinai, paralyžius, priešbotulininis serumas, botulininis imunoglobulinas. Botulizmas yra pavojinga liga, pasireiškianti sporadiniais atvejais, kartais protrūkiškai. Ligą sukelia botulizmo toksinas, sudarytas iš lengvosios ir sunkiosios grandinių. Ligai būdingas vangus ilgalaikis raumenų paralyžius, greitai progresuojantis kvėpavimo nepakankamumas, parasimpatinės nervų sistemos pažeidimas. Dėl panašios klinikinės simptomatikos į kitas nervų ir raumenų ligas liga dažnai laiku nediagnozuojama. Ankstyva šios ligos diagnostika labai svarbi, nes kuo anksčiau skiriama priešbotulininio serumo, tuo geresnė ligos prognozė. Negydant liga greitai progresuoja iki kvėpavimo nepakankamumo, dirbtinė plaučių ventilacija užtrunka ilgai, dažnos jos komplikacijos. Sveikimo periodas ilgas, pacientai nedarbingi gali būti iki metų. XX amžiaus pabaigoje dėl narkomanijos tampa aktualus žaizdų botulizmas. XXI amžiaus pradžioje išskyla bioterrorizmo grėsmė. Botulizmo toksinas kaip biologinis ginklas priskiriamas A kategorijai. Įdomu tai, kad šis stipriausias natūralus nuodas šiandien daugelyje medicinos sričių sėkmingai naudojamas įvairioms ligoms gydyti. Mokslininkai tyrinėja naujus botulizmo diagnostikos, gydymo metodus, kuria naujas vakcinas. Atsiranda vis daugiau sričių, kur toksinas vartojamas kaip gydymo priemonė. Šiame straipsnyje apžvelgiama botulizmo epidemiologija, patogenezė, simptomatika, diagnostika, gydymas, ateities perspektyvos (nauji mokslininkų atradimai kuriant vakcinas, medikamentus, vartojant toksiną gydymui).

#### ABSTRACT

*Key words:* botulinum toxin, acetylcholine, paralysis, botulinum antitoxin, botulinum immunoglobulin. Botulism is old an emerging disease manifested as sporadic cases rare as outbreaks. Disease is caused by toxin, which is composed of a heavy chain and a light chain. Clinical presentation includes long lasting descending paralysis, progressing to respiratory failure, autonomic dysfunction. Respiratory failure require prologed ventilation and nursing care, and may have some complications. Recovery from C. Botulinum poisoning is prolonged, sometimes lasts for one year. A prompt diagnosis of botulism are absolutely crucial for its successful treatment. Early administration of antitoxin has shown lower mortality and shorten the clinical course. As the clinical presentation is sometimes indistinguishable from other neurological disorders, botulism is often misdiagnosed. Since 1991 the numbers of cases of wound botulism among drug users have increased dramatically. In the early XXI century the specter of bioterrorism has placed botulism to the top of the consciousness of science and society. Botulism is disease in the CDC's category A. The very lethal botulinum toxin is now used as a treatment for a variety disorders. New diagnostics methods, therapeutics, vaccines are under development. The list of conditions treated with botulinum toxin expands at a brisk rate. In this article, epidemiology of botulism, the actions of botulinum toxin, clinical presentation, diagnostic methods, treatment and possible future directions are discussed.

#### ĮVADAS

Botulizmas yra pavojinga liga, kuriai būdingas raumenų paralyžius, o esant sunkiam paralyžiui, galimas kvėpavimo nepakankamumas ir mirtis iki tol buvusių sveikų žmonių [1]. Dėl panašios klinikinės simptomatikos į kitas nervų ir raumenų ligas liga dažnai laiku nediagnozuojama [2]. Ankstyva šios ligos diagnostika labai svarbi, nes kuo anksčiau skiriama priešbotulininio serumo, tuo geresnė ligos prognozė. Negydant liga greitai progresuoja iki kvėpavimo nepakankamumo, dirbtinė plaučių ventilacija užtrun-

ka ilgai, dažnos jos komplikacijos. Sveikimo periodas ilgas, pacientai nedarbingi gali būti iki metų. Liga gali pasireikšti protrūkiškai.

Botulizmas yra žinomas nuo 1820 metų, kai vokiečių gydytojas ir poetas J. Kerneris aprašė 76 ligonius, kuriems pavalgis rūkytų dešrų išsivystė simetriškas nusileidžiantis paralyžius. Daktaras pats išbandė toksino poveikį, užsilaušindamas kelis lašus ant liežuvio [3]. 1897 metais belgų gydytojas Emile van Ermengenas aprašė botulizmo epidemiją Belgijoje ir išskyrė *Clostridium botulinum* [4]. Šiandien ži-

Daiva Radzišauskienė  
VU Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinika  
Birutės g. 1, Vilnius  
infek@einet.lt

noma, kad botulizmo toksinas – stipriausias natūralus nuodas. 1 gramu botulizmo toksino galima nužudyti 1 milijoną žmonių. 0,05–0,1 mikrogramo yra mirtina dozė žmogui [4, 5]. 1980 metais šis stipriausias natūralus nuodas pradėtas vartoti vaikų paralytiniams žvairumui gydyti. Šiandien botulizmo toksinas sėkmingai vartojamas daugelyje medicinos sričių. Išplitus narkomanijai, nuo 1991 metų vis daugėja žaizdų botulizmo atvejų. XXI amžiaus pradžioje pasaulyje atsirado bioterorizmo grėsmė. Dėl išplitimo ir perdavimo paprastumo, didelio mirštamumo botulizmas kaip biologinis ginklas priskiriamas A kategorijai. Mokslininkai tyrinėja naujus botulizmo diagnostikos, gydymo metodus, kuria naujas vakcinas.

## ETIOLOGIJA IR EPIDEMIOLOGIJA

Ligą sukelia *Clostridium botulinum* gaminamas toksinas. Botulizmo toksiną išskiria ir kitos klostridijų rūšys: *Clostridium argentinense*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium baratti*. *Cl. botulinum* – tai anaerobinė, sporas sudaranti gram teigiama lazdelė. Bakterijos ir jų sporos randamos dirvožemyje, vandens nuosėdose ir žuvyse [4]. Sporos yra termostabilios, žūva esant 120 °C temperatūrai, o toksinas inaktyvuojamas esant 85 °C temperatūrai. Geros sąlygos toksinui gamintis yra mažai deguonies, žemas rūgštingumas (pH>5) ir daug vandens [6]. Maiste, kuriame yra daug acto ir pomidorų tyrės, retai kada aptinkamas botulizmo toksinas [7]. Anerobinėmis sąlygomis ir esant 18–20 °C temperatūrai, bakterijos gamina toksiną. Yra žinomi 8 imunologiškai skirtingi botulizmo toksinų tipai (A – G) – C1 ir C2 [4, 8, 9]. Visų tipų toksinų farmakologinis aktyvumas yra vienodas. Žmonėms ligą sukelia A, B ir E tipai, retai F tipas [1, 4]. C, D, E tipai sukelia ligas žinduoliams, paukščiams ir žuvims [10]. Narkomanams žaizdų botulizmą 80 proc. atvejų sukelia A tipas, 20 proc. – B [8]. Autorių duomenimis, A tipo botulizmui būdingos sunkesnės ligos formos, sunkus kvėpavimo raumenų pažeidimas [1, 3, 4, 11]. E tipo toksinas sukelia lengvesnes ligos formas, mažiau pažeidžiami kvėpavimo raumenys, o inkubacijos periodas yra trumpesnis [12]. Botulizmu dažniausiai užsikrečiama valgant namų gamybos konservuotą maistą: grybus, įvairias daržoves, padažus, žuvį, mėsos gaminius. Taip pat užsikrečiama valgant rūkytus ar vytintus mėsos gaminius, įvairius žuvies produktus, jūros gėrybes [2, 4, 13–16]. Kai kurių autorių duomenimis, epidemologiškai svarbu folijoje keptos bulvės. Kepant suvyniojus į foliją, temperatūra nepasiekia 100 °C, sporos nežūva, o laikant tokias bulves kambario temperatūroje, gali pradėti gamintis toksinas [17]. Liga pasireiškia sporadiniais atvejais ir protrūkiiais. Dažniausiai protrūkių kyla pavartojus namų gamybos maisto [1, 2, 14]. 2 proc. protrūkių kyla restoranuose [4, 13, 15].

Sergamumas botulizmu nėra didelis. JAV užregistruoja-

ma 100 ligos atvejų per metus. Didžiausias sergamumas yra Aliaskoje [18, 19]. Pasaulyje daugiausia botulizmo atvejų užregistruojama Gruzijoje (0,9 atvejo 100 tūkstančių gyventojų) [20, 21]. Europos ligų profilaktikos ir kontrolės centro duomenimis [22], sergamumas botulizmu Europos Sąjungos šalyse 1995–2004 metais buvo stabilus ir sudarė apie 0,04–0,065 atvejo 100 000 gyventojų. 2005 metais 22 Europos Sąjungos šalyse iš viso buvo užregistruoti 152 atvejai. Lietuvoje buvo užregistruotas didžiausias sergamumas (0,15 atvejo 100 000 gyventojų), kai vidutinis sergamumo rodiklis Europos Sąjungos šalyse sudarė 0,03 atvejo 100 000 gyventojų.

Mirštamumas nuo botulizmo yra 5–15 proc., didesnis pastebimas asmenų, vyresnių nei 60 metų, grupėje [1, 4, 18]. Anglijos mokslininkai įrodė, pagerėjus intensyvios terapijos skyrių aprūpinimui ir darbui, mirštamumas nuo botulizmo sumažėjo nuo 50 proc. iki 10 proc. [8].

PSO duomenimis, per pastaruosius 5 metus didžiausias botulizmo protrūkis kilo Tailande [16]. 2006 metais, pavalgius namuose konservuotų bambukų daigų, botulizmu susirgo 209 kaimo gyventojai. 134 (64 proc.) jų hospitalizuoti, 42 (20 proc.) taikyta dirbtinė plaučių ventilacija.

Pagal užsikrėtimo būdą aprašytos 6 botulizmo formos:

1. Maisto toksinė infekcija. Toksinas patenka su maistu. Tai yra dažniausia forma.
2. Inhaliacinė forma. Toksinas inhaliuojamas aerozolių pavidalu. Ši forma yra pasitaikiusi laboratorijų darbuotojams [4]. Šis užsikrėtimo mechanizmas būtų bioterorizmo metu [23].
3. Netyčinis botulizmas. Susergama gydant botulizmo toksinu.
4. Kūdikių botulizmas – į kūdikių žarnyną patenka botulizmo sporų, *Cl. botulinum* pradeda daugintis ir išskirti botulizmo toksiną. Kūdikio žarnyne nėra apsauginės bakterinės floros, nepakankamai tulžies rūgščių, kurios slopina bakterijų dauginimąsi. Dažnai užsikrečiama valgant medų [24].
5. Paslėptas botulizmas. Tai suaugusiųjų botulizmo atvejai, analogiški kūdikių botulizmui. Būna, esant normalios žarnyno floros pažeidimams, dėl chirurginių intervencijų ar antibiotikų vartojimo, taip pat sergant Krono liga ar antacidiniu gastritu [4].
6. Žaizdų botulizmas. Žaizdų botulizmas pirmą kartą aprašytas 1982 metais Niujorke. Į žaizdą patekus botulizmo sporoms ir susidarius aerobinėms sąlygomis, pradeda gamintis botulizmo toksinas. Serga narkomanai, vartojantys heroiną po oda, taip pat vartojantys intranazalinį kokainą ir susirgus sinusitu. *Cl. botulinum* buvo išskirta iš sinusų aspirato. Pasaulyje daugiausia, 90 proc., žaizdų botulizmo atvejų užregistruojama JAV. Nuo 1991 m. žaizdų botulizmo atvejų vis daugėja [5, 8, 19].

## PATOGENEZĖ

Iš virškinamojo trakto, kvėpavimo takų gleivinių ar odos žaizdų toksinas patenka į kraują, po to į periferinių cholinerginių nervų galūnes [1–4, 8, 11, 19, 25]. Pažeidžiamos mioneuralinės jungtys. Toksinas yra sudarytas iš lengvosios ir sunkiosios grandinės [25] (1 pav.). Sunkioji grandinė prisijungia prie presinapsinių nervų receptorių ir endocitozės būdu toksinas patenka į ląstelę. Disulfidinė jungtis, jungianti abi grandines, suskyla, grandinės išsiskiria. Lengvoji grandinė (endopeptitazė) suardo proteinus (nuo cinko priklausoma proteolizė), kurie reikalingi acetilcholino egzocitozei [26]. Dėl to sutrinka acetilcholino išsiskyrimas, nutrūksta impulso perdavimas iš nervo į raumenis ir raumenys paralyžiuojami. Dėl proteolizės impulso perdavimas nevyksta nuo kelių dienų (E tipo toksinas) iki daugelio mėnesių (B tipo toksinas) [27]. Botulizmo toksinai jungiasi su skirtingais proteinais: C tipo lengvoji grandinė su sintaksinu, B, D, F tipų lengvosios grandinės skaido baltymą VAMP, A, E toksinų taikinyms – baltymas SNAP [1, 28] (2 pav.).

Botulizmo toksinas taip pat blokuoja acetilcholino išsiskyrimą parasimpatinės nervų sistemos periferiniuose mazguose [1, 4, 11, 19, 29]. Toksinas pasižymi dideliu specifiskumu cholinerginių nervų galūnėms ir ypatingu stiprumu [25–30]. Uždegiminių morfologinių pakitimų toksinas nesukelia [26, 27]. Botulizmo toksinas nepereina hematoencefalinio barjero, todėl CNS pažeidimo simptomų sergantiesiems botulizmu nebūna [30]. Toksino molekulinė masė yra didelė, todėl toksinas nepereina ir placentos barjero [31]. Persirgus botulizmu imunitetas nesusidaro, nes kraujyje toksinas cirkuliuoja trumpai ir nesukelia antikūnų gamybos [26, 27, 29].

## KLINIKINIS PASIREIŠKIMAS

### MAISTO TOKSINĖ INFEKCIJA

Botulizmo inkubacinis periodas – 12–36 valandos (4 valandos–10 dienų) [1, 2, 4, 8, 27, 32]. Pradiniai simptomai yra gastrointestiniai, primenantys maisto toksikoinfekciją: pykinimas, žarnyno spazmai, viduriavimas, kartais karščiavimas [23, 27, 28]. Ankstyvi neurologiniai simptomai yra: sutrikęs regėjimas, dvejinimasis, ptozė, oftalmoplegija, dizartrijs, disfagija [3, 4, 8, 31]. Autonominės nervų sistemos pažeidimui būdinga midriazė, akomodacijos paralyžius, kseroftalmija, kserostomija, ortostatiniai kolapsai, tachikardija, įvairios tachiaritmijos, obstipacijos, paralyžinis žarnų nepraeinamumas, dizurija, impotencija [4, 11, 28, 29]. Sunkiai botulizmo formai būdinga greitai progresuojantis nusileidžiantis paralyžius, kvėpavimo funkcijos nepakankamumas. Kvėpavimo nepakankamumas išsivysto 20–35 proc. sergančiųjų. Vidutinė mechaninės plaučių ventilacijos trukmė – 7 savaitės [1], kartais gali užtrukti 3 mėnesius [8,

33, 34]. Klasikinė eiga: akių raumenų, bulbarinių raumenų, veido raumenų, galūnių raumenų, kvėpavimo raumenų paralyžius [1, 2, 4]. Paralyžius dažniausiai būna simetrinis, tačiau gali būti ir asimetrinis [3, 4]. Botulizmui nebūdingas karščiavimas, sąmonės ir jutimo sutrikimai [3, 4, 11, 28–31]. Karščiavimas galimas ligos pradžioje, kai liga pasireiškia maisto toksinės infekcijos simptomais, taip pat išsivysčius botulizmo komplikacijoms. Daugelio autorių duomenimis, oftalmoplegija yra vienas dažniausių ir anksčiausiai atsirandančių simptomų, kurių dažnis – 80–90 proc. [1–4, 8, 20, 21, 30].

Kartais B tipo botulizmas gali pasireikšti tik autonominės nervų sistemos disfunkcija be raumenų paralyžiaus [33]. Tokį botulizmo atvejį aprašė vokiečių autoriai B. Merzas, H. Bigalke ir kt. 33 metų sveikam inžinieriui, praėjus 6 valandoms po pavalgymo namų gamybos rūkyto kumpio. Atsirado pilvo skausmas, pykinimas, vėmimas. Po kelių dienų prasidėjo obstipacija, sausumas burnoje, regėjimo sutrikimas dėl akomodacijos paralyžiaus, dizurija. Pacientas į gydytojus kreipėsi 22 ligos dieną dėl impotencijos ir varginančio delnų ir padų sausumo. Paciento būklė buvo nesunki, jis sugebėjo dirbti. Apžiūrint buvo konstatuota midriazė, sutrikusi vyzdžių reakcija į šviesą, sausumo sindromas, delnų ir padų anhidrozė, nebuvo oftalmoplegijos, bulbarinių simptomų, raumenų silpnumo. Paciento serume botulizmo toksinas nebuvo aptiktas, tačiau B tipo toksinas buvo nustatytas valgytame kumpyje. Daugelis simptomų išnyko praėjus 10 savaičių nuo ligos pradžios, potencija grįžo praėjus 14 savaičių.

Sunkesnę autonominės nervų sistemos pažeidimą sukelia B tipo botulizmas [4, 33]. Manoma, kad toksinas B pasižymi didesniu afinitetu cholinerginių autonominių nervų terminalėms nei motorinių [28, 33]. Dažniausi autonominės nervų sistemos disfunkcijos simptomai yra akomodacijos paralyžius, burnos gleivinių sausumas ir obstipacija [4, 33]. Seksualiniai sutrikimai konstatuojami retai [33].

Sunkus E tipo botulizmo atvejis aprašytas australų autorių I. J. Mackle, E. Halcombo, M. J. A. Parro [11]. 62 metų pacientas dėl kolapso ir kvėpavimo nepakankamumo hospitalizuotas į intensyviosios terapijos skyrių. Pirmą hospitalizacijos dieną konstatuota dizartrijs, kairės pusės veido raumenų paralyžius, hiporefleksija, raumenų hipotonija. Oftalmoplegijos ir autonominės nervų sistemos pažeidimo nebuvo. Pacientas sirgo arterine hipertenzija, piknaudžiavo alkoholiu, sirgęs tranzitorinėmis išeminėmis atakomis. Buvo diagnozuotas smegenų kamieno insultas, skubiai pradėta dirbtinė plaučių ventilacija. Po kelių dienų išsivystė akomodacijos paralyžius ir oftalmoplegija, išnyko minkštojo gomurio ir kosulio refleksai. Kraujo serume atlikus biologinių mėginių buvo nustatytas botulizmo toksinas E. 12 hospitalizacijos dieną atlikta tracheostomija ir jejunostomija dėl maitinimo. Išsivystė komplikacija – pneumonija. Pacientas gydytas in-

tensyviosios terapijos skyriuje 35 dienas. Botulizmu užsikrėtę valgydamas blogai termiškai apdorotą viščiuką.

Ne visada botulizmas pasireiškia klasikine eiga. Kartais ligos pradžioje gali būti tik vienas kranialinės mononeuropatijos simptomų [3]. Galimi ligos atvejai be oftalmoplegijos, bulbarinių simptomų, parasimpatinės nervų sistemos pažeidimo arba liga gali pasireikšti tik autonominės nervų sistemos disfunkcija [3, 11, 33]. Kartais pirmiausia gali atsirasti kvėpavimo raumenų paralyžius, tik vėliau oftalmoplegija [30].

Sveikimo nuo botulizmo periodas yra ilgas: raumenų silpnumas ir autonominės nervų sistemos disfunkcija gali trukti iki metų [3, 4, 8, 11, 28–31, 33]. Bendras silpnumas ir sausumas burnoje gali būti grįžus raumenų jėgai [4]. Autonominės nervų sistemos pažeidimas atsikuria greičiau nei raumenų, nors kartais gali būti priešingai [4, 8, 29].

Dažniausios komplikacijos – hipoventiliacinė ar aspiacinė pneumonija, plaučių atelektazė [1–4, 11, 30], idiospatinė plaučių edema, ūmus kvėpavimo distreso sindromas [34].

Dažniausia mirties priežastis – kvėpavimo funkcijos nepakankamumas ar dirbtinės plaučių ventilacijos komplikacijos [1–4, 8, 20, 21, 30, 34].

Gruzijos ir JAV mokslininkų tyrimų duomenimis, esant šiems požymiams: dusuliui, minkštojo gomurio refleksų išnykimui ir nesant viduriavimo, mirštamumo rizika yra 23 kartus didesnė [20, 21].

Literatūroje aprašyti nėščiujų botulizmo atvejai. Visų sirgusiųjų naujagimiai gimė sveiki. Toksinas nepereina placentos barjero, todėl apsigimimų nesukelia. Galimas netiesioginis toksinis poveikis dėl hipoksijos, esant kvėpavimo nepakankamumui. Jeigu būna reikalinga dirbtinė plaučių ventilacija, o nėštumas yra 36 savaitių ir didesnis, rekomenduojama cezario pjūvio operacija [31].

## INHALIACINĖ FORMA

Ligos simptomai yra tokie pat kaip ir maisto toksinės infekcijos atveju, tik ilgesnis inkubacinis periodas [4, 25, 28]. Nebūdingi pradiniai gastrointestiniai simptomai.

## NETYČINIS BOTULIZMAS

Gydant botulizmo toksinu pacientams išsivysto lengvo laipsnio miastenijos sindromas, kartais parasimpatinės nervų sistemos pažeidimas [9, 27, 35, 36]. Elektromiografijoje dažnai nustatomi būdingi pakitimai [36]. Pacientams, sergantiems cervikaline distonija, dažnai išsivysto disfagija po toksino suleidimo į galvos sukamąjį raumenį (m.sternocleidomastoideus) [4].

## KŪDIKIŲ BOTULIZMAS

Kūdikių botulizmas pirmą kartą aprašytas 1976 metais [9]. Pasaulinės sveikatos apsaugos organizacijos duomeni-

mis, nuo 1990 metų kūdikių botulizmo atvejų nuolat daugėja [4]. Daugelis atvejų pasireiškia iki 6 mėnesių. Dažniausias iš anksčiausiai pasireiškiančių simptomų būna obstipacija. Kiti ankstyvi simptomai yra silpnas verkimas, bulbarinių ir galūnių raumenų silpnumas, žindymo sunkumai. Per 3 dienas liga progresuoja – atsiranda galvos nenulaikymas, hipotonija, judesių išnykimas, tachikardija, hipotenzija, burnos sausumas, kūdikis negali žįsti [5, 9, 23, 24]. Daugelis vaikų pasveiksta per keletą savaičių ar mėnesių [24]. Mirštamumas sudaro 1–5 proc. [4].

## ŽAIZDŲ BOTULIZMAS

Klinikiniai simptomai tokie pat kaip ir klasikinio botulizmo atveju, tik nebūdingi pradiniai gastrointestiniai simptomai (pykinimas, viduriavimas) [4, 30]. Inkubacinis periodas gali būti ilgesnis, trukti 2 savaites [5]. Klasikinio botulizmo atveju užsikrečiama toksinu, o esant žaizdų botulizmui, toksinas gaminamas organizme tol, kol *Cl. botulinum* nepašalinamas iš žaizdos [30]. Dėl šios priežasties galimos sunkesnės ligos formos. Pacientai dėl žaizdų infekcijos karščiuoja, dažnos žaizdų koinfekcijos (*S aureus*, *S pyogenes*), todėl ligos pradžioje diagnozuoti botulizmą būna sunku. Dažniausiai klaidingai būna diagnozuojamas Guillain–Barre sindromas, kartais smegenų kamieno pūliniai [4, 5, 8]. Literatūros duomenimis, esant žaizdų botulizmui, 80 proc. atvejų nustatomas toksinas A, kuris sukelia sunkiausias ligos formas. Vieno tyrimo metu konstatuota, kad žaidų botulizmo protrūkio metu 80 proc. pacientų buvo taikyta dirbtinė plaučių ventilacija, o klasikinio botulizmo protrūkio metu – 40 proc. pacientų [8]. Dažniausiai liga pasireiškia poūmia progresuojančia oftalmoplegija, nusileidžiančiu vangiū simetriniu paralyžiumi [8, 30, 31, 37, 38]. Dažnai sergantiems būna poodinių pūlinių, kartais nekrotizuojantis fascitas [5, 8]. Literatūroje aprašyti pacientų, vartojančių heroiną, žaizdų botulizmo ir sepsio atvejai [3, 8], pacientų, nevartojančių narkotikų, žaizdų botulizmo atvejai po atvirų galūnių kaulų lūžių [5].

## DIFERENCINĖ DIAGNOSTIKA (1 LENTELE)

Epideminė anamnezė, karščiavimo nebuvimas, aiški sąmonė, parasimpatinės nervų sistemos pažeidimo simptomai, iš kurių dažniausi sausumo sindromas ir vidurių užkietėjimas – svarbūs veiksniai, leidžiantys botulizmą diferencijuoti nuo kitų ligų [1–4, 5, 8, 28–31]. Svarbi kuo tikslesnė epideminė anamnezė.

Dažniausiai klaidingai būna diagnozuojamas smegenų kamieno insultas, Guillain–Barre sindromas [4, 8, 11, 30, 39]. Botulizmą taip pat reikia diferencijuoti nuo apsinuodijimų magniu, atropinu, CO, sunkiaisiais metalais [4, 28, 29]. Kūdikių botulizmą reikia diferencijuoti nuo miopatijų, Guillain–Barre sindromo, nugaros raumenų atrofijos, hipotireozės, poliomiellito, įvairių apsinuodijimų [24, 40].

1 lentelė. Botulizmo diferencinė diagnostika

| Liga   | Požymiai  |
|--|---|
| Guillain–Barre sindromas                     | Jutimo pažeidimai, GQ1b antikūnai serume  |
| Miller Fisher sindromas                      | Jutimo pažeidimai, GQ1b antikūnai serume  |
| Generalizuota miastenija                     | Teigiamas atsakas į anticholinesterazinius vaistus  |
| Lambert–Eaton miastenijos sindromas          | Būdingi pokyčiai elektromiografijoje  |
| Erkinio encefalito encefalomielitinės formos | Karščiavimas, CNS pažeidimo požymiai, uždegiminiai pokyčiai likvoro   |
| Kitų encefalitų kamieninės formos            | Karščiavimas, CNS pažeidimo požymiai, uždegiminiai pokyčiai likvoro   |
| Poliomielitas                                | Karščiavimas, uždegiminiai pokyčiai likvoro   |
| Smegenų kamieno insultas                     | Piramidinio laido pažeidimo simptomai, ataksija, pokyčiai KT  |
| Diferija                                     | Tonzilitas, po kelių savaičių pasireišianti demielinizuojanti polineuropatija   |
| Poliomiozitas                                | Nepažeidžiami akių raumenys, eriteminis dermatitas, padidėjusi raumenų fermentų koncentracija serume, būdingi elektromiografiniai pakitimai |
| Apsinuodijimas magniu                        | Nebūdingas parasimpatinės sistemos pažeidimas   |
| Apsinuodijimas sunkiaisiais metalais         | CNS, inkstų pažeidimai  |
| Apsinuodijimas CO                            | Galvos skausmas, sunkiais atvejais – koma, COHb kraujyje  |

## DIAGNOSTIKA

### LABORATORINĖ DIAGNOSTIKA

Laboratoriškai diagnozė patvirtinama nustačius toksiną kraujyje, išmatose, žaizdose. Šiuo metu tam naudojamas biologinis mėginys. Literatūros duomenimis, diagnozė laboratoriskai patvirtinama tik 35 proc. atvejų [11]. Praėjus daugiau nei 2 dienoms nuo ligos pradžios, toksinas aptinkamas tik 13–30 proc. atvejų [1, 4, 11]. Diagnozė laboratoriskai galima būtų patvirtinti ir išauginus *Cl. botulinum* iš išmatų [1, 4]. Ligos pradžioje *Cl. botulinum* iš išmatų išskiriama 60 proc. sergančiųjų, praėjus 3 dienoms – 36 proc., o sveikiems suaugusiesiems išskirta nebuvo. Biologinis mėginys atliekamas pelėms tiriamosios medžiagos suleidus į pilvaplėvės ertmę. Esant teigiamam, pelės nugaišta ištikus galūnių paralyžiui ir kvėpavimo nepakankamumui. Toksino tipui nustatyti pelėms sušvirškčiama monovalentinio anatoksino, po 30 minučių – tiriamoji medžiaga. Biologinis mėginys turi šiuos trūkumus [28]:

- Tyrimo metu pelės gali nugaišti ir dėl kitų priežasčių.
- Tyrimas gali užtrukti iki 4 parų, o gydymą reikia pradėti kuo anksčiau.
- Mėginys nepakankamai jautrus, praėjus keletai dienų nuo ligos pradžios.
- Reikalinga speciali patalpa gyvūnams ir labai kvalifikuotas bei imunizuotas personalas.
- Etikos problemos dėl gyvūnų naudojimo tyrimams.

Pastaraisiais metais tyrinėjami nauji greitai botulizmo toksino nustatymo metodai: ELISA, elektrochemiluminescencinis metodas, imuno – PCR (grandininė polimerazių reakcija), proteazių aktyvumo analizė [28, 41, 42, 43]. Kol kas šie metodai nestandartizuoti, jų jautrumas ir specifiskumas, įvairių laboratorijų duomenimis, yra skirtingi [28].

### ELEKTROFIZIOLOGINĖ DIAGNOSTIKA

Elektrofiziologiniai tyrimai gali padėti nustatyti botulizmo diagnozę esant klinikiniam įtarimui ir kol padaromas biologinis mėginys [1, 4, 11].

Botulizmui būdinga šie elektromiografijos pakitimai [4]:

1. Juntamųjų nervų amplitudės, dažnis, latencija nepakitę.
2. Motorinio laidumo dažnis normalus. Stimuliuojant nervus, būdingas raumenų veikimo potencialų amplitudės mažėjimas. Šis reiškinys nustatomas 85 proc. sergančiųjų.
3. Stimuliuojant žemo dažnio impulsais (2–3 Hz), būdingas progresuojantis amplitudės mažėjimas.
4. Posttetaniniai palengvėjimai (PTF) gali būti nustatomi kai kuriuose raumenyse. Būdingi ne tokie ryškūs kaip sergant Lambert–Eaton miasteniniu sindromu (LEMS). PTF matuojama stimuliuojant aukšto dažnio impulsais. Botulizmui būdingas 30–100 proc. fibrilacijos laipsnis, o LEMS būdinga dvigubai didesnis. Kai kuriais, bet ne visais botulizmo atvejais 40 proc. PTF gali užtrukti keletą minučių. PTF gali nebūti sunkiais raumenų paralyžiaus atvejais.
5. Adatinė elektroneuromiografija rodo trumpalaikius polifazinius raumeninių skaidulų veikimo sulėtėjimo potencialus.
6. Vienos skaidulos EMG rodo padidėjusį jaudrumą ir bloką, kuris tampa ryškesnis po aktyvacijos. Jaudrumas susijęs su įvairiais sinapsių blokais ir jis yra neuromuskulinio perdavimo žymuo.

### GYDYMAS

Dėl greitai atsirandančio ir progresuojančio kvėpavimo funkcijos nepakankamumo ligoniai, įtariant botulizmą, turėtų būti hospitalizuojami į intensyvosios terapijos skyrių. Skubiai atliekamas skrandžio plovimas, valomoji

klizma, skiriami vidurius laisvinantys vaistai. Vengti magnio turinčių laisvinamųjų.

Esant klinikiniam įtarimui, kuo skubiau skirti priešbotulinio serumo. Serumas gaunamas iš arklių, imunizuotų botulizmo toksoidu [44]. Kuo anksčiau paskiriama serumo, tuo geresnė prognozė. Geriausi rezultatai pasiekiami, kai serumo paskiriama per 4 dienas nuo susirgimo, bloga prognozė skyrus serumo praėjus 8 ir daugiau dienų nuo ligos pradžios [5]. Kai kurių mokslininkų duomenimis, gauti geri rezultatai skyrus serumo praėjus 11 dienų nuo ligos pradžios, taip pat įrodyta, kad kai kuriais atvejais toksinas gali cirkuliuoti kraujyje 28 dienas po intoksikacijos [2]. Skiriama polivalenčio serumo (A, B, E). Rekomenduojama skirti vieną dozę [2, 4, 8, 34], kai kurių autorių duomenimis, jeigu būklė išlieka be dinamikos ir nėra nepageidaujamų reiškinių, po 24 valandų skirti antrą serumo dozę [1]. Nepageidaujami reiškiniai nustatomi 9–20 proc. sergančiųjų [2, 4]: urtikarija [44], hipertermija (2,6 proc.) [2], drebulys [1], seruminė liga (3,6 proc.) [2], anafilaksinis šokas (1,6 proc.) [2]. Šios būklės gydomos antipiretikais, antihistaminiais, steroidais [1]. Serumo galima skirti nėščioms moterims, toksinio poveikio vaisiui nestebėta [31].

Antibiotikai skiriami žaizdų botulizmo, kūdikių, suaugusiųjų paslėpto botulizmo formų atvejais [2, 4, 8, 30]. *Cl. difficile* veikia penicilinas, metronidazolis. Vengti gentamicino dėl mioneuralinės blokados galimybės [30].

Svarbu laiku intubuoti ligonį. Laiku intubuotiems ligoniams sumažėja mirštamumo rizika. Taip pat svarbu laiku atlikti tracheostomiją, užtikrinti gerą dirbtinę plaučių ventilaciją [4, 8, 34].

## KITI GYDYMO METODAI

### GUANIDINAS IR 4-AMINOPIRIDINAS

Abu medikamentai turi teigiamą poveikį akių ir galūnių raumenims, tačiau neveikia paralyzuotų kvėpavimo raumenų. Guanidinas pasižymi kaulų čiulpus slopinančiu poveikiu, sukelia nefritą. 4-aminopiridinas sukelia traukulius [4]. Steroidai, plazmaferezė, intraveninis imunoglobulinas (suaugusiesiems) – nėra įrodymų apie jų veiksmingumą [4, 44].

Išsamiai išnagrinėję botulizmo toksino sandarą ir veikimo mechanizmą, mokslininkai išradinėja naujus medikamentus botulizmui gydyti [44]. Preparatai gali veikti šias grandis: susijungimą su receptoriu, endocitozę, endopeptidazės aktyvumą. Pastarieji yra labai perspektyvūs, nes veiktu toksinui patekus į ląstelę. Taip pat kuriami medikamentai, kurie neutralizuotą toksiną prieš patenkant į ląstelę. Šiuo metu tyrinėjami šie preparatai: trumpieji peptidai – endopeptidazės inhibitoriai (intraląstelinis poveikis), receptorių agonistai, aptameriai (ekstraląstelinis poveikis). Aptameriai – tai oligonukleotidai, turintys afinitetą protei-

nams (panašiai kaip antikūnai). Ikklinikiniuose tyrimuose įrodyta, kad juodosios arbatos etilo acetato ekstraktas neutralizuoja botulizmo toksiną [45].

Kūdikių botulizmui gydyti vartojamas botulininis imunoglobulinas (BabyBig®), kuris gaunamas iš botulizmo toksoidu imunizuotų savanorių [44]. Mokslininkai, išanalizavę 20–30 metų tyrimų rezultatus, įrodė, kad imunoglobulinas kūdikiams yra saugus ir veiksmingas [46, 47].

## PROFILAKTIKA

Ligos išvengti gali padėti priemonės, taikomos atsižvelgiant į užsikrėtimo sąlygas, nurodytos etiologijos ir epidemiologijos skyrelyje. Namie konservuojamus vaisius, daržoves, grybus reikia gerai nuplauti, nehermetinti to, kas nebūtina (geriau rauginti, sūdyti, marinuoti). Konservus būtina laikyti ne aukštesnėje kaip 10 °C temperatūroje. Visada produktą, kurio laikymo sąlygos kelia abejonių, prieš vartojant reikia gerai išvirti arba iškepti. Nevartoti konservų iš dėžučių su išpūstais dangteliais. Susirgus botulizmu, reikia įtartino produkto nebevertoti ir jį toksikologiškai ištirti. Asmenims, valgiusiems tą patį produktą kaip ir sergantysis, reikia išplauti skrandį, atlikti valomąją klizmą, sušvirkti į raumenis ½ dozės antitobulininių A, B ir E serumų (per 1–2 dienas po įtariamo produkto vartojimo) ir stebėti 10 dienų.

Specifinei profilaktikai vartojamos pentavalentė (ABCDE) vakcina ir monovalentė F vakcina. Gaminant vakcinas, toksinas inaktyvuojamas formalinu, ir gaunamas botulizmo toksoidas. Šios vakcinos turi trūkumų [48]: nėra pakankamai išgrynintos, sukelia nepageidaujamų reiškinių, turi kancerogeninių medžiagų. Todėl skiepijimui rekomenduojami didelės rizikos grupėms ir gavus rašytinį asmens sutikimą skiepyti. Skiepijamos rizikos grupės: mokslininkai, tiriantys botulizmo toksiną, laboratorijų darbuotojai, kariūnai. Skiepijama 0, 2, 12 savaitę, po 1 metų atliekama revakcinacija, po to revakcinuojama kas 2 metai. Mokslininkai kuria naujas tobulesnes vakcinas: rekombinantines DNR vakcinas, intranazales ir oralines gyvas atenuotas vakcinas [25, 44, 48, 49].

## BOTULIZMO TOKSINO VARTOJIMAS GYDYMUI

1980 metais medicinos istorijoje įvyko įdomus atradimas. Pats stipriausias nuodas sėkmingai pradedamas vartoti vaikų paralitiniam žvairumui gydyti [4]. Šiuo metu botulizmo toksiną gydymui vartoja neurologai, oftalmologai, plastinės chirurgijos specialistai, gastroenterologai, dermatologai. Neurologai gydo cervikalinę ir kitas distonijas, traukulius, migreną, hiperhidrozę, vaikų cerebrinį paralyžį, įvairius judėjimo sutrikimus, spastinę distoniją [25, 26, 50, 51]. Oftalmologijoje toksinas vartojamas gydant žvairumą, blefarospazmą [25]. Toksinas A sėkmingai naudojamas kosmetinių operacijų metu [4, 27]. Gastroenterologai

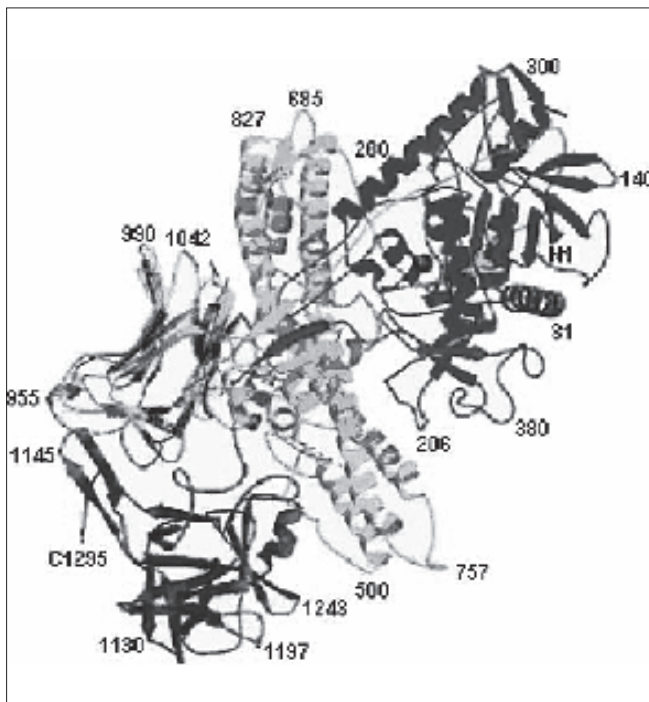
gydo achalaziją, lėtinius išeinamosios angos įtrūkimus [4, 25]. Literatūroje aprašyti sėkmingi gerybinės prostatos hiperplazijos gydymo atvejai [52]. Manoma, kad toksinas bus naudojamas onkologijoje kaip priešvėžinių medikamentų pernešėjas į pažeistas ląsteles [4, 25, 44].

### IŠVADOS

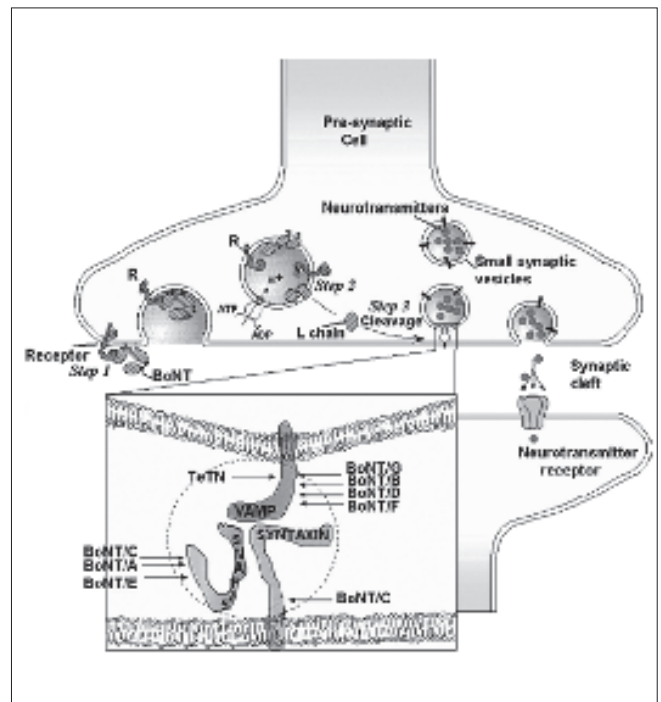
Apibendrinant daugelio autorių mokslinių tyrimų rezultatus ir aprašytus klinikinius atvejus galima daryti šias išvadas:

1. Svarbu greitai diagnozuoti botulizmą.

2. Laiku neskyrus priešbotulininio serumo, liga greitai gali progresuoti iki kvėpavimo nepakankamumo.
3. Kliniškai diagnozavus botulizmą, būtina skirti priešbotulininio serumo, nelaukiant laboratorinio tyrimo atsakymo.
4. Šiuo metu naudojamas biologinis mėginys botulizmo toksinui nustatyti nėra pakankamai jautrus ir greitas diagnostikos metodas.
5. Reikalingi nauji greiti ir jautrūs metodai botulizmo diagnozei patvirtinti ir nauji veiksmingesni medikamentai gydymui.



1 pav. Botulizmo toksino A sandara. 280–206 – lengvoji grandinė, 685–1130–757 – sunkioji grandinė (J. A. Chaddock, P. M. H. Marksas [27], B. R. Cai S et Singhas [44])



2 pav. Botulizmo ir stabligės toksinų veikimo mechanizmas (B. R. Cai Sh et Singhas [28]).

1 etapas. Botulizmo (BoNT) ir stabligės (TeTN) toksinai prisijungia prie presinapsinės membranos gangliozido ir proteino receptoriaus. 2 etapas. Endocitozės būdu lengvoji grandinė pernešama per membraną. 3 etapas. Suskaidomi specifiniai baltymai, nesusidaro sinapsinė pūslelė, nevyksta acetilcholino išskyrimas

### LITERATŪRA

1. Akdeniz H, Buzgan T, Tekin M et al. An outbreak of botulism a family in Eastern Anatolia associated with eating suzme yoghurt buried under soil. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2007; 39: 108–114.
2. Cengiz M, Yilmaz M, Dosemeci L, Ramazanoglu A. A botulism outbreak from roasted canned mushrooms. *Human experimental toxicology* 2006; 25: 273–278.
3. Chang GY, Ganguly G. Early antitoxin treatment in wound botulism results in better outcome. *European Neurology* 2003; 49: 151–154.
4. Cherington M. Botulism: Update and review. *Seminars in neurology* 2004; 24: 155–163.
5. Caya JG, Agni R, Miller JA. *Clostridium botulinum and the clinical laboratorian – A detailed review of botulism, including*

- biological warfare ramifications of botulinum toxin. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2004; 128: 653–652.
6. Townes JM, Cieslak PR, Hatheway CL et al. An outbreak of type A botulism associated with a commercial cheese sauce. *Ann Intern Med* 1996; 125: 558–563.
7. Shapiro RL, Hatheway C, Becher J, Swerdlow DL. Botulism surveillance and emergency response. *JAMA* 1997; 278: 433–435.
8. Merrison AFA, Chidley KE, Dunnett J, Sieradzan. Wound botulism associated with subcutaneous drug use. *British Medical Journal* 2002; 325: 1020–1024.
9. Hughes JM. *Botulism. Infections of Nervous system* New York: Raven Press; 1991: 150–153.
10. Neimanis A, Gavier-Widen D, Leighton F et al. An outbreak

- of C botulism in hering gulls in southeastern Sweden. *J Wildl Dis* 2007; 43(3): 327–336.
11. Mackle IJ, Halcomb E, Parr MJA. Severe adult botulism. *Anaesth intensive Care* 2001; 29: 297–300.
  12. Foran PG, Davletov B, Meunier FA. Getting muscle moving again after botulinum toxin: novel therapeutic challenges. *Trends Mol Med* 2003; 9: 291–298.
  13. Ginsberg MM. Botulism associated with commercially canned chili sauce Texas and Indiana, July 2007. *MMWR* 2007; 56(30): 767–769.
  14. Meyers H. Foodborne botulism from home – prepared fermented tofu – California, 2006. *MMWR* 2007; 56(5): 96–97.
  15. Cawthorne A, Celentano LP, D'Acona et al. Botulism and preserved green olives. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(5): 781–782.
  16. Ungchusak K, Chnuttawat S, Braden CR et al. The need for global planned mobilization of essential medicine: lessons from a massive Thai botulism outbreak. *Bulletin of World Health Organization* 2007; 85(3): 238–241.
  17. Angulo FJ, Getz J, Taylor JP et al. A large outbreak of botulism: the hazardous baked potato. *J Infect Dis* 1998; 178: 172–177.
  18. Chang M, Glynn K, Groseclose SL. Endemic, notifiable bioterrorism – related diseases, United States 1992–1999. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 556–564.
  19. Sobel J, Tucker N, Sulka A et al. Foodborne botulism in the United States. *Emerg Infect Dis* 2004; 9: 1606–1611.
  20. Varma JK, Katsitadze G, Moiscrafshvili M et al. Signs and symptoms predictive of death in patients with food born botulism – Republic of Georgia, 1980–2002. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 357–362.
  21. Hennessy TW, Rotz LD. Foodborne botulism in the Republic of Georgia: Implications for Preparedness Planning. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 363–365.
  22. Botulism. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and control, 2008.
  23. Leggiadro RJ. Bioterrorism: A Clinical Reality. *Pediatric Annals* 2007; 36(6): 352–359.
  24. Van der Vorst MMJ, Jamal W, Rotimi VO, Moosa A. Infant botulism due to consumption of contaminated commercially prepared honey. *Med Princ Pract* 2006; 15: 456–458.
  25. Shukla HD, Sharma SK. *Clostridium botulinum*: A bug with beauty and weapon. *Critical reviews in microbiology* 2005; 31: 11–18.
  26. Rossetto O, Morbiato L, Caccin P et al. Presynaptic enzymatic neurotoxins. *J Neurochem* 2006; 97: 1534–1545.
  27. Chaddock JA, Marks PMH. Clostridial neurotoxins: structure-function led design of new therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 540–551.
  28. Cai Sh, Singh BR. Botulism diagnostic: from clinical symptoms to in vitro Assays. *Critical Reviews in Microbiology* 2007; 33: 109–125.
  29. Dunant Y, Estade M, Magistris MR, Safran AB. Botulizmo toksinas: pavojingiausios nuodos. *Neurologijos seminarai* 2001; 3(13): 42–47.
  30. Vera J, Hensiek A, Woodrow Ch et al. Ophthalmoplegia and slurred speech in an intravenous drug user. *PLoS Medicine* 2006; 3:2209–2211.
  31. Morrison AG, Lang C and Huda S. Botulism in a pregnant intravenous drug abuser. *Anaesthesia* 2006; 61: 57–60.
  32. Botulism. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), June. 2002. 10 Dec 2002. <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/botulism-t.htm>.
  33. Merz B, Bigalke H et al. Botulism type B presenting as pure autonomic dysfunction. *Clin Auton Res* 2003; 13: 337–338.
  34. Konaengdao S, Samintarapanya K, Rusemeechan S et al. An outbreak of botulism in Thailand: Clinical manifestation and management of severe respiratory failure. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1247–1256.
  35. Fota-Markowska H, Mitosek-Szwczyk K, Hasiek T. Generalized botulism: diagnostic problems in a patient treated with botulinum toxin type A. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 2007; 74: 231–232.
  36. Partikian A, Mitchell WG. Jatrogenic botulism in a child with spastic quadriplegia. *J Child Neurol* 2007; 22(10): 1235–1237.
  37. Kalka-Moll M, Aurbach U et al. Wound Botulism in injection drug users. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(6): 942–943.
  38. Roblot F, Popoff M et al. Botulism in patients who inhale cocaine: the first cases in France. *CID* 2006; 43:e51–e52.
  39. Dorr J, Dieste FJ, Klaasen D et al. A case of recurrent Miller Fisher syndrome mimicking botulism. *Neurol Sci* 2006; 27: 424–425.
  40. Kelly H, Brussen KA, Lawrence A. Polioviruses and other enteroviruses isolated from faecal samples of patients with acute flaccid paralysis in Australia, 1996–2004. *Journal of Paediatrics and Child Health* 2006; 42: 370–376.
  41. Chaffer M, Baum M, Grinberg K et al. Application of PCR for detection of *Clostridium botulinum* type D in bovine Samples. *J Vet Med* 2006; (B53): 45–47.
  42. Palys TJ, Schmid KE, Scherer JM et al. Conversion of a mouse Fab into a whole humanized IgG antibody for detecting botulinum toxin. *Human antibodies* 2006; 15: 125–132.
  43. Parpura V, Chapman ER. Detection of botulinum toxins: micro-mechanical and fluorescence – based sensors. *Croat Med J* 2005; 46(4): 491–497.
  44. Cai S et al. Strategies to design inhibitors of clostridium botulinum neurotoxins. *Infectious disorders – drug targets* 2007; 7(1): 47–57.
  45. Saton E. Ethyl acetate extract from black tea prevents neuromuscular blockade by botulinum neurotoxin type A in vitro. *International journal of food sciences and nutrition* 2005; 56(8): 543–550.
  46. Underwood K, Rubin S, Deakers T, Newth C. Infant botulism: a 30 year experience spanning the introduction of botulism immune globulin intravenous in the intensive care unit at Childrens hospital Los Angeles. *Pediatrics* 2007; 120(6): e1380–e1385.
  47. Tseng-Ong L, Mitchell WG. Infant botulism: 20 years experience at a single institution. *J Child Neurol* 2007; 22(12): 1333–1337.
  48. Fujihashi K, Staats HF et al. Mucosal vaccine development for botulinum intoxication. *Vaccines* 2007; 6(1): 35–45.
  49. Baldwin MR, Tepp WH, Przedpelski et al. Subunit vaccine against the seven serotypes of botulism. *Infect Immun* 2008; 76(3): 1314–1318.
  50. Goldstein EM. Safety of high – dose botulinum toxin type A therapy for the treatment of pediatric spasticity. *J Child Neurol* 2006; 21: 189–192.
  51. Willis AW, Crouner B, Brunstrom JE et al. High dose botulinum toxins A for the treatment of lower extremity hypertonicity in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2007; 49(11): 818–822.
  52. Karsenty G, Corcos J Schurch B. Urological application of botulinum toxins. *Prog Urol* 2006; 16(3): 263–274.

*Gautas 2009 m. balandžio 30 d., aprobuotas 2009 m. gegužės 29 d.  
Submitted April 30, 2009, accepted May 29, 2009.*