

Botulin i botulizam

Lubina - Jukić, Paula

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:480100>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-03**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Sveučilišni preddiplomski studij kemije

Paula Lubina-Jukić

Botulin i botulizam

Završni rad



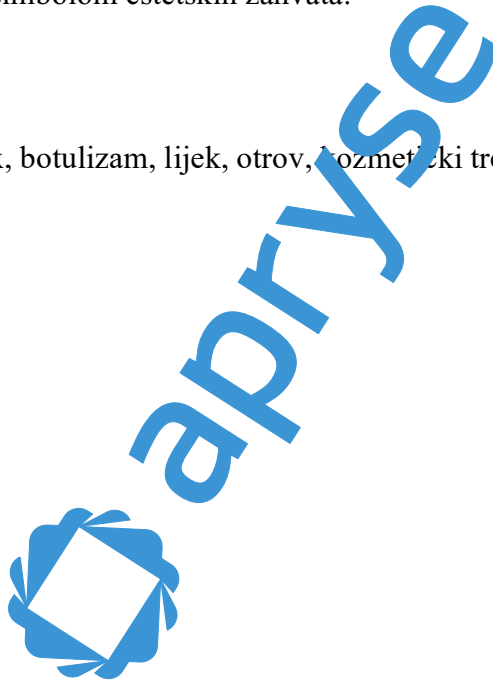
Mentor: izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić

Osijek, 2023.

SAŽETAK

Istraživanje o toksinima obuhvaća veliko područje toksikologije. Toksin botulin može rasti samo u uvjetima bez kisika, a proizvodi ga anaerobna bakterija *Clostridium botulinum*. Do pojave trovanja imenovanim toksinom dolazi uslijed konzumacije hrane u kojoj je prisutna toksična bakterija, ali se ona može unijeti u organizam i putem otvorenih, medicinski neadekvatno preveniranih rana. U ovom završnom radu opisan je botulin, najjači prirodni neurotoksin, čija je masa od nekoliko stotina grama dostatna za ubojstvo cijelog čovječanstva. Botulin je protein koji se veže na živčane stanice i blokira lučenje neurotransmitera acetilkolina. Posljedično dolazi do blokade prijenosa živčanog podražaja na mišiće i paralize mišića. Botulin je danas našao svoje mjesto u svijetu estetike te je od otrova koji sa sobom nosi smrt zbog respiratorne paralize postao simbolom estetskih zahvata.

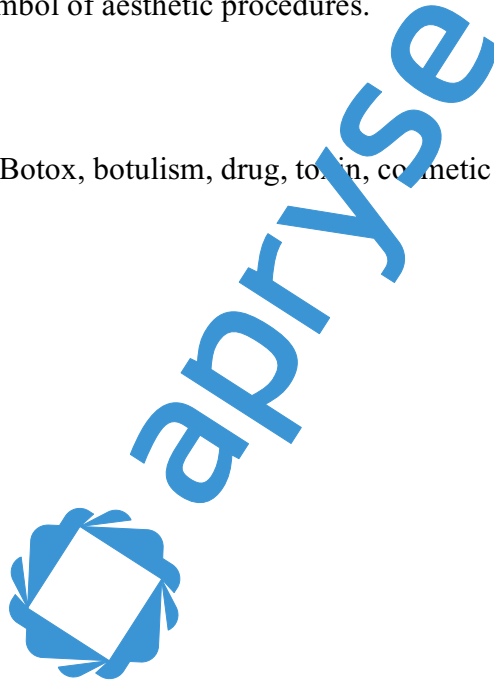
Ključne riječi: botulin, Botox, botulizam, lijek, otrov, kozmetički tretmani



ABSTRACT

Research on toxins encompasses the large field of toxicology. Botulinum toxin can only grow in conditions without oxygen, and it is produced by the anaerobic bacteria *Clostridium botulinum*. Poisoning with this toxin occurs due to the consumption of food containing toxic bacteria, but it can also enter the body through open, medically inadequately prevented wounds. This final paper describes botulinum, the strongest natural neurotoxin, which several hundred grams is sufficient to kill the entire humanity. Botulinum is a protein that binds to nerve cells and blocks the secretion of the neurotransmitter acetylcholine. As a result, nerve impulse transmission to the muscles is blocked, and muscle paralysis occurs. Today, botulinum has found its place in the world of aesthetics, and from being a toxin that brings death due to respiratory paralysis, it has become a symbol of aesthetic procedures.

Keywords: botulinum toxin, Botox, botulism, drug, toxin, cosmetic treatments



SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Otrovnosti tvari i njihovi učinci.....	2
3. Botulizam.....	3
3.1. Povijest.....	4
3.2. Etiologija.....	5
3.3. Epidemiologija.....	6
3.4. Klinička slika.....	7
3.5. Dijagnoza.....	8
3.6. Prevencija.....	10
4. Traumatski botulizam.....	11
5. Dojenački botulizam.....	12
6. Liječenje.....	14
7. Botulin kao biološko oružje.....	15
8. Botulin u medicini.....	16
9. Botox.....	17
10. Zaključak.....	19
11. Literatura.....	20



1. UVOD

Clostridium botulinum, anaerobna je bakterija koja proizvodi toksin botulin. Koliko je važno pratiti ovu bakteriju govori i činjenica kako je dovoljno samo nekoliko grama navedene da nestane veliki dio čovječanstva. Međutim, ova bakterija nema samo lošu stranu. Botulin je, kao Botox, našao široku primjenu i u estetskoj industriji. Ovaj bakterijski toksin najviše je pozornosti privukao kod vojnih toksikologa. S obzirom na to da u ratu neprijateljska vojska ne bira sredstva kako bi što više onesposobila neprijatelje, broj kemijskog i biološkog oružja raste. Često se primjenjuje u obliku supstanci koje mogu onečistiti vodu i hranu što dovodi do toksičnog djelovanja na veliki broj ljudi koje je potrebno njegovati jer su pogođeni toksinom. Ono što se uočilo tijekom proučavanja ovog toksina jest činjenica kako samo o dozi ovisi hoće li neka tvar biti lijek ili otrov. Tako sve poželjne učinke botulina proučava farmakologija, a sve one nepoželjne toksikologija.



2. OTROVNE TVARI I NJIHOVI UČINCI

Što bi bio otrov, a što ne, određuju učinci ispitivane tvari. Ispitivane tvari mogu biti štetne ili korisne, što znači da koncentracija tvari određuje i stupanj štetnih učinaka. Primjer za dokazivanje ove tvrdnje je kuhinjska sol. Dakle, ona je vrlo važna u čovjekovu životu i svakodnevno se konzumira. Međutim, pri unosu velikih doza navedene tvari, dolazi do akutnog trovanja. S druge strane, treba uzeti u obzir i činjenicu kako svi ljudi različito reagiraju što bi značilo da ono što nekome može biti štetno ili otrovno, drugome ne mora biti jer ima veći prag tolerancije na istu tvar. Zdrave osobe, a pri tome i mlađe životne dobi mogu lakše i bolje podnijeti veće količine soli u hrani. To nije slučaj s osobama kojima je funkcija bubrega smanjena pa bi u konačnici ista količina unesene soli u organizam za ove dvije skupine imala i različit učinak. S obzirom na to da je do sada pobliže objašnjeno razmišljanje o tvarima koje u isto vrijeme mogu različito djelovati, moguće je definirati otrove i njihove učinke. Otrovi su učinkovite doze određene tvari koja štetno djeluje na organizam bilo da se radi o jednokratnom ili dugotrajnom uzimanju određenih doza. Svaka tvar ima svoj poželjni učinak kojim se bavi grana farmakologije, ali i svoj nepoželjni učinak za koji je zadužena toksikologija. Ono što se za nekoga smatra poželjnim, drugome stvara nepoželjne učinke. Ova činjenica može se objasniti na primjeru primjene antropina. Kod preanestetičke manipulacije učinak je poželjan jer izaziva suhoću usta. Međutim, kod osoba sa smanjenom sposobnošću lučenja probavnih sokova, odnosno osoba oboljelih od čira učinak bi bio vrlo nepoželjan. Također, u osjetljivosti na kemikaliju javljaju se velike interindividualne razlike koje se proučavaju praćenjem nuspojava. Toksikologija se i bavi takvom vrstom proučavanja ritmičkih učinaka, a s obzirom na to da se prati vrijeme pojavljivanja u odnosu na dozu, učinci mogu biti odgođeni ili brzi. Kod odgođenih učinaka latencija djelovanja može biti izrazito duga, dok kod brzih učinaka otrov djeluje trenutačno. Svi ti učinci mogu biti popravljivi ili ne, odnosno prolazni ili neprolazni. Kod prolaznog učinka otrov blokira nekakav proces u organizmu ili ubrzava njegovo djelovanje ovisno o dozi, jer učinak slabi kako slabi doza unesene tvari u organizam. Neprolazni učinci predstavljaju oštećenja koja se više ne mogu obnoviti i trajna su [1].

3. BOTULIZAM

Botulizam je rijetka, ali vrlo teška bolest uzrokovana toksinom koji napada tjelesne živce i uzrokuje poteškoće s disanjem, paralizu mišića te naposljetku i smrt. Ovaj toksin stvaraju bakterije *Clostridium botulinum* (Slika 1.) te ponekad *Clostridium butyricum* i *Clostridium baratii*. Ove bakterije mogu proizvesti toksin u hrani, ranama i crijevima dojenčadi. Bakterije koje stvaraju toksin botulin prirodno se nalaze na mnogim mjestima, ali vrlo rijetko uzrokuju bolesti. Naime, navedene bakterije stvaraju spore koje djeluju poput zaštitnih omotača. Spore pomažu bakterijama da prežive u okolišu, u normalnim i u ekstremnim uvjetima. One obično ne uzrokuju bolesti kod ljudi, čak ni kada se pojedu. Međutim, pod određenim uvjetima te spore mogu rasti i razvijati se u jedan od najsmrtonosnijih toksina na svijetu. Okolina u kojoj spore mogu rasti i stvarati toksin, mora sadržavati nizak udio kisika ili biti u potpunosti bez kisika (anaerobna). Također, temperatura mora biti unutar određenog raspona te u okolini moraju biti prisutni određena količina vode i malo soli. Na primjer, neprikladno konzervirana domaća hrana ili fermentirana hrana može pružiti pogodne uvjete za razvijanje spora i stvaranje botulin toksina. Ljudi koji konzumiraju takvu hranu mogu se ozbiljno razboljeti i umrijeti ukoliko brzo ne dobiju odgovarajući medicinski tretman [2].



Slika 1. Trodimenzionalni prikaz bakterije *Clostridium botulinum* [2].

Bakterija *Clostridium botulinum* primarno stanište ima u gastro-intestinalnom traktu sisavaca, riba i ptica, ali i u tlu. Ova bakterija kod čovjeka uzrokuje nekoliko bolesti, a neke su botulizam, tetanus, plinska gangrena, ulcerativni kolitis te trovanja hranom uzrokovana prisutnošću bakterija. Botulin kao neurotoksin pojavljuje se u osam tipova, a to su A, B, C, D, E, F, G i H. Oni imaju različite složene proteinske strukture. Sintetiziraju se kao makromolekularni kompleksi od 300 do 900 kDa, a sadrže jednolančani protein od 150 kDa i jedan ili više netoksičnih proteina. Toksini imaju vrlo slabu toksičnost kada se nalaze u formi jednolančanog

polipeptidnog lanca. Stoga je potrebna njihova aktivacija proteazama što rezultira nastankom dva manja polipeptidna lanca [3].

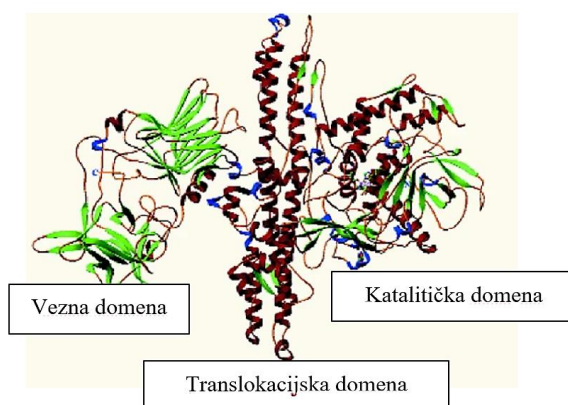
Postoji više vrsta bolesti botulizma. Botulizam dojenčadi se razvija ako spore bakterije dospiju u crijeva djeteta gdje rastu i proizvode toksin. Spore bakterija također mogu ući u rane i stvoriti toksin. Botulizam rana pojavljuje se kod ljudi nakon traumatskih ozljeda ili operacija. Do botulizma uzrokovanog hranom može doći konzumacijom hrane koja je kontaminirana botulin toksinom. Uobičajeni izvori botulizma koji se prenosi hranom su domaća jela nepropisno konzervirana no i kupljena hrana u trgovini može biti kontaminirana. Posljednja vrsta, jatrogeni botulizam nastaje kao posljedica prekomjerne potrošnje botulina u kozmetičke svrhe (prevencija bora) ili medicinske svrhe (prevencija migrenskih glavobolja) [2].

3.1. Povijest

Bakteriju *Clostridium botulinum* prvi je otkrio belgijski znanstvenik Emile Pierre van Ermengem nakon izbijanja botulizma u Belgiji 1897. godine [4]. Naime, trideset i četiri osobe su konzumirale šunku i oboljele od navedene bolesti, a od njih tri preminule od kobnih posljedica. Belgijanac je došao do zaključka da pronađene spore u šunki proizvode toksin koji uzrokuje paralizu mišića i smrt kod ljudi. Međutim, bolest botulizam se prvi puta spominje 1820. godine kada je liječnik Justinus Kerner iznio svoje sumnje oko trovanja dvjesto trideset ljudi pokvarenim kobasicama. Riječ botulizam potječe od latinske riječi *botulus* što znači kobasica [5]. 1920-ih godina, znanstvenici s Kalifornijskog sveučilišta u San Franciscu prvi su pokušali izolirati toksin botulin. Međutim, trebalo je dvesto godina prije nego što je dr. Edward Schantz konačno izolirao toksin u kristalnom obliku. Godine 1970. znanstvenici počinju koristiti toksin botulin za liječenje strabizma (bolesti pri kojoj pokrete jednog oka drugo oko ne prati paralelno). Dok su testirali ovaj tretman na majmunima, znanstvenici su primijetili da je toksin smanjio bore na glabeli. Glabela je koža između obrva i iznad nosa majmuna. Nakon što se botulin pokazao uspješnim u liječenju strabizma, tvrtka Allergan je bila prva koja je licencirala tretmane i označila toksin kao Botox. Nakon toga, Botox je dobio odobrenje za različite medicinske i kozmetičke namjene. Ovaj toksin je najpoznatiji jer je to bila prva mikrobna injekcija korištena za liječenje bolesti u povijesti. Ubrizgavanje bakterijskih produkata u ljudsko tijelo novi je izum [4]. Godine 1943. prvi se puta pojavljuje botulizam uzrokovan infekcijom traumatskih ozljeda odnosno botulizam rana, dok se 1976. godine pojavljuje botulizam kod dojenčadi. U današnje vrijeme, botulizam izaziva sve veću pozornost, ali ne zbog učestalosti jer je vrlo rijetka bolest, nego zbog povećanja smrtnosti. Broj umrlih u odnosu na broj oboljelih je izrazito porastao [5].

3.2. Etiologija

Anaerobna bakterija *Clostridium botulinum* stvara temperaturno otporne spore koje su ujedno i uzročnici bolesti botulizma. Navedena bakterija djeluje unutar četiri klostridijske fiziološke grupe imenovane rimskim brojevima od I do IV. Unutar skupine I nalaze se toksini A, B ili F koji djeluju proteolitički, dok se unutar skupine II nalaze toksini E, B ili F koji pak djeluju neproteolitički. Toksine C i D stvara skupina III, a toksin G skupina IV. Toksini s proteolitičkim djelovanjem rezultiraju razgradnjom hrane te stvaranjem neugodnog užeglog mirisa i okusa. Naime, uslijed otpuštanja plina toksina botulina, hrana mijenja svoju boju što upućuje na činjenicu da hrana više nije povoljna za konzumaciju odnosno da je pokvarena. S druge strane, neproteolitičke skupine djeluju suprotno što znači da kontaminirana hrana neće promijeniti svoj postojeći izgled. Vrlo je važno napomenuti kako je djelovanje bakterija moguće u samo određenim uvjetima. Spore botulin toksina su temperaturno otporne što znači da bi podnjele kuhanje pri temperaturi vrenja (100 °C) i do nekoliko sati. Taj proces bi utjecao povoljno na stvaranje anaerobne okoline i razvoj klostridija. Međutim, zakiseljavanjem i soljenjem hrane, njihova temperaturna otpornost opada. Također, za aktivaciju otpornih spora potrebna je temperatura viša od 120 °C odnosno korištenje vrućih pare. Kada je pH viši od 4,6, a temperatura doseže do 37 °C, veća je vjerojatnost razvika spora *C. botulinum*. Dakle, kako bi došlo do razvitka klostridija u ljudskom organizmu, moraju se ostvariti svi navedeni uvjeti. Neurotoksin botulin ima strukturu jednonlačanog polipeptidnog lanca (Slika 2.) koji ima vrlo slabu moć [5]. U njegovoj strukturi su prisutne tri strukturne domene, a to su vezna, translokacijska i katalitička domena [6]. Potrebna je aktivacija toksina proteolitičkim cijepanjem. Enzim proteaza pogodno djeluje na skupinu I koja je proteolitička, dok je za skupinu II, koja djeluje neproteolitički, potreban egzogeni enzim tripsin. Rezultat proteolitičkog cijepanja je nastanak dva polipeptidna lanca povezana disulfidnim vezama [5].



Slika 2. Struktura neurotoksina Botulina [6].

3.3. Epidemiologija

Trovanja hranom uzrokovana botulizmom mogu se pojaviti diljem svijeta. Ono po čemu se takva trovanja razlikuju su vrsta hrane kao prehrambene namirnice koja sadrži soj *C. botulinum* i težina bolesti uzrokovane navedenim sojem. Soj toksina tipa B koji djeluje neproteolitički, glavni je uzročnik trovanja domaćom sušenom šunkom i to na području zapadne i srednje Europe. Botulizam na tom području nije toliko jak i sporije se razvija za razliku od botulizma u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). U SAD, za širenje botulizma je većinom odgovoran soj toksina tipa A koji djeluju proteolitički. Širenje bolesti u navedenom području nastaje zbog konzumacije nepravilno konzerviranog povrća, voća i začina. Na području Japana i Kanade pojavljuje se soj toksina E koji je odgovoran za kontaminaciju morske hrane koja je konzervirana. Prehrambena namirnica koja je najčešći medij za širenje bolesti u Kini jest fermentirani grah u rasolu koji sadrži toksine sojeva A i B. U današnje vrijeme, botulizam nastao zbog industrijski nepropisno konzervirane hrane, gotovo je iskorijenjen zbog razvoja tehnologije i strogih pravila pripreme takve hrane. No, 1996. godine u Italiji se dogodilo širenje botulizma uzrokovano sirom Mascarponeom što je rezultiralo sa sedam slučajeva oboljelih u Italiji i tri slučaja u Dubrovniku. Uzročnik bolesti koji je pronađen kod oboljelih ljudi i u navedenom siru jest bakterija *Clostridium botulinum* soja tipa A. Do navedene zaraze klostridijima dovela je neadekvatna proizvodnja sira [5]. Trovanje uzrokovano neurotoksinom botulinom dogodilo se i u Splitu u vrijeme Božića 2011. godine. Naime, skupina ljudi konzumirala je pršut iz Dalmatinske zagore napravljen u seoskom domaćinstvu. Kod većine ljudi bili su prisutni blaži simptomi bolesti, no nekolicina njih imala je izrazito tešku kliničku sliku. Hitno su premješteni na zarazni odjel bolnice, a simptomi su se očitovali u obliku povraćanja, smetnji neurološke prirode, poremećaja vida, gubitka koordinacije pokreta. Do trovanja je došlo uslijed konzumacije termički neobrađenog mesa. Također, ispitivanja provedena u laboratorijima, osim što su dokazala prisutnost bakterije *Clostridium botulinum*, dokazala su i postojanost loših higijenskih uvjeta u kojima je takav pršut nastao [7]. Epidemije botulizma su rijetke, ali predstavljaju problem koji zahtjeva brzo prepoznavanje i učinkovito liječenje pacijenata. Uspješno liječenje značajno ovisi o ranoj dijagnozi i brznoj primjeni botulin antitoksina. Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) bavi se nadzorom i otkrivanjem epidemija koje predstavljaju javnozdravstveni hitni slučaj. Glavni alat WHO za ove aktivnosti nadzora, koordinacije i odgovora jest korištenje Međunarodne mreže tijela za sigurnost hrane (engl. *International Food Safety Authorities Network*, INFOSAN) koja povezuje nacionalna tijela u državama članicama zadužena za promatranje sigurnosti hrane. Navedenom

mrežom zajednički upravljaju WHO i Organizacija za prehranu i poljoprivredu (engl. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO). Naime, odgovor WHO temelji se na metodologiji procjene rizika koja razmatra je li izbijanje epidemije prirodno, slučajno ili namjerno izazvano. Također, navedena organizacija postavlja znanstvene procjene kao osnovu za međunarodne standarde sigurnosti hrane, smjernice i preporuke koje je razvila komisija *Codex Alimentarius*. Važno je napomenuti kako koordinira međunarodne agencije, nacionalne laboratorije i zračne prijevoznike budući da su oni odgovorni za zalihe opreme, materijala i botulin antitoksina. Dakle, rad WHO vezan za epidemiju botulizma ima veliki međunarodni značaj [8].

3.4. Klinička slika

Kod botulizma koji se prenosi hranom simptomi obično počinju 18 do 36 sati nakon konzumiranja kontaminirane hrane. Svi simptomi proizlaze iz paralize mišića uzrokovane toksinom botulinum. Ako se ne liječi, bolest može napredovati i simptomi se mogu pogoršati što rezultira potpunom paralizom nekih mišića, uključujući i one koji se koriste u disanju i pokretanju udova. Osobe s botulizmom možda neće imati sve iste simptome u isto vrijeme [2]. Kod trećine bolesnika simptomi mogu biti gastrointestinalne prirode (dijareja, grčevi, povraćanje i mučnina), no neurološki simptomi su oni kojima bolest obično počinje, a očituju se nejasnim vidnim poljem zbog spuštenog kapka (Slika 3.). Dolazi do oštećenja simpatičkog i parasimpatičkog živčanog sustava. Bolest je progresivna i teška. Kad neurotoksin zahvati kranijalne živce dolazi do otežanog govora, kao i gutanja i mišići ždrijela postaju slabi te na kraju dolazi do respiratorne insuficijencije. Umjetna respiracija od 58 dana nužna je osobama oboljelim od toksina tipa A, dok je oboljelima od toksina tipa B dovoljna svega 26 dana. Iako su pacijenti ponekad pospani pa čak i uplašeni, njihova svijest i orijentacija su sačuvane, no može doći do teške opstipacije, a onda dolazi do paralitičnog ileusa. U konačnici, zbog svih navedenih paraliza nastupa smrt [5]. Učestalost botulizma je niska kao i stopa smrtnosti koja se javlja u 5 do 10 % slučajeva [8].



Slika 3. Paraliza očnog kapka [9].

3.5. Dijagnoza

Prilikom pojave prvih simptoma, iznimno je nužan posjet liječniku. Liječnik će provesti nekoliko testova koji uključuju snimanje mozga, pregled spinalne tekućine i test funkcije živaca i mišića. Međutim, navedeni testovi ne moraju nužno ukazivati na neurotoksin botulin. U tom slučaju, potrebne su daljnje pretrage odnosno laboratorijski testovi. Neki simptomi nisu dovoljan dokaz bolesti botulizma jer se oni javljaju i kod drugih bolesti kao što su Guillain-Barréov sindrom, meningitis, moždani udar pa čak i kod predoziranja opioidima [2]. Postavljanje dijagnoze veliki je problem te može biti pogrešno postavljena pri čemu bolest ostaje neprepoznata. Kako bi sigurno postavili dijagnozu, liječnici posežu za pokusima na miševima. Koriste se inokulacijom odnosno ubrizgavanjem zaraznih uzročnika, seruma, stolice ili uzorka hrane u organizam miševa. Miševi koji prime serum toksina botulina uginu u razdoblju između 24 i 48 sati, dok oni koji prime zaštitni antiserum prežive. Utrniliti se u 75 % slučajeva toksin se dokaže u serumu oboljelih. Pronalazak toksina u stolici pacijenta je vrlo rijedak slučaj. Kako bi se postavila dijagnoza potrebno je pronaći toksin u serumu oboljelih, a ne samo spore. U današnje vrijeme, postoje i *in vitro* pokusi, no nisu se pokazali uspješnim u pronalasku toksina. U postavljanju dijagnoze također su važni takozvani elektro-pokusi. Pomoću elektrofiziološkog pokusa može se ustanoviti kako živci nisu oštećeni djelovanjem bolesti. Jedna od najvažnijih metoda je elektromiografija pomoću koje se mjeri akcijski potencijal mišića. Kod oboljelih ljudi rezultati elektromiografije pokazuju smanjene amplitude potencijala zahvaćenog mišića. Ponekad, svi provedeni nalazi poput broja leukocita, urina, cerebrospinalnog likvora i krvnih enzima mogu biti uredni, a bolest još uvijek prisutna [5]. Nakon kliničke dijagnoze, antitoksin treba primijeniti što je prije moguće. Rana primjena učinkovita je u smanjenju stope smrtnosti. Teški slučajevi botulizma zahtijevaju potpuno liječenje, dok se kod blažih oblika bolesti može primijeniti kućna njega. Antibiotici u liječenju botulizma nisu potrebni osim u slučaju botulizma rana. Cjepivo protiv botulizma postoji, ali se vrlo rijetko koristi. Njegova učinkovitost nije u potpunosti procijenjena. Naime, u nekoliko slučajeva bile su prisutne negativne nuspojave kod oboljelih ljudi [8]. Budući da postoji mnogo različitih stanja koja često dijele slične simptome, potrebno je napraviti diferencijalnu dijagnozu koja predstavlja popis mogućih stanja koja bi mogla uzrokovati navedene simptome. Diferencijalna dijagnoza nije konačna dijagnoza već korak prije utvrđivanja uzroka simptoma. Takva vrsta dijagnoze je potrebna kada liječnik ne može odrediti o kojoj bolesti se radi jer simptomi ukazuju na više bolesti. Potrebno je pregledati medicinsku povijest kako bi se ustanovilo jesu li simptomi povezani s prethodnim zdravstvenim problemima i već dijagnosticiranim stanjima. Nakon procjene, liječnik može naručiti dodatne

laboratorijske pretrage kako bi se potvrdila dijagnostička teorija. Dijagnostički proces se nastavlja naručivanjem testova za uklanjanje potencijalnih stanja na popisu diferencijalne dijagnoze. Navedeni testovi će dovesti do konačne dijagnoze [10]. Iako prvobitna dijagnoza može upućivati na bolesti poput moždanog infarkta, raznih neuroloških poremećaja i mijastenije gravis, uvijek treba misliti na botulizam. Dijagnostički postupak olakšat će, već spomenuti, manje složeni pokusni testovi na miševima. Što se tiče dojenačkog botulizma, bolesti koje imaju slične simptome s navedenim bolešću su meningitisi, neonatalna mijastenija gravis, sepse, infekcije organofosfornim spojevima, encefalopatije i Guillain-Barréov sindrom. Bolesti koje su navedene razlikuju se od botulizma prema slijedećim parametrima: leukocitoza i temperature prate sepsu, patološki nalaz u cerebrospinalnom likvoru karakterističan je za meningitis, a testovi u krvi dat će odgovor za trovanje i encefalopatiju [5].

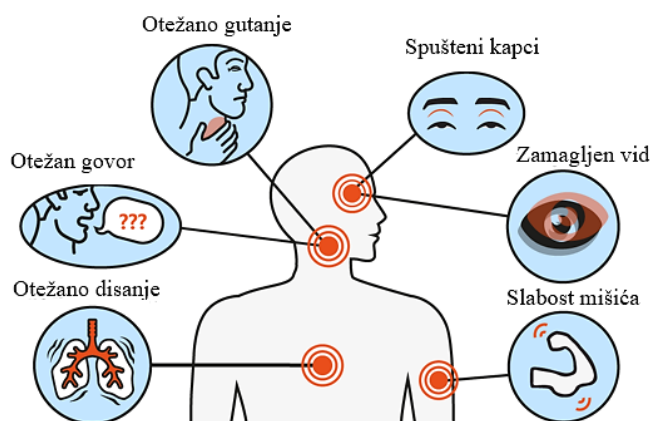
3.6. Prevencija

Mnogi slučajevi botulizma mogu se na vrijeme spriječiti i prekinuti proces razvoja bolesti. Botulizam koji se prenosi hranom je rijetka, ali ozbiljna bolest uzrokovana konzumiranjem hrane koja je kontaminirana toksinom botulinom. To je obično nepravilno konzervirana i fermentirana odnosno nedovoljno obrađena hrana. Hrana s niskim udjelom kiseline čiji je pH oko 4,6 najčešći je izvor bolesti, to su šparoge, grah, cikla, kukuruz, krumpir, smokve, sve vrste mesa te riba i plodovi mora. Vrlo je važno pravilno čuvati domaću konzerviranu hranu. Nakon sigurne pripreme potrebno je naznačiti datum proizvodnje na staklenci i pohraniti je na hladnom tamno mjesto. Najsigurnije je potrošiti pripremljenu konzerviranu hranu unutar jedne godine. Prije konzumiranja, važno je provjeriti moguća oštećenja ili sumnje na kontaminaciju. Ako je staklenka napukla, ima izbočine ili njezin sadržaj curi. S druge strane, čak i staklenke koje izgledaju u skladu s pravilima, mogu sadržavati kontaminiranu hranu. Ako staklenka prska tekućinom ili pjenom prilikom otvaranja ili je pak hrana promijenila boju i miris, staklenka je kontaminirana i treba ju baciti [2]. S kontaminiranom hranom treba postupati oprezno kako bi se spriječio slučajni kontakt životinja i ljudi s toksinom botulinum. Naime, prilikom rukovanja zagađenom hranom preporučeno je nošenje rukavica i pohrana takve hrane u vrećice koje se mogu zatvoriti. Vrećicu treba baciti u kantu za smeće koje se ne može reciklirati izvan kuće i doći u dohvat drugih ljudi i kućnih ljubimaca. Također, kontaminirana hrana se ne smije baciti u odvode i kantu za smeće. Nakon pravilne pohrane, važno je dezinficirati sve što je bilo u kontaktu s navedenim.

Ukoliko dođe do nezgode s prolivenom kontaminiranom hranom u kućanstvu, potrebno je koristiti otopinu izbjeljivača te na kraju baciti spužve, krpe i sve što se koristilo u suzbijanju problema [2]. U svrhu sprječavanja nastanka kontaminirane hrane, moraju se poduzeti neke preventivne mjere. Pranjem ruku sapunom i vodom ispiru se klice toksina, a to sprječava i širenje drugih bolesti. Prilikom pripreme hrane treba koristiti tradicionalne metode koje omogućuju cirkulaciju zraka te izbjegavati korištenje plastičnih posuda. Vrlo je važno da se svježi zrak kreće oko hrane koja se fermentira jer se botulizam razvija u anaerobnom okruženju. Fermentacija hrane treba trajati duže i izvoditi se na vrlo niskoj temperaturi. Ako se konzervirana hrana drži na hladnom, spriječit će se razvitak bolesti. U SAD, najčešći uzrok izbijanja botulizma je konzumiranje domaćeg nepravilno konzerviranog povrća. Od 1996. do 2014. godine prijavljeno je gotovo 210 slučajeva trovanja botulinom od kojih je 43 uzrokovano konzerviranim povrćem. Aljaska je država koja ima najviše slučajeva botulizma koji se prenosi hranom. Od 1950. do 2017. godine više od 350 ljudi na Aljasci je oboljelo od botulizma, a njih 24 je umrlo. Ljudi obično oboljevaju konzumirajući tradicionalnu hranu domorodaca Aljaske kao što su fermentirane riblje glave, riblja jaja, dabrov rep, peraje, tuljana i morža te tuljanovo ulje [2]. S druge strane, neurotoksin *Clostridium botulinum* nema mogućnost razmnožavanja u suhom mesu koje je konzervirano u salamuri jer ono sadrži gotovo 10% soli. Naime, spore toksina ne mogu se razvijati u okruženju koje je slano. Veliki problem predstavlja zamrznuta hrana koju ljudi konzumiraju nakon odmrzavanja i to nekoliko dana kasnije. U tom periodu, prilikom držanja hrane na sobnoj temperaturi, mogući su razvitak bacila i pojava bolesti konzumiranjem takve hrane. Djelatnici u bolnicama su često izloženi oboljevanju jer su u stalnom kontaktu s navedenim te primaju cjepivo. Prevencija pojave botulizma kod dojenčadi ne postoji budući da se klice toksina pojavljuju posvuda. Domaći botulizam povezan je s konzumacijom meda. Jedina preventivna mjera koja je smanjila stopu oboljevanja dojenčadi je sprječavanje konzumacije meda kod vrlo male djece [5]. U skladu s navedenim preventivnim mjerama, WHO je osmislila metodu pet ključeva za sigurniju hranu. Metoda služi kao osnova za sve obrazovne programe za obuku osoba koje rukuju hranom te za edukaciju potrošača. Posebno je važna za sprječavanje trovanja hranom neurotoksinom botulinom, ali i drugim toksinima. Metoda uključuje držanje hrane čistom, odvajanje sirove i kuhane hrane, temeljito kuhanje, čuvanje hrane na sigurnim temperaturama te korištenje vode koja je u potpunosti sigurna [8].

4. TRAUMATSKI BOTULIZAM

Traumatski botulizam ili botulizam rana je ozbiljna bolest koja nastaje kada spora *Clostridium botulinum* dospije u ranu i razvije toksin. Toksin napada živce u organizmu, a to izaziva otežano disanje, slabost mišića pa čak i smrt. Uslijed oboljenja traumatskim botulizmom potrebna je primjena antitoksina. Antitoksin može spriječiti toksin da uzrokuje više štete, ali ne može poništiti već učinjenu štetu organizmu. Čak i nakon primanja antitoksina, pacijent je primoran na hospitalizaciju u dužem vremenskom periodu. Simptomi botulizma rana obično se pojavljuju nekoliko dana nakon infekcije odnosno izloženosti kontaminiranim lijekovima, a ne odmah. Razlog tomu je činjenica da toksinu treba duže vremena da razvije klice u tijelu i proizvede toksin. Simptomi su vrlo slični kao i kod bolesnika koji imaju botulizam uzrokovan hranom (Slika 4.). Neki od simptoma su zamagljen i dupli vid, spušteni kapci, nerazgovjetan govor, poteškoće s gutanjem uslijed oticanja jezika, suhoća u ustima, šušljine te slabost mišića. Kako vrijeme odmiče, bolest napreduje, a tako i simptomi koji uključuju poteškoće s disanjem i paralizu mišića. Ljudi koji pod kožu ili u mišić injektiraju nedopuštene supstance odnosno drogu, imaju veći rizik oboljenja od botulizma rane. Svake godine u SAD oko 20 ljudi dobije dijagnozu botulizma rane. Većinu slučajeva uzrokuje kontaminacija heroina crnog katrana međutim, još uvijek nije otkriveno kako se crni katran heroin kontaminira bakterijom koja razvija botulizam. Znanstvenici pretpostavljaju, budući da spora obitava u tlu, da je velika vjerojatnost kontakta prilikom proizvodnje ili transporta opojnih sredstava. Postoji mogućnost oboljenja čak i prilikom dijeljenja opreme za injektiranje s drugom osobom, ali botulizam kao bolest nije zarazna [2]. Traumatski botulizam također može biti izazvan kod rana koje su zagađene zemljom ili pak tkiva koja su nagnječena. S druge strane, rane mogu izgledati sasvim u redu i ne odavati znakove infekcije. Infekciju uzrokuje toksin botulin tipa A ili tipa B. Bolest uglavnom pogađa muškarce mlađe životne dobi, a vrlo rijetko žensku populaciju [5].



Slika 4. Simptomi traumatskog botulizma [11].

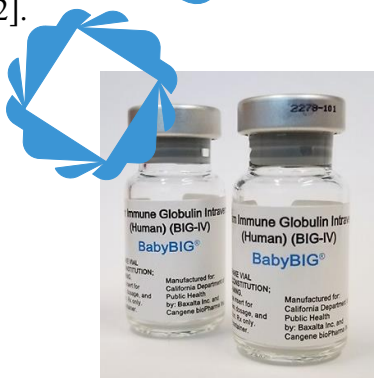
5. DOJENAČKI BOTULIZAM

Dojenački botulizam je vrsta crijevne toksemije. Bolest nastaje nakon što spore bakterije *Clostridium botulinum* dospiju u debelo crijevo dojenčeta i proizvedu neurotoksin. On se pak veže na živčane završetke što rezultira paralizom mišića. Dojenče može razviti simptome kao što su problemi s probavnim sustavom, tromo zjenice, smanjeni refleksi, problemi s hranjenjem te poteškoće s disanjem. Slika 5. prikazuje navedene simptome dojenačkog botulizma [2].



Slika 5. Pacijent s izraženim simptomima dojenačkog botulizma [2].

Za konačnu dijagnozu botulizma dojenčadi potreban je uzorak stolice. Ako rezultati upućuju na botulizam, važno je brzo reagirati i pružiti dojenčetu antitoksin pod nazivom BabyBIG (Slika 6.). Botulin toksin se još uvijek može pronaći u uzorku stolice nakon primjene antitoksina jer BabyBIG ne ubija *Clostridium botulinum* već neutralizira toksin prisutan u krvi što rezultira kraćim boravkom u bolnici [2].



Slika 6. Antitoksin BabyBIG [2].

Dojenački botulizam je prisutan kod djece mlađe od šest mjeseci, a većinom pogađa djecu staru dva mjeseca. Trovanje je ponekad uzrokovano zemljom, a češće građevinskim radovima u blizini mjesta stanovanja dojenčeta. Uzročnici su mikroorganizmi proteolitičkog djelovanja, a oni razvijaju toksine tipa A i B. Ponekad su prisutni slučajevi uzrokovani spojem toksina tipa B i F u omjeru 9:1. Bakterija *Clostridium baratii* luči toksin tipa F.

Dojenački botulizam je bolest koja se posebno prati u Zavodu za javno zdravstvo Hrvatske još od 1987. godine, a zabilježeno je 11 slučajeva [5]. Osim Zavoda za javno zdravstvo Hrvatske, prehranu djece prati i Ministarstvo zdravstva. Na svojim je stranicama objavilo Pravilnik o prehrani djece u vrtićima, a na istim se stranicama med pojavio kao nepoželjan proizvod. Stavljene su u istu skupinu prehrambenih proizvoda kao i sol, gljive i određeni začini. Med se pokazao kao namirnica koja ima veliku energetska vrijednost, a uslijed takve velike koncentracije stradavaju dječji zubi te se može pojaviti botulizam kod djece do navršene prve godine starosti. Prvi simptomi dojenačkog botulizma javljaju se između 18 i 36 sati od prvog kontakta s bakterijom *Clostridium botulinum*. Ono što je važno jest točna dijagnoza kako bi se moglo pravovremeno reagirati. Ukoliko se s liječenjem počne na vrijeme, bolest neće napredovati u negativnom smjeru. No, ako dođe do paralize respiratornog sustava, stanje dojenčeta može biti izrazito pogubno. Spore bakterije prisutne su posvuda što uključuje namirnice kao i predmete u domaćinstvu te prašinu. Mogu se pojaviti i u najčišćim prostorima. S obzirom na to da djeca te dobi nemaju u potpunosti razvijen sustav probavnih organa, spora koja dospije u njihov želudac vrlo brzo razvija toksin, a sve zbog manjka želučane kiseline. Naime, dojenački želudac nema dovoljan broj dobrih bakterija koje bi štitile od loših i zato je njihov organizam pogodno tlo za razvoj botulizma. Ono što je vrlo važno za napomenuti jest činjenica kako je botulin u usporedbi s otrovom kobre jači čak nekoliko tisuća puta. Istrživanja pčelara diljem SAD-a dovode med i dojenački botulizam u vezu. Točna je namirnica kako se med ubraja u zdrave namirnice, no problem nastaje kada mladi roditelji taj isti zdrav med daju svom dojenčetu ne razmišljajući o medu kao sirovom proizvodu u kojem se mogu nalaziti spore bakterije. Tada taj med gubi svoje antimikrobno svojstvo. Kada se bakterija nađe u uvjetima koji ne odgovaraju za njezin razvitak, ona tvori spore pomoću kojih može preživjeti. S druge strane, čim spora dospije u uvjete povoljne za njezin daljnji razvoj, proklije i stvara bolest. Osim što med pripada skupini ugljikohidrata, važno je naglasiti kako je to super zasićena otopina u kojoj je prisutan proces osmoze odnosno prijelaz otapala iz mjesta manje koncentracije do mjesta veće koncentracije tvari kroz membranu koja je polupropusna. Prema tome, med će svojim osmotskim djelovanjem dehidrirati živu bakteriju i spječiti njezino djelovanje. No, realnost je malo drugačija kada se radi o sporama bakterije budući da one sadržavaju vrlo malo vode koju nije moguće izvući procesom osmoze te ostaju žive. Stoga, vrlo je važno pridržavati se uputa i izbjegavati davanje meda djeci u mlađoj životnoj dobi. Razvijanje spora bakterije *Clostridium botulinum* u medu moguće je zaustaviti pravilnom dezinfekcijom pčelinjaka i provedbom sigurnosnih mjera čistoće [12].

6. LIJEČENJE

Botulizam je uzrokovan toksinom koji napada tjelesne živce i uzrokuje poteškoće s disanjem, paralizu mišića, čak i smrt. U svrhu sprječavanja daljnjeg štetnog razvitka bolesti, pacijenti primaju antitoksin. Razvoj antitoksina i moderne medicinske skrbi doveo je do manjeg postotka smrtnosti osoba s botulizmom. U prošlosti stopa smrtnosti bila je mnogo veća. Od 100 oboljelih ljudi od botulizma, gotovo njih 50 umrlo je uslijed kobnih simptoma. U današnje vrijeme, umire manje od 5 ljudi na svakih 100 oboljelih. Čak i uz antitoksine i intenzivnu medicinsku njegu, neki ljudi umiru od respiratornog zatajenja, a neki od infekcija uzrokovanih dugom paraliziranošću. Pacijenti koji prežive botulizam susreću se s umorom i kratkim dahom godinama nakon izlječenja [2]. Prilikom pojave prvih simptoma, pacijente je potrebno smjestiti na odjel intenzivne njege gdje će se pratiti njihov vitalni kapacitet i respiratorne motorne funkcije. Umjetna respiracija primjenjuje se kada dođe do naglog smanjenja vitalnog kapaciteta. Kod pacijenata oboljelih od botulizma hrane važno je primijeniti laksativ kako bi se uklonio crijevni toksin koji se još nije apsorbirao. Ukoliko je od konzumacije kontaminirane hrane prošlo nekoliko sati, najlakše je izvršiti ispiranje želuca. Ponekad ispiranje želuca uslijed trovanja hranom nije dovoljno pa je korisno izbaciti toksin putem povraćanja uz konzumaciju natrijeva hidrogenkarbonata ili aktivnog ugljena. Antitoksin se primjenjuje odmah u obliku konjskog trovalentnog seruma koji u sebi ima antitoksin tipa A, B i E. Budući da se radi o jakom antitoksinu, testira se serum odnosno osjetljivost organizma pacijenta. Alergijska reakcija, a ponekad i serumska bolest javljaju se u manje od 20 % slučajeva. Nažalost, primjena antibiotika još uvijek nije dobila znanstveno odobrenje. Liječnici kod djece oboljele od dojenačkog botulizma primjenjuju isključivo simptomatsko liječenje te u krajnjim slučajevima umjetnu respiraciju. S druge strane, liječenje traumatskog botulizma nešto je složenije zbog otvorene inficirane rane koju je potrebno zbrinuti. Kako bi uklonili bakteriju iz rane, liječnici primjenjuju penicillin [5]. Kako bi se spriječio razvitak daljnjih simptoma, antitoksin se primjenjuje svaka četiri sata sve do trenutka kada se toksin više ne može dokazati u serumu [13].

7. BOTULIN KAO BIOLOŠKO ORUŽJE

Neurotoksin botulin jedan je od najsmrtonosnijih poznatih otrova. Bakterija *Clostridium botulinum* koja stvara ovaj toksin, nalazi se na mnogim mjestima, no vrlo se rijetko ljudi razbole jer su potrebni odgovarajući uvjeti u kojima bi se ona razvijala. S druge strane, toksin se može koristiti u biološkom napadu koji predstavlja namjerno oslobađanje spora bakterije uslijed čega dolazi do masovnog razboljevanja ljudi, životinja, usjeva te u konačnici smrti. Vlasti i javno zdravstvo svjesni su mogućnosti stvaranja biološkog napada te u te svrhe proučavaju toksin i bolest koju uzrokuje kako bi bili spremni u budućnosti. Nažalost, čak i mala količina otrova može razboljeti mnoge ljude, a bez brzog medicinskog liječenja situacija može biti pogubna. Biološki napad botulinom uglavnom bi bio izveden putem hrane ili zraka. Bioterorizam je teško prepoznati jer se toksin ne može vidjeti golim okom, pomirisati niti okusiti. Napad se može prepoznati tek kod pojave prvih simptoma uključujući poteškoće s disanjem i pomicanjem mišića [2]. U odnosu na različite metode ratovanja, biološko se oružje ubraja u relativno jeftino. Širenje toksina česticama zraka izazvalo bi ogromne ljudske gubitke pri čemu se ne bi oštetila infrastruktura osvajanog teritorija. No, svako takvo biološko oružje ugrozilo bi sustav zdravstvene skrbi. Ukoliko bi došlo do bioterorizma botulinom, nastao bi kolaps zbog manjka antitoksina. Međutim, kao što svaka priča ima dvije strane, ono što ovu čini dobrom jest činjenica da se toksin može lako neutralizirati povišenom temperaturom i ukoliko je trovanje rano prepoznato javlja se manja stopa smrtnosti. Uništenje botulina u terorističke svrhe dogodilo se oko 1930. godine kada su na ratnim zarobljenicima okupirane Mandžurije obavljani pokusi. Amerika je svoju zabrinutost tom toksinom izrazila tijekom Drugog svjetskog rata na osnovu činjenice kako je Njemačka proizvodila ogromnu količinu protuotrova. Konvencija o biološkom oružju i toksinima zabranila je proizvodnju otrova i njezinu primjenu, no mnoge su ga zemlje i dalje proizvodile. Dokaz ove teze je inspekcija koju je provela UN-ova organizacija tijekom 1991. godine kada je u Iraku nađeno 19 000 L čistog toksina botulina od kojih je 10 000 L bilo unutar oružja. Navedena količina i više je nego dovoljna za masovno uništenje civilizacije. Da bi se postigao najbolji učinak trovanja potrebno je stabilizirati toksin i imati čisti koncentrat. Primjer neučinkovite primjene biološkog oružja je japanska sekta Aum Shinrikyo koja je u periodu od 1990. do 1995. godine pokušala kontaminirati vodu i hranu u tokijskoj podzemnoj željeznici, no bezuspješno. Kako tehnologija napreduje, velika je vjerojatnost postizanja odgovarajućih uvjeta za bioterorizam. Stoga se može zaključiti da botulin kao toksin ima ogromnu perspektivu biti vodeći među biološkim oružjem [15].

8. BOTULIN U MEDICINI

U radu su predstavljeni botulin i njegovo negativno djelovanje na ljudski organizam. No, razvojem znanosti istakla su se dva pozitivna svojstva navedenog toksina. Istraživači su ustanovili činjenicu kako botulin može djelovati kao nositelj lijekova. Naime, ima sposobnost lakog prijelaza iz probavnog sustava u krv. Navedena teorija obećava, no potrebno je još puno znanstvenih istraživanja. Druga sposobnost ovog toksina je vezanje na kolinergične živce te oslobađanje i blokiranje acetilkolina. Dakle, može biti od velike važnosti u suzbijanju bolesti kolinergijskog prijenosa, ali i u napretku liječenja mnogih spazmatičnih poremećaja koji obuhvaćaju laringealnu distoniju i disfoniju, spazmodičnu tortikolizu, blefarospazam, mioklonus, strabizam itd. Laringealna distonija (disfonija) obuhvaća mišiće glasnica i grla što rezultira nerazgovjetnim govorom. Tortikoliza (cervikalna distonija) se odnosi na spazam vrata i ramena. Kod blefarospazma očni se kapci nekontrolirano zatvaraju. Mišićna napetost srednjeg uha javlja se kod mioklonusa dok strabizam predstavlja disfunkciju pokreta očiju. Liječenje botulinom uspješno se pokazalo kod suzbijanja migrena i glavobolja nakon što je tijekom tretiranja bora primijećen i prestanak migrene. S obzirom na to da uzrok raznih glavobolja nikada nije definiran došlo se do zamisli kako se, ubrizgavajući toksin u mišiće vrata, lica i ramena pacijentu zaustavlja bol. Također, odličnim se pokazao kod suzbijanja znojenja pazuha, dlanova i stopala (Slika 7.). Botox blokira sustav znojnih žlijezda te eliminira znojenje. Tretmani se moraju ponavljati u određenim vremenskim periodima s obzirom na privremenu učinkovitost. U konačnici, može se reći da botulin nije rješenje problema, ali je svakako dobra alternativa kirurškim intervencijama [15].



Slika 7. Suzbijanje znojenja dlanova uporabom Botoxa [16].

9. BOTOX

Kada se radi o kozmetičkim tretmanima, injekcija botulin toksina najčešći je zahvat koji se izvodi. Američko društvo plastičnih kirurga procjenjuje da je 2018. godine više od sedam milijuna ljudi primilo injekcije Botoxa. Nakon injekcije u mišić, toksin botulin veže se za živčane završetke i na taj način sprječava oslobađanje acetilkolina. Bez prisutnosti acetilkolina, aktivnost mišića prestaje. Paraliza tretiranog mjesta izglađuje bore. Osim što ometa otpuštanje acetilkolina, botulin toksin također ometa otpuštanje boli i upalnih tvari što rezultira liječenjem migrenskih glavobolja. Bol na mjestu injektiranja može se smanjiti upotrebom igle manjeg promjera, primjenom lokalnog anestetika ili stavljanjem leda na tretirano područje. Učinci toksina botulina s vremenom nestaju. Živčani završetci regeneriraju se nakon izmjene živčanog završetka, a njihova regeneracija nastupa nakon četiri do šest mjeseci. Kod određenih pojedinaca standardna doza neće dati željeni učinak. Tada se primjenjuje druga doza. Ubrizgavanje bakterijskih produkata u ljudsko tijelo relativno je novi izum. Svake godine znanstvenici otkrivaju sve više mogućnosti ovog svestranog agensa i pronalaze mu sve više primjena [4]. Primjena može započeti nakon što osposobljena osoba rastopi prah botulin toksina u fiziološkoj otopini te ju direktno injektira u željeno tkivo. Do reakcije djelovanja dolazi nakon jednog do tri dana. Naime, toliko je potrebno da toksin počne ometati prenošenje živčanih impulsa. Ono što je važno napomenuti jest činjenica da je primjena kod ljudi koji imaju alergijske reakcije nepoželjna, kao i kod dojilja i trudnica. No, takve injekcije obično se dobro podnose uz male ili nikakve nuspojave. Neki od neželjenih simptoma su oticanje injektiranog tkiva, mučnina, glavobolja, slabosti vrata i kapaka, smanjenje vidne sposobnosti, no oni su vrlo rijetki. Ukoliko tretirano tkivo poprimi modru boju, ona nije odraz toksina, nego načina injektiranja. Bez obzira na sve navedene pozitivne i negativne strane, ono što je činjenica je da se primjenom Botoxa značajno može promijeniti prirodan izgled lica i tijela. Tretman treba izvoditi isključivo licencirana osoba, specijalist. Na taj način moguće je smanjiti određene rizike. Iako se tretmani izvode desetljećima, pojedinci znaju pretjerati s uporabom navedenog toksina (Slika 8.) [9].



Slika 8. Pretjerana uporaba Botoxa [9].

Botox Cosmetic (Allergan, SAD) najpoznatiji je u svojoj skupini kozmetičkih preparata. Starenje kože uzrokovano je promjenama biokemijske i fiziološke prirode, gravitacijom, djelovanjem Sunčeva zračenja i kontrakcijama mišića što rezultira stvaranjem bora i neravnih linija. Sve to dovodi do starog izgleda mišića lica i vrata te nemogućnosti iskazivanja odgovarajućih emocija [17]. Iz toga se razloga primjenjuje Botox u vrlo malim količinama koje neće izazvati negativne posljedice budući da lijek čini otrovnim samo odgovarajuća doza. Navedeni tretman može izglatiti naborane linije na nekoliko područja tijela uključujući obrve, čelo, nos, oči, usne, bradu i vrat. Pružatelji zdravstvenih usluga koriste određenu vrstu bakterije *Clostridium botulinum* tipa A za medicinske injekcije. Za optimalnu sigurnost i učinkovitost, Botox se proizvodi u laboratoriju u ogromnim količinama (Slika 9.). Naime, tehničari razrjeđuju i steriliziraju toksin botulin kako ne bi došlo do nepoželjnog razvitka bolesti botulizma [18]. Kako bi se osigurala čistoća laboratorija, zrak se filtrira 200 puta unutar svakih sat vremena te se provjeravaju temperatura i vlažnost. Svatko tko radi unutar laboratorija na stvaranju Botoxa, mora se kretati što je manje moguće kako bi se izbjegla moguća kontaminacija. Ukoliko tehničar kihne, mora odmah napustiti prostoriju te zabilježiti datum i vrijeme kihanja. Za ulazak u laboratorij potrebno je imati odgovarajuću uniformu (Slika 10.) koja se sastoji od kombinezona, kapuljače, naočala, čizama i rukavica. Pravila oko odijevanja su izrazito stroga budući da se svaki odjevni predmet nalazi u steriliziranoj plastičnoj vrećici. Nakon oblačenja slijedi provjera mogućih bakterija na odijelu tehničara. Ukoliko su prisutne bakterije, proces odijevanja potrebno je ponoviti ispočetka [19].



Slika 9. Proizvodnja Botoxa u laboratoriju [19].



Slika 10. Uniforma laboranta [19].

10. ZAKLJUČAK

Tema ovog završnog rada bila je istraživanje o bakteriji *Clostridium botulinum*, izoliranom toksinu botulinu kao i o bolesti trovanja koja se razvija njegovim ulaskom u ljudsko tijelo, odnosno botulizmu. Tijekom dugog niza godina znanstvenog i laboratorijskog proučavanja, došlo se do saznanja kako nešto što je primarno toksično, isto tako može pozitivno utjecati na liječenja raznih bolesti te se primjenjivati u kozmetičkoj industriji. Kada se spominju kozmetička industrija i botulin, prije svega se misli na široku upotrebu Botoxa. Promišljajući o svim pozitivnim i negativnim stranama ove bakterije, samo jedna stvar dolazi do izražaja. Svaka je bakterija toksična onoliko koliko ju ljudski organizam može apsorbirati, a da pri tome ne osjetiti njezinu štetnost. Ono što je za nekoga štetno, ne mora biti štetno za drugoga, a samo doza čini razliku između otrova i lijeka. Botulin kao otrov i lijek opisan je i razrađen kroz poglavlja u skladu sa stručnom literaturom. Također, posebna pozornost stavljena je na količinu otrovne supstance koja može uništiti veliki dio čovječanstva. Ljudski potencijal ne poznaje granice, a znanost napreduje iz dana u dan. Neurotoksin botulin može djelovati pozitivno, ali i razarajuće. Pozitivni učinci očituju se u raznim kozmetičkim tretmanima, a negativna svojstva u respirativnoj paralizi. Kada neurotoksin blokira rad živčanik stanica stvara se negativni efekt. Potrebno je osvijestiti sve pozitivne i negativne strane botulinom toksina i racionalno vladati takvim oruđem jer je vrlo tanka linija između pozitivnog i negativnog djelovanja.



11. LITERATURA

- [1] F. Plavšić, *Uvod u analitičku toksikologiju*, Školska knjiga, Zagreb, 2006.
- [2] <https://www.cdc.gov/botulism/general.html> (30.6.2022.)
- [3] B. Guyer, K. Aoki, *Botulinum toxin type A and other botulinum toxin serotypes: a comparative review of biochemical and pharmacological actions*, *European Journal of Neurology* 8 (2001) 21-29.
- [4] <https://www.verywellhealth.com/how-botox-came-to-be-1124145> (3.7.2022.)
- [5] Z. Duraković, *Klinička toksikologija*, Grafos, Zagreb, 2000.
- [6] S. Swaminathan, S. Eswaramoorthy, *Structural analysis of the catalytic and binding sites of Clostridium botulinum neurotoxin B*, *Nature Structural Biology* 7 (2000) 639-699.
- [7] D. Sutlović, *Toksikologija hrane*, Redak, Split, 2011.
- [8] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/botulism> (10.7.2022.)
- [9] <https://www.abc-doctors.com/kozmeticki-terapije-clostridium-botulinuma> (10.7.2022.)
- [10] <https://my.clevelandclinic.org/health/diagnostics/22327-differential-diagnosis> (14.7.2022.)
- [11] <https://www.cdph.ca.gov/Programs/CID/DCDC/Pages/Botulism.aspx#> (18.7.2022.)
- [12] Z. Tomljanović, *Botulizam i med*, *Hrvatska pčela* 126 (2007) 200-202.
- [13] R. H. Dreisbach, *Trovanja. uzroci i lečenje*, Savremena administracija, Beograd, 1980.
- [14] <https://simptomibolesti.com/botulizam-simptomi-dijagnoza-prevencija/> (24.7.2022.)
- [15] Hrvatsko prirodoslovno društvo, *Toksin botulin: u ratu i miru*, *Priroda* 94 (2004) 26-28.
- [16] <https://www.dr-rajkovic.hr/nekirurski-zahvati/tijelo/sprjecavanje-prekomjernog-znojenja/> (28.7.2022.)
- [17] Hrvatsko prirodoslovno društvo, *Botulin- i otrov i lijek*, *Priroda* 105 (2015) 46-48.
- [18] <https://my.clevelandclinic.org/health/treatments/8312-botulinum-toxin-injections> (29.7.2022.)
- [19] <https://www.allure.com/story/botox-factory-westport-ireland> (1.9.2022.)