

# Botulizem pri dojenčku

## Infant botulism

Anja Radšel,<sup>1</sup> Štefan Grosek,<sup>2</sup> Anamarija Meglič,<sup>3</sup> Alenka Andlovic,<sup>4</sup> Damjan Osredkar<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Pediatrična klinika, UKC Ljubljana, Ljubljana

<sup>2</sup> Kirurška klinika, Klinični oddelek za otroško kirurgijo in intenzivno terapijo, UKC Ljubljana, Ljubljana

<sup>3</sup> Pediatrična klinika, Klinični oddelek za nefrologijo, UKC Ljubljana, Ljubljana

<sup>4</sup> Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana

<sup>5</sup> Pediatrična klinika, Klinični oddelek za otroško, mladostniško in razvojno nevrologijo, UKC Ljubljana

### Korespondenca/ Correspondence:

doc. dr. Damjan Osredkar, dr. med., Pediatrična klinika, Klinični oddelek za otroško, mladostniško in razvojno nevrologijo, UKC Ljubljana, Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana, Slovenia; damjan.osredkar@kclj.si, tel.: 01-5229272

### Ključne besede:

*Clostridium botulinum*, botulizem dojenčka, botulinum toksin, hipotonija, zaprtje

### Key words:

*Clostridium botulinum*, infant botulism, botulinum toxin, acute infant hypotonia, constipation

### Izvleček

Botulizem dojenčka je lahko življenje ogrožujoča bolezen, ki je posledica okužbe prebavne poti z nevrotoksinogenim sevom bakterije *Clostridium botulinum*. Incidenca bolezni je nizka, vendar v Evropi verjetno podcenjena. Na bolezen je potrebno pomisliti pri vsakem dojenčku s postopno napredujočo hipotonijo, zaprtjem in težavami pri hranjenju, a brez motenj zavesti. Klinični sum na bolezen potrdimo z mikrobiološkimi preiskavami. Za zdravljenje so na voljo specifična, toksin nevtralizirajoča protitelesa, ki pa se uporabljajo le izjemoma, tj. le pri težki klinični sliki. V članku je predstavljen prvi dokazani primer botulizma pri dojenčku v Sloveniji.

### Abstract

Infant botulism is a potentially fatal disease, caused by neurotoxic strain of *Clostridium botulinum* that colonizes infant's gut. The incidence of the disease is low, but is probably underestimated in Europe. Every child with progressive hypotonia, constipation and feeding difficulties, but normal alertness, should be considered as a possible case of infant botulism. Besides a typical clinical picture, positive microbiological tests are needed to confirm the diagnosis. The specific botulinum toxin antibodies are available for treatment, but they are used only in the most severe cases. We present the first diagnosed case of infant botulism in Slovenia.

### Prikaz bolnika

Predstavljamo primer 2,5-mesečnega dečka, ki je bil do prihoda v bolnišnico zdrav. Sprejet je bil zaradi stopnjujoče se hipotonije s ptozo vek, zaprtjem in zaradi nezmožnosti hranjenja.

Mati je zaradi stresnih okoliščin v zadnjem trimesečju nosečnosti 14 dni uživala diazepam. V mladosti se je zdravila tudi zaradi psihiatrične motnje. Deček se je kot prvi otrok v družini rodil po normalno potekajoči nosečnosti in porodu. Po rojstvu se je primerno razvijal. Hranil se je izključno s kombinacijo dojenja in adaptiranega mleka, ki pa ga je mati odstranila iz originalne embalaže in hranila v pločevinki. Blato je redno odvajal na dva do tri dni.

Družina živi v vaškem okolju. Doma imajo pse in mačke, na sosednji kmetiji pa gojijo svinje. V času dečkove bolezni si je mati z mazilom, ki je vsebovalo srebro, zdra-

vila kožno glivično okužbo trupa in rok, nezanesljiv pa je podatek o tem, ali je pripravke z vsebnostjo srebrovih in litijevih spojin tudi uživala. V času pred boleznijo je bila neza-poslena, oče pa je delal v mesnici.

V starosti 2,5 meseca so dečka v področni bolnišnici pregledali zaradi štiri dni trajajočega zaprtja, napenjanja, slabšega teka (obroki so se z 90 ml zmanjšali na 40–60 ml), izgube telesne teže in umirjenosti. Dvakrat je brez uspeha prejel odvajalni sirup. Osnovne laboratorijske krvne preiskave in ultrazvočni pregled trebuha so bili v mejah normalnega. Deček je bil istega dne odpuščen v domačo oskrbo.

V dneh, ki so sledili odpustu iz bolnišnice, se je staršem zdel deček vse bolj zaspan, jokav in z bolečinami. Vztrajale so težave s hranjenjem, pričelo se mu je zaletavati in še vedno je bilo prisotno zaprtje. Osmi dan

**Citirajte kot/Cite as:**  
Zdrav Vestn 2013;  
82: page 783–8

Prispelo: 26. nov. 2012,  
Sprejeto: 29. maj 2013

bolezni je bil z znaki oslabelosti ponovno sprejet v področno bolnišnico. Deček je bil nerazpoložen, slabo se je odzival na dražljaje, slabo je pil, spontano gibanje je bilo borbo, prisotna je bila ptoza vek. Povišane temperature ni imel. Z lumbalno punkcijo je bila izključena okužba osrednjega živčevja. Vsi ostali laboratorijski izvidi (hemogram, elektroliti, glukoza, CRP, kislinsko bazično ravnovesje, amoniak, bilirubin, jetrni encimi, urin) so bili prav tako v mejah normalnega. Rentgenski posnetek trebuha je pokazal razširjen želodec in obsežen meteorizem predvsem širokega črevesja, brez prostega zraka v trebušni votlini. Po klizmi je odvajal manjšo količino zelo tekočega blata, v katerem je bil prisoten košček bele čvrste snovi, za katero se je kasneje izkazalo, da gre za milo, s katerim so starši poizkušali sprožiti odvajanje blata.

Na Pediatrični kliniki v Ljubljani, kamor je bil premeščen deseti dan bolezn, je imel prisotne znake izrazite generalizirane hipotonije z odsotnim spontanim gibanjem. Prisotna je bila ptoza obeh vek, videti je bil zaspan, a je socialni stik zanesljivo vzpostavil. Periferni proprioceptivni in bulbarni (žrelni, sesalni in požiralni) refleksi so bili oslabiljeni, vendar ohranjeni. Deček je slabotno jokal in slabo pil (do največ 20 ml na obrok), dojenje je bilo zaradi podatka o morebitnem materinem uživanju pripravkov s koloidnim srebrom ukinjeno. Prejemal je parenteralno hidracijo in lokalni antimikotik zaradi glivičnih oblog v ustih. Blata tudi po klizmi ni odvajal. Vsi laboratorijski izvidi (hemogram, elektroliti, kislinsko bazično ravnovesje, jetrni encimi, izvid likvorja, ščitnični hormoni, presejalne preiskave na presnovne bolezni, toksikološka analiza urina) so bili ponovno v mejah normalnega, enako tudi ultrazvočni pregled glave, kontinuirano spremljanje srčno-dihalnih vzorcev (CMCRF), elektrokardiogram, encefaloelektrogram in elektromiogram (EMG). Ultrazvočni pregled trebuha je pokazal izrazit meteorizem črevesja, nekaj proste tekočine pod jetri, rektum pa je bil v dolžini 6 cm prazen, a kolabiran.

Delovne diagnoze so vključevale zastrupitev (naključna ali Münchausnov sindrom preko posrednika), encefalitis in botulizem

dojenčka, vendar s preiskavami nobene nismo uspeli potrditi. Vse toksikološke analize so bile negativne. Mati kljub psihičnim težavam tudi po psihološki obravnavi ni dajala vtisa namerne želje škodovati otroku. Glede na klinično sliko smo postavili sum na botulizem, vendar tega sprva nismo uspeli dokazati, ker preiskava blata zaradi dečkovega zaprtja kljub različnim odvajalom ni bila mogoča. Biološki poskus na miškah za ugotavljanje prisotnosti botulinum toksina v otrokovem serumu, ki se opravlja na Inštitutu za varovanje zdravja, pa je bil negativen.

Kljub smernicam, ki priporočajo takojšnje zdravljenje botulizma pri dojenčku s potrjeno boleznijo že pri kliničnem sumu nanjo s specifičnimi humanimi botulinum toksin nevalizirajočimi protitelesi, se ob kliničnem sumu na bolezen zaradi stabilnega stanja otroka in visokih stroškov zdravljenja nismo odločili. V zdravljenje smo uvedli vitamin B<sub>6</sub>, pripravek koencima Q<sub>10</sub> in probiotične kapljice, ki vsebujejo *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (Protectis; Biogaia) v terapevtskem odmerku 10<sup>9</sup> bakterij / dan in nato do kontrole redno v preventivnem odmerku 10<sup>8</sup> bakterij / dan.

V naslednjih dneh se je dečkovo stanje pričelo spontano izboljševati. Štirinajsti dan bolezn je bil že dlje časa buden, dobro je vzpostavil socialni stik, spil je do 60 ml mleka na obrok in z dnevno količino popitega mleka uspel zadostiti do 2/3 svojih dnevnih energetske potreb. Še naprej je bila prisotna izrazita mišična oslabelost s ptozo vek.

Sedemnajsti dan bolezn je odvajal manjšo količino blata, v katerem so na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani dokazali prisotnost bakterije *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*). Zaradi odsotnosti ustreznih diagnostičnih metod v Sloveniji je prisotnost nevrotoksigenih genov za toksin B v bakterijski DNA nato potrdil z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) Statens Serum Institut na Danskem. Prisotnost bakterije *C. botulinum* je bila dokazana tudi v sporno shranjeni mlečni formuli, ki jo je deček užival, vendar ta sev ni imel toksigenih genov za toksine A, B, E in F. Vir okužbe je pri dečku ostal nepojasnen.

Enaindvajseti dan bolezni je bil deček odpušen v domačo oskrbo. Ob odpustu je bil dobro razporežen, vzpostavil je dober socialni stik, se nasmehnil. Po steklenički je lepo pil. Opažali smo bolj živahno obrazno mimiko, blago je bila še izražena ptoza vek in prisotno slabše sponatno gibanje spodnjih udov. Aksialni tonus je bil še znižan. Deček je tudi slabše nadziral držo glave.

Na kontrolni pregled je deček prišel devet tednov po začetku bolezni. Pri nevrološkem in somatskem pregledu ni bilo več odstopanj od normalnega stanja. V kontrolnem vzorcu blata pa je bil še vedno prisoten *C. botulinum*.

## Razpravljanje

Botulizem je pri dojenčku redka bolezen, ki je posledica črevesne okužbe z nevrotoksičnim sevom bakterije *C. botulinum* (redkeje s *C. baratii* ali *C. butyricum*).<sup>1</sup> Dojenček zboli po zaužitju spor, ki se v črevesju spremenijo v vegetativno obliko in začnejo izločati nevrotoksin, ki z nepovratno vezavo na holinergične sinapse zavre živčno-mišično prevajanje, v velikih količinah pa okvari tudi avtonomno živčevje.

Za razliko od Združenih držav Amerike (ZDA) je v Evropi bolezen redka; od leta 1976 do 2011 je bilo prijavljenih 96 primerov, od tega skoraj tretjina v Italiji.<sup>2,3</sup> Opisani primer je po podatkih Inštituta RS za varovanje zdravja prvi dokazan primer botulizma dojenčka v Sloveniji.<sup>4</sup> Incidenca okužbe je podcenjena zaradi neprepoznane klinične slike, nedostopnosti ustreznih mikrobioloških preiskav in blagih oblik bolezni, ki jih otroci prebolijo v domačem okolju. Ugotovljeno je tudi bilo, da je težko potekajoča oblika botulizma dojenčka lahko vzrok za nenadno smrti dojenčka, čeprav v izjemno redkih primerih.<sup>5</sup> Okužba je najpogostejša med drugim in četrtem mesecem starosti, najmlajši opisani primer je bil otrok v starosti le 38 ur.<sup>6</sup>

Spore *C. botulinum* so v okolju prisotne v velikem številu. Dokazali so jih v hišnem prahu,<sup>7</sup> na neoprani zelenjavi in sadju, v zemlji, na suhih zeliščih za pripravo čajev,<sup>8</sup> v nerafiniranem sladkorju, v medu in v prahu mlečne formule.<sup>9,10,11</sup> Med je zaenkrat edini

dokazani medij za prenos okužbe.<sup>12</sup> Minimalni infektivni odmerek ni znan, s poskusi na miškah pa so ocenili, da znaša 10–100 spor.<sup>13,14</sup> Med dejavnike tveganja za okužbo pri dojenčku spadajo: odvajanje blata manj kot enkrat dnevno, hranjenje z mlečno formulo, izpostavljanje prahu (gradbišča, delavno mesto staršev v prašnem okolju) in Meckelov divertikel.<sup>15–17</sup> Oboleli deček je živel na podeželju in je bil posredno v stiku z domačimi psi in mačkami. Blato je odvajal vsak drugi do tretji dan in se hranil z adaptiranim mlekom, ki ni bilo ustrezno shranjeno, ker so ga pretresli v pločevinko. *C. botulinum*, ki je bil prisoten v mleku v pločevinki, toksigenih genov za nevrotoksine ni imel. Lahko je šlo res za drug bakterijski sev, lahko pa je to bil dejanski povzročitelj bolezni, ki je med postopki laboratorijske osamitve gen za nevrotoksičnost izgubil.<sup>18</sup> Vir okužbe je tako pri dečku ostal nepojasnjen.

Prvi znak bolezni pri dojenčku je običajno zaprtje, ki ga spremljata slabše hranjenje in mišična oslabelelost. Z napredovanjem bolezni se pojavi descendentna ohlapna paraliza/ohromitev. Najprej so prizadeti obrazni živci, kar se kaže z brezizraznim obrazom, ptozo in šibkim jokom. Sesalni, žrelni, požiralni in kornealni refleksi so oslabiljeni ali odsotni. Izstopa tudi slab nadzor glave z generalizirano hipotonijo. Tipična sta znak žabjih nog leže na hrbtu in položaj novorojenca v trebušnem položaju. Periferni proprioceptivni refleksi so sprva normalni, lahko pa oslabijo kasneje v poteku bolezni.<sup>19</sup> Težave se stopnjujejo 1–2 tedna, nato pa po 2–3 tednih običajno postopno pričnejo izzvenevati. Okrevanje je zelo počasno, vendar popolno. Ponovitev bolezni je malo verjetna.<sup>20</sup> Deček, ki ga predstavljamo, je že ob prvem obisku zdravnika, tj. četrty dan bolezni, kazal tipične znake botulizma dojenčka (zaprtje, težave s hranjenjem in mišično oslabelelost s ptozo vek). Bolezen je prebolel v blagi obliki, brez zapletov in sorazmerno hitro okrevaj, kar je značilno za botulizem, ki ga povzročijo sev *C. botulinum*, ki izloča toksin B.<sup>21,22</sup>

Postavitev klinične diagnoze pri zelo blagi ali zelo hudo izraženi bolezni ni lahka. Med najpogostejšimi delovnimi diagnozami so običajno: sepsa, dehidracija, zastrupitev,

idiopatska hipotonija, hipotireoza, miastenični sindrom, metabolna encefalopatija, polimielitis, virusni polinevritis, Guillain-Barreov sindrom, Hirschprungova bolezen in spinalna mišična atrofija.<sup>23</sup>

Za botulizem pri dojenčku je značilno, da so vse laboratorijske in slikovne preiskave normalne. V nekaterih primerih lahko pri diagnosticiranju pomaga EMG, ki pokaže motnjo v delovanju živčno-mišičnega prenosa. Najobčutljivejša preiskava je mikro-elektromiografska preiskava.<sup>24</sup> V našem primeru je niso opravili zaradi nesodelovanja otroka, klasični EMG pa je bil normalen.

Povišana telesna temperatura je vedno znak dodatne bakterijske okužbe. Najpogosteje so vzrok vnetje srednjega ušesa zaradi prisotnosti nazogastrične sonde in slabšega delovanja Evstahijeve cevi, okužba sečil ob vstavljenem urinskem katetru, pljučnica in bakteriemija zaradi vstavljenih znotrajžilnih katetrov.<sup>25</sup> Posebna previdnost je potrebna pri predpisovanju antibiotikov z baktericidnim delovanjem na klostridij, saj lahko pride zaradi velike količine nenadno sproščene toksina do akutne ohromitve ali celo smrti bolnika.<sup>26,27</sup>

Zavest bolnika in socialni stik sta običajno ohranjena, kar pa je včasih težko oceniti. Pri moteni zavesti moramo pomisliti na dehidracijo ali začetno dihalno odpoved s hipoksemijo in hiperkapnijo. Pri hudi obliki bolezni je lahko prizadeto tudi avtonomno živčevje, kar se kaže z dihalno odpovedjo, nestabilnim krvnim tlakom in motnjami srčnega ritma.<sup>27</sup>

Bolnika lahko varno odpustimo v domačo oskrbo, ko so sesalni, žrelni in požiralni refleksi zadostni za hranjenje in varovanje dihalne poti.<sup>21</sup>

Prisotnost nevrotoksigenega seva *C. botulinum* v blatu ob značilni klinični sliki potrди diagnozo. Zelo pomembna je določitev vrste toksina, ki ga klostridij tvori, ne samo z epidemiološkega stališča in za potrditev diagnoze, temveč tudi za napoved poteka bolezni, saj toksin A povzroča težjo bolezen kot ostali.<sup>22</sup> Za dokaz toksina v serumu uporabimo biološki poskus na miškah, ki pa je slabo občutljiv zaradi nizke koncentracije toksina v krvi bolnika.<sup>28</sup> V našem primeru smo zaradi trdovratnega zaptja pri otroku,

kljub uporabi različnih laksativov in klizme, diagnozo s prisotnostjo *C. botulinum* v blatu potrdili šele 17. dan bolezni, do dokaza nevrotoksigenosti pa je preteklo nadaljnjih 14 dni, saj ustreznih molekularnih metod, ki so hitrejše in bolj občutljive kot biološki poskus, ki je bil pri našem bolniku negativen, v tistem času še ni bilo na voljo.<sup>29</sup>

Ker je pri obolelih dojenčkih ustrezen vzorec blata običajno težko pridobiti, se v primeru hujše ali hitro napredujoče klinične slike z zdravljenjem ne sme odlašati do mikrobiološke potrditve diagnoze. Zdravilo izbire pri botulizmu dojenčka, povzročenem s toksinom A ali B, so specifični humani imunoglobulini (BabyBIG®) za nevtraliziranje toksina, ki se sprošča iz črevesa v kri. Zdravilo je varno, zelo učinkovito in pomembno skrajša trajanje bolnišničnega zdravljenja ter potrebo po intenzivnem zdravljenju.<sup>21,30-32</sup> Delujejo zelo hitro in ostajajo v terapevtski koncentraciji v serumu vsaj 6 mesecev, kar omogoča tudi varno uporabo antibiotikov, saj je lahko *C. botulinum* prisoten v blatu še več mesecev po preboleli okužbi. Njihova razpolovna doba je, kot za vsa protitelesa, okoli 4 tedne.<sup>33</sup> Njihova glavna slabost je zelo visoka cena (46.000 USD–vir: <http://www.infantbotulism.org/>), zato se zelo redko uporabljajo zunaj ZDA, oziroma le v primeru hitro napredujoče klinične slike z veliko verjetnostjo potrebe po intenzivnem zdravljenju ali ob znakih dodatne bakterijske okužbe s potrebo po antibiotičnem zdravljenju. Protitelesa so ves čas na voljo preko internetne strani proizvajalca, ameriške organizacije IBTPP (Infant Botulism Treatment and Prevention Program). Glede na sorazmerno lahek potek bolezni pri našem bolniku se za uporabo specifičnih protiteles nismo odločili.

Dobro podporno zdravljenje je vsaj toliko pomembno kot vzročno. V času napredovanja bolezni je potrebno natančno spremljati življenjske znake. Potrebna je skrb za zaščito dihalne poti, v blagih primerih z dvignjenim vzglavjem, po potrebi pa z intubiranjem in dihalno podporo. Ob oslabiljenem sesalnem refleksu otroka hranimo po nazogastrični sondi. Parenteralno hranjenje se zaradi večjega tveganja za okužbo odsvetuje.

Glede na pomembno vlogo črevesne mikroflore v patogenezi bolezni, bi s svojim zavirajočim vplivom na rast potencialno patogenih črevesnih bakterij in na izboljšanje delovanja črevesne pregrade svoje mesto v zdravljenju lahko našle probiotične bakterije. Z ustreznimi raziskavami pa je treba ovrednotiti, kateri sevi bi bili za to primerni in učinkoviti. Prav tako bi morda v nekaterih primerih prišla v poštev še neraziskana možnost presaditve črevesne mikroflore.<sup>34</sup> Opisani deček je 7 tednov prejemal probiotične kapljice *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. Z gotovostjo lahko rečemo, da dajanje kapljic ni vplivalo na prisotnost *C. botulinum* v črevesju, saj je bila kultura blata ob kontrolnem pregledu 9 tednov po začetku bolezni še vedno pozitivna. Vseeno pa je možno, da je bilo s probiotičnim zdravljenjem povezano hitrejše okrevanje bolnika. Dokazano je namreč, da določene probiotične bakterije (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* DN114 G01 in *Saccharomyces boulardii*) ugodno vplivajo na potek črevesnih okužb, ki jih povzročajo sorodna bakterija *Clostridium difficile*.<sup>35,36</sup> Ker so oboleli dojenčki na prvi pogled videti hudo bolni in slabo odzivni ter je okrevanje zelo počasno, je potrebno tudi staršem nuditi ustrezno psihološko podporo. Pojasniti jim je treba, da je kljub drugačnemu videzu

otrokova zavest nemotena in bo ozdravitev ob odsotnosti zapletov popolna.

## Zaključek

Botulizem je pri dojenčku redka bolezen, ki lahko poteka s težko klinično sliko in verjetno večkrat ostane neprepoznana. Z opisom prvega kliničnega primera dojenčka v Sloveniji želimo opozoriti na njeno prisotnost tudi v slovenskem prostoru. S prepoznavo tipičnih znakov (zaprtje, oteženo hranjenje in postopno napredujoča mišična oslabelelost) ob ohranjenem socialnem stiku dojenčka lahko bolezen pravočasno prepoznamo tudi v primerih, ko ta napreduje hitro in lahko s takojšnjim ter učinkovitim zdravljenjem preprečimo resne in življenje ogrožujoče zaplete.

## Zahvale

- Verica Mioč, univ. dipl. mikrobiolog, Inštitut za varovanje zdravja, Republike Slovenije
- prof. dr. Milan Čižman, dr. med., Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana
- Jessica M. Khouri, M.D., Infant Botulism Treatment and Prevention Program, California Department of Public Health

## Literatura

1. Fenicia L, Anniballi F. Infant botulism. Ann Ist Super Sanita. 2009;45:134–46.
2. Koepke R, Sobel J, Arnon SS. Global occurrence of infant botulism, 1976–2006. Pediatrics 2008 ;122:73–82.
3. Lahuerta A. Reported infant botulism cases from European countries (2007–2012). ECDC; 2012.
4. Berginc Dolenšek A, Ožek B, Starič F, Kapš R, Patkovič Colarič J. Botulizem. Zdrav Vestn 2004;73:877–83.
5. Sonnabend OA, Sonnabend WF, Krech U, Molz G, Sigrist T. Continuous microbiological and pathological study of 70 sudden and unexpected infant deaths: toxigenic intestinal *Clostridium botulinum* infection in 9 cases of sudden infant death syndrome. Lancet 1985;1:237–41.
6. Barash JR, Tang TW, Arnon SS. First case of infant botulism caused by *Clostridium botulinum* type F in California. J Clin Microbiol 2005;43:4280–2.
7. Nevas M, Lindstrom M, Virtanen A, Hielm S, Kuusi M, Arnon SS, et al. Infant botulism acquired from household dust presenting as sudden infant death syndrome. J Clin Microbiol 2005;43:511–3.
8. Bianco MI, Luquez C, de Jong LI, Fernandez RA. Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. Int J Food Microbiol 2008; 121:357–60.
9. Nakano H, Yoshikuni Y, Hashimoto H, Sakaguchi G. Detection of *Clostridium botulinum* in natural sweetening. Int J Food Microbiol 1992 16: 117–21.
10. Nevas M, Hielm S, Lindstrom M, Horn H, Koivulehto K, Korkeala H. High prevalence of *Clostridium botulinum* types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. Int J Food Microbiol 2002; 72: 45–52.
11. Barash JR, Hsia JK, Arnon SS. Presence of soil-dwelling clostridia in commercial powdered infant formulas. J Pediatr 2010; 156: 402–8.
12. Arnon SS, Midura TE, Damus K, Thompson B, Wood RM, Chin J. Honey and other environmental risk factors for infant botulism. J Pediatr 1979;94: 331–6.
13. Moberg LJ, Sugiyama H. Microbial ecological basis of infant botulism as studied with germfree mice. Infect Immun 1979; 25: 653–7.

14. Burr DH, Sugiyama H. Susceptibility to enteric botulinum colonization of antibiotic-treated adult mice. *Infect Immun* 1982; 36:103–6.
15. Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics* 1983; 72:317–21.
16. Thompson JA, Glasgow LA, Warpinski JR, Olson C. Infant botulism: clinical spectrum and epidemiology. *Pediatrics* 1980 ;66:936–42.
17. Fenicia L, Franciosa G, Pourshaban M, Aureli P. Intestinal toxemia botulism in two young people, caused by *Clostridium butyricum* type E. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1381–7.
18. Skarin H, Segerman B. Horizontal gene transfer of toxin genes in *Clostridium botulinum*: Involvement of mobile elements and plasmids. *Mob Genet Elements* 2011; 1:213–5.
19. Arnon SS. Infant botulism. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL, editors. *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009. p. 1862–9.
20. Glauser TA, Maguire HC, Sladky JT. Relapse of infant botulism. *Ann Neurol* 1990; 28:187–9.
21. Arnon SS, Schechter R, Maslanka SE, Jewell NP, Hatheway CL. Human botulism immune globulin for the treatment of infant botulism. *N Engl J Med* 2006; 354:462–71.
22. Foran PG, Mohammed N, Lisk GO, Nagwaney S, Lawrence GW, Johnson E, et al. Evaluation of the therapeutic usefulness of botulinum neurotoxin B, C1, E, and F compared with the long lasting type A. Basis for distinct durations of inhibition of exocytosis in central neurons. *J Biol Chem* 2003; 278:1363–71.
23. Francisco AM, Arnon SS. Clinical mimics of infant botulism. *Pediatrics* 2007; 119:826–8.
24. Gutmann L, Gutierrez A, Bodensteiner J. Electrodagnosis of infantile botulism. *J Child Neurol* 2000; 15:630.
25. Anderson TD, Shah UK, Schreiner MS, Jacobs IN. Airway complications of infant botulism: ten-year experience with 60 cases. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 126:234–9.
26. Schreiner MS, Field E, Ruddy R. Infant botulism: a review of 12 years' experience at the Children's Hospital of Philadelphia. *Pediatrics* 1991; 87:159–65.
27. Mitchell WG, Tseng-Ong L. Catastrophic presentation of infant botulism may obscure or delay diagnosis. *Pediatrics* 2005; 116:436–8.
28. Lindstrom M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev* 2006 19: 298–314.
29. Fach P, Micheau P, Mazuet C, Perelle S, Popoff M. Development of real-time PCR tests for detecting botulinum neurotoxins A, B, E, F producing *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* and *Clostridium butyricum*. *J Appl Microbiol* 2009; 107:465–73.
30. Long SS. Infant botulism and treatment with BIG-IV (BabyBIG). *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26:261–2.
31. Chalk C, Benstead TJ, Keezer M. Medical treatment for botulism. *Cochrane Database Syst Rev* 2011: CD008123.
32. Arnon SS. Creation and development of the public service orphan drug Human Botulism Immune Globulin. *Pediatrics* 2007;119:785–9.
33. Midura TF. Laboratory aspects of infant botulism in California. *Rev Infect Dis* 1979;1:652–5.
34. Russell G, Kaplan J, Ferraro M, Michelow IC. Fecal bacteriotherapy for relapsing *Clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. *Pediatrics* 2010;126: 239–42.
35. Floch MH, Walker WA, Madsen K, Sanders ME, Macfarlane GT, Flint HJ, et al. Recommendations for probiotic use-2011 update. *J Clin Gastroenterol* 2011 Nov;45 Suppl:S168–71.
36. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organization Global Guidelines. Probiotics and prebiotics. October 2011 ed; 2011.