

Botulismo

Dr. Patricio Mellado¹, Dr. Jaime Court¹, Dr. Luis Mellado^{1,2}

1. Departamento de Neurología. Pontificia Universidad Católica de Chile
2. Servicio de Neurología. Hospital Militar

Historia

La palabra botulismo procede del latín *botulus* = salsa, pues se sospechaba que en la salsa de carne se encontraba la explicación de esta enfermedad. Durante las guerras napoleónicas, entre los años 1795 y 1813, el botulismo se presentó como epidemia en el reino de Württemberg y el Ducado de Baden, lo que permitió su estudio más detallado (1,2).

Si bien el botulismo era conocido, la primera descripción clínica detallada fue realizada en Alemania por el Dr. Justinus Kerner, entre los años 1817 y 1822. Kerner además realizó experimentos con animales y en sí mismo, desarrolló una hipótesis fisiopatológica de una probable toxina, sugirió medidas de prevención y tratamiento, y planteó un eventual uso terapéutico de ella (1). Posteriormente, Emile Van Ermengem, en 1897, investigó una epidemia de botulismo en la ciudad de Ellezelles, en Bélgica, llegando a descubrir una bacteria anaerobia en los alimentos que habían sido consumidos por los afectados, así como desde el bazo de uno de los fallecidos. Además, pudo reproducir los síntomas en animales de laboratorio que fueron expuestos a la toxina de dicha bacteria (3).

El primer brote documentado en Chile se detectó en 1973, presentándose en 7 religiosas que habían consumido fréjoles (“porotos verdes”) en conserva de elaboración

casera, varias afectadas fallecieron. La toxina fue detectada en los restos de los fréjoles en el Instituto de Salud Pública (4).

En una paradoja médica, en 1980 Alan Scott utilizó la toxina botulínica en el tratamiento de niños con estrabismo (5). En los años siguientes, la toxina ha sido utilizada por neurólogos en el tratamiento de distonías, otros trastornos de los movimientos y espasticidad, así como también por gastroenterólogos, dermatólogos y cirujanos plásticos.

Por otro lado, debido a su fácil diseminación y alta tasa de mortalidad, la toxina botulínica es considerada un arma biológica (6,7).

Epidemiología

El botulismo es una enfermedad infrecuente. En Alemania se observan 20 a 30 casos al año (8). En Estados Unidos de Norteamérica (USA) se reportan alrededor de 110 casos de botulismo anualmente, siendo la forma infantil o intestinal la más frecuente (72% de los casos), le sigue la forma clásica con un 25% (9). En Chile, desde el año 2000, el botulismo es una enfermedad que requiere de notificación inmediata al Ministerio de Salud. Tres pacientes han sido notificados en los últimos 3 años (10).

Bacteria y toxina

El botulismo es producido por una toxina sintetizada por el bacilo *Clostridium botulinum*. Esta bacteria es anaerobia, Gram positiva y formadora de esporas. Se localiza en el suelo y sedimento acuático y se reproduce en ambientes alcalinos ($\text{pH} < 4,5$), anaerobios y con escaso contenido de azúcar y sal, lo que explica la baja incidencia de la enfermedad (11,12). La spora de la bacteria es muy resistente a agentes químicos y físicos (13),

llegando a tolerar temperaturas de hasta 120°C, en cambio, la toxina se inactiva a 85°C (3).

La toxina ingresa al torrente sanguíneo a través de las mucosas pero no de la piel.

La toxina botulínica es considerada el veneno más poderoso que existe. La dosis letal₅₀ (LD₅₀) para ratones de investigación es de 1 y 5 ng/kg (13). La muerte de una persona de 70 kg, basado en estudios en primates, ocurre con una dosis de 0,05 a 0,1 ug por vía intravenosa; entre 0,8 a 0,9 ug cuando es inhalada y 70 ug cuando es ingerida (14).

Su toxicidad es expresada en unidades. Una unidad corresponde a la LD₅₀ necesaria para que un ratón de 20 g muera. La LD₅₀ de toxina A para un humano de 70 Kg ha sido estimada en 3000 unidades (13). Los frascos de toxina botulínica A que se utilizan en la práctica clínica contienen 0,3% de la dosis letal cuando es inhalada y 0,005% cuando es ingerida (14).

Se han descrito 7 serotipos de toxina botulínica (A-G) (ver tabla). Las que más frecuentemente afectan al ser humano son: A, B, E y F. La forma clásica (ingestión de la toxina) se produce por las toxinas A, B, C y F; la forma por herida por la toxina C; y la infantil por los tipos A y B (9) (ver formas de botulismo). La toxina A se encuentra en alimentos caseros preservados al vacío (vegetales, carne y pescado) así como en tarros de conservas caseros. La toxina E se asocia más frecuentemente a la ingestión de pescado o mariscos envasados al vacío (9). En las fábricas de alimento envasado al vacío y de conservas, se utilizan técnicas estandarizadas para evitar la reproducción del *Clostridium botulinum*.

La intoxicación por la toxina A es la más grave (11).

Fisiopatología

La toxina botulínica es una metaloproteinasa compuesta por 2 cadenas de aminoácidos, una liviana de 50 Kda y una pesada de 100 Kda, las que se encuentran unidas por un puente disulfuro. La cadena pesada permite la unión específica de la toxina a gangliósidos de la membrana plasmática del terminal nervioso colinérgico presináptico. Posteriormente se produce su endocitosis, dentro del endosoma se reduce el puente de disulfuro separándose ambas cadenas. Por último, la cadena pesada forma un poro a través del endosoma permitiendo el paso de la cadena liviana al citosol. La cadena liviana corresponde a una proteasa requirente de zinc (9).

Las 7 toxinas actúan específicamente sobre diferentes dominios de 3 proteínas esenciales para la exocitosis de acetilcolina: la proteína asociada a sinaptosoma de 25KD (SNAP-25), la proteína de membrana asociada a vesícula sináptica (VAMP) y la syntaxina (13) (ver tabla). Estas 3 proteínas forman un complejo que permite la unión de la vesícula sináptica con la membrana plasmática de la neurona colinérgica, paso esencial para su exocitosis (15).

La toxina también bloquea las sinapsis colinérgicas del sistema nervioso autonómico; la primera sinapsis de ambos sistemas y la segunda sinapsis del sistema parasimpático.

El efecto de las toxinas es autolimitado, en semanas a meses, la toxina dentro del citosol es inactivada, las proteínas dañadas por la toxina son removidas y reemplazadas por nuevas que han sido sintetizadas en el soma de la neurona (13).

Formas clínicas de botulismo

En la actualidad se reconocen 5 formas de botulismo: 1. Por ingestión de la toxina o clásica, 2. A través de una herida, 3. Infantil o intestinal, 4. Inadvertida, 5. Bioterrorismo.

1. Por ingestión de la toxina o forma clásica

Es la forma más frecuente en adultos y la primera descubierta, por lo que se le denomina forma clásica. En la actualidad son más frecuentes los casos esporádicos, sin embargo, se debe buscar activamente entre amigos y familiares del eventual caso índice otros intoxicados, muchas veces con síntoma y signos sutiles.

El período entre la ingesta de la toxina y el inicio de los síntomas depende de la cantidad de toxina ingerida, en general, varía entre 2 y 36 horas pero puede llegar hasta 8 días. En la mitad de los afectados se pueden observar síntomas digestivos que preceden a los neurológicos: náuseas, vómito, cólico, diarrea o constipación.

Posteriormente, se presentan las manifestaciones neurológicas, las que suelen ser estereotipadas: aparecen síntomas y signos debido al compromiso de los músculos oculo-bulbales: diplopia, ptosis, oftalmoparesia-plejia, disartria, disfonía y disfagia. Posteriormente, se produce diplejia facial, plejia de la lengua y músculos masticatorios, paresia descendente, que afecta primero las extremidades superiores, luego las inferiores y finalmente los músculos respiratorios. Los reflejos tendíneos desaparecen progresivamente en sentido rostro-caudal. La debilidad es habitualmente bilateral pero puede ser asimétrica (16).

Debido al compromiso del sistema autonómico, es muy frecuente observar una discreta midriasis arrefléctica bilateral y sequedad buco-faríngea, ambas muy útiles en la sospecha diagnóstica de botulismo. En los pacientes más graves es frecuente el ileo

adinámico, globo vesical, hipotensión ortostática y disminución de la producción de lágrimas (17).

Los pacientes no presentan compromiso del sistema nervioso sensitivo ni del sistema nervioso central, en el primero por la ausencia de sinapsis colinérgica y en el segundo por la incapacidad de la toxina para cruzar la barrera hematoencefálica.

La recuperación ocurre en semanas, o menos frecuentemente, en pocos meses. La recuperación del sistema autonómico demora más que el sistema motor (17).

2. Herida

En esta forma, la debilidad muscular no es grave, la velocidad de instalación es más lenta y rara vez se produce compromiso respiratorio (18). En USA, esta forma ha aumentado exponencialmente en los últimos años en usuarios de heroína por vía intravenosa o subcutánea. La bacteria ha sido cultivada de pequeños abscesos en los sitios de punción (19,20). Recientemente, también ha sido registrada en Alemania (21).

Esta forma es de difícil diagnóstico pues no presenta síntomas abdominales y el paciente no confiesa el uso de drogas (22).

3. Infantil o intestinal

La forma intestinal o infantil se presenta al ingerir las esporas de la bacteria, las que colonizan el tubo digestivo, específicamente el ciego. Las bacterias liberan su toxina y esta viaja en forma retrógrada hacia el ileon a través de la válvula ileo-cecal paralizada por la acción de la misma toxina. En el intestino delgado la toxina es absorbida.

El grupo etario más afectado son los lactantes menores de 1 año (95% son menores de 6 meses). Existe una variante del adulto, la cual se presenta en pacientes con historia de

enfermedades digestivas crónicas y uso de antibióticos por períodos prolongados.

Probablemente, estos grupos se encuentran expuestos a la colonización de la bacteria debido a la ausencia de una flora bacteriana protectora en el tubo digestivo.

La fuentes de esporas consumidas por lactantes son: la tierra del suelo y la miel (23). Como medida profiláctica, los menores de 12 meses no deben consumir miel (2).

Clínicamente, esta forma se presenta con constipación, la cual puede preceder en días a semanas a la hipotonía generalizada, dificultad en la succión, debilidad para llorar y pérdida del control de la cabeza. También se observa hipotensión ortostática, vejiga neurogénica, oftalmoparesia y ptosis. Se han descrito lactantes con muerte súbita.

4. Inadvertida o Iatrogénica

Este tipo de botulismo presenta un cuadro clínico similar a la forma clásica y se produce debido a la diseminación de la toxina inyectada para el tratamiento de enfermedades neurológicas o dermatológicas. Afortunadamente es muy infrecuente, debido a las bajas dosis requeridas con fines terapéuticos.

5. Bioterrorismo

El botulismo puede ser utilizado como arma bacteriológica. Con el objetivo de provocar una epidemia, la toxina puede ser diseminada a través de aerosoles, provocando su absorción a través del pulmón (botulismo inhalatorio). Un brote epidémico fue registrado en 1962 en Alemania, 3 veterinarios que *trabajaban* con animales y toxina botulínica A aerolizada presentaron un cuadro clínico similar al botulismo clásico (24).

Un gramo de toxina botulínica dispersada para ser inhalada puede matar a más de 1.000.000 de personas (14). Afortunadamente, múltiples problemas técnicos hacen difícil esta forma de dispersión.

La toxina botulínica ha sido utilizada como arma biológica en varias oportunidades. En Japón durante la segunda guerra mundial fue utilizada en contra de prisioneros de guerra con efectos letales y en 3 oportunidades, también en Japón, en contra de la población de Tokio y de las bases de USA. Estos intentos fracasaron debido a problemas técnicos o a sabotajes internos (14).

USA sintetizó la toxina y antitoxinas durante la segunda guerra mundial y la guerra fría, el programa fue detenido en 1969. En 1972, la convención de Armas Biológicas y Tóxicas prohibió la producción de armas biológicas, sin embargo, es conocido que posteriormente fue desarrollada como arma en la Unión Soviética e Irak, debemos recordar que USA ya la poseía. Por último, según fuentes de USA, científicos de la ex-uniión soviética han sido reclutados por otros países donde se cree que también han desarrollado estas armas: Irán, Corea del Norte y Siria (14). Ojalá nunca descubramos la verdad.

Diagnóstico

El diagnóstico de botulismo requiere de una gran sospecha clínica, la cual se debe basar en el antecedente de una probable exposición a la bacteria o su toxina y las manifestaciones clínicas descritas.

Detección de la toxina y la bacteria

La toxina botulínica puede ser detectada en los restos de comida o en el plasma, la deposición y en las heridas del paciente. Sin embargo, después de 48 horas, la sensibilidad

de estos métodos disminuye a menos de 30% en el plasma y a 36% en la deposición (25).

El cultivo de la bacteria en la deposición es positiva sólo en un 35% de los casos después de 3 días (3).

Una de las pruebas más utilizadas es la inoculación de suero del paciente a ratones de investigación que previamente habían sido o no expuestos a la antitoxina botulínica. Se considera la prueba positiva si el ratón sin antitoxina muere dentro de 24 a 48 horas de la inoculación del plasma y aquel con antitoxina sobrevive (9).

Electrofisiología

El estudio electrofisiológico puede ser normal si se realiza precozmente, puede ser necesario repetirlo.

La velocidad de conducción motora y su latencia distal son normales. En la mayoría de los pacientes, la amplitud del potencial muscular está disminuida. El potencial sensitivo tiene amplitud y velocidad de conducción normales.

En la electromiografía con aguja se registran potenciales de fibrilación durante el reposo y con la activación voluntaria los potenciales de unidad motora son de baja amplitud, breve duración y tienen polifasismo aumentado.

La prueba de estimulación repetitiva a baja frecuencia (2 a 5 Hz) es normal o puede mostrar un moderado decremento de las respuestas. La estimulación repetitiva a alta frecuencia (20 a 50 Hz) durante 10 segundos o la activación voluntaria máxima por el mismo lapso de tiempo provoca un incremento de las respuestas superior al 20%, lo que refleja su origen presináptico. Esta facilitación post-tetánica o post-ejercicio persiste por más de 2 minutos y no se observa agotamiento post-activación.

La facilitación prolongada del potencial de acción motor evocado post- activación tetánica es la anormalidad más confiable (26).

En la electromiografía de fibra aislada el Jitter está aumentado y hay frecuente bloqueo neuromuscular. En la electromiografía de fibra aislada por estimulación a frecuencia elevada (20 Hz) el Jitter disminuye y el bloqueo tiende a desaparecer.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de botulismo consiste en todas aquellas enfermedades que se pueden presentar con una tetraparesia rápidamente progresiva con riesgo de falla ventilatoria y que deban ingresar a una unidad de cuidados intensivo (UCI) (27).

Sin embargo, se debe considerar que en casos menos graves, el diagnóstico es más difícil. En una epidemia en Canadá, a 28 personas se les diagnosticó erróneamente otra enfermedad, 14% de ellas como una enfermedad psiquiátrica (28).

En los casos más graves, el diagnóstico diferencial más frecuente en Chile es: Síndrome de Guillain Barré (SGB) con sus variantes y crisis miasténica (CM).

El SGB y algunas de sus variantes como el síndrome de Miller Fisher (ataxia, arreflexia y oftalmoparesia) y la forma faringo-cérvico-braquial pueden simular botulismo (29). Sin embargo, existen elementos clínicos y de laboratorio que ayudan a su diferencia. En el botulismo es muy frecuente la midriasis discreta arrefléctica, la cual, salvo en raros casos fulminantes con compromiso autonómico, es inusual en el SGB. En el botulismo es de regla la ptosis bilateral, en cambio, es muy infrecuente en el SGB, incluso en presencia de oftalmoparesia. Además, en el SGB son frecuentes las parestesias distales y dolor lumbar, lo que es raro en botulismo.

En el cuadro más clásico del SGB la paresia tiene una progresión descendente, lo que NO quiere decir que primero se comprometan las extremidades superiores (EESS) y luego las inferiores (EEII), sino que, comienza por los músculos proximales de las 4 extremidades y luego se comprometen los distales. En cambio, en el botulismo siempre se afectan primero los músculos de los nervios craneanos, y luego en forma sucesiva, los músculos proximales de las EESS, los distales de las EESS, los proximales de las EEII y los distales de la EEII, siendo este verdaderamente un patrón descendente. Los reflejos osteotendíneos desaparecen antes en el SGB, debido al compromiso de la vía aferente del arco reflejo, incluso a veces con buena fuerza muscular, en cambio, en el botulismo desaparecen en forma descendente, debido a la paresia también descendente.

El estudio de líquido cefalorraquídeo es normal en botulismo, la clásica disociación albúmino-citológica del SGB se observa en un 90% de los casos después de la primera semana. Así, si el LCR está disociado es útil, pero si está normal no. Además, se debe considerar que el uso de inmunoglobulinas intravenosas puede aumentar iatrogénicamente las proteínas en el LCR. Por último, el estudio electrofisiológico es muy diferente en ambas patologías, pero durante los primeros días puede ser normal en ambas, requiriéndose de un segundo estudio.

La detección de la toxina botulínica y el *Clostridium botulinum* por un lado y de anticuerpos específicos y del *Campilobacter pilori* por el otro, son diagnóstico. Uno de los anticuerpos más útiles es el GQ1B, el cual se encuentra presente en el 95% de los pacientes con SGB que presentan oftalmoparesia y es negativo en botulismo.

El diagnóstico diferencial entre botulismo y miastenia gravis (MG) o, en las casos más graves, con crisis miasténica (CM), no siempre es fácil (30). Habitualmente, los pacientes con MG o CM tienen el antecedente de la enfermedad y las manifestaciones

motoras presentan una evolución más crónica y fluctuante, en cambio, en el botulismo las manifestaciones motoras se presentan en forma aguda o subaguda y siempre progresivas. Los pacientes con MG o CM no presentan compromiso del sistema nervioso autonómico, por lo que nunca tienen midriasis discreta arrefléctica ni sequedad buco-faríngea, las que sí se observan en botulismo. Los reflejos se pierden sólo en los casos más graves de CM, en cambio, es la regla la pérdida progresiva de estos con un patrón rostro caudal en el botulismo. La prueba con tensilón es habitualmente diagnóstica en los casos de MG pero se han reportados casos de una respuesta límite en pacientes con botulismo (12).

El estudio electrofisiológico puede diferenciar ambas patologías, pero en algunos casos no es concluyente, debiendo repetirse días después. A diferencia del botulismo, en MG se observa un evidente decremento de los potenciales de acción muscular durante la estimulación repetitiva a 2 ó 3 Hz.

Por último, los anticuerpos anti-receptores de acetilcolina son positivos en un 80% a 95% de los pacientes con MG generalizada y negativos en botulismo. Debe considerarse que el resultado de estos anticuerpos llega varios días después de que se han tomado las decisiones terapéuticas urgentes.

Tratamiento

La mortalidad del botulismo a principios del siglo XX era de 60 a 70% (31). En la actualidad y fundamentalmente debido al avance en la terapia de cuidados intensivos y específicamente a la ventilación mecánica, su mortalidad es de 3 a 5% (12).

Todos los pacientes con sospecha de botulismo deben ser hospitalizados y vigilados en forma continua. Aquellos que presentan tetraparesia, dificultad para proteger la vía aérea

o signos de falla respiratoria deben ser ingresados precozmente a una UCI. La intubación y ventilación asistida deben ser profilácticas (16,22).

La mayoría de los pacientes mejoran y pueden ser extubados antes de un mes, muchos antes de 2 semanas, por lo que no es necesario realizar una traqueostomía en forma inmediata. Sin embargo, algunos deben permanecer conectados al ventilado mecánico por hasta 11 semanas (22).

Debido a los síntomas autonómicos se recomienda tratar precozmente la constipación, usar sonda Foley y drogas vasoactivas en casos de hipotensión arterial severa.

En la gran mayoría de los pacientes, el uso de la antitoxina botulínica se realiza en base al diagnóstico clínico, el que se basa en el ejercicio clínico del diagnóstico diferencial.

Antitoxinas

En la actualidad se dispone de dos tipos de antitoxinas, la derivada de suero de caballo y la humana. Para que la antitoxina sea eventualmente beneficiosa, debe ser administrada precozmente, mientras la toxina se encuentre en el plasma y antes de ser internalizada al terminal colinérgico presináptico.

La antitoxina equina se encuentra disponible desde la década del 40 y es ampliamente utilizada. Sin embargo, su eficacia sólo ha sido evaluada en trabajos retrospectivos en las formas de botulismo clásico y por herida (32,33). Por otro lado, este tipo de antitoxina ha mostrado un riesgo de 2% de reacciones alérgicas graves (34,35).

La antitoxina humana anti A y B ha sido recientemente evaluada para el tratamiento del botulismo intestinal o infantil. Un trabajo randomizado, doble ciego y placebo control en 5 años, seguido de un estudio abierto, mostró eficacia y seguridad de la antitoxina humana administrada a través de inmunoglobulina humana (BIG-IV) (36). La antitoxina

mostró una disminución significativa en la estadía hospitalaria, estadía en la UCI, duración de la ventilación mecánica, duración de la nutrición parenteral o enteral por sonda y los costos económicos para el paciente (36).

La dosis utilizada fue de 50 mg/kg (1 ml/kg) dentro de una ventana terapéutica de 3 días. El uso de la antitoxina entre los días 4 y 7 fue también eficaz pero la estadía hospitalaria fue mayor (36).

Se debe considerar que el mecanismo y probablemente la dosis de la toxina que ingresa al cuerpo humano difiere entre las formas infantil o intestinal respecto a la clásica o por herida, siendo estas últimas las más frecuentes en adultos. Futuros estudios bien diseñados deben evaluar el uso de la antitoxina humana en estas formas de botulismo.

Otros

Reportes anecdóticos con drogas que aumentan la liberación de acetilcolina como guanidina y 4 aminopiridina muestran mejoría transitoria en algunos grupos musculares aunque no mejoran la función respiratoria, por otro lado, estos fármacos han sido causantes de efectos adversos graves. Las inmunoglobulinas intravenosa (sin la antitoxina humana), plasmaféresis y esteroides son ineficaces (16).

Tabla
Compromiso específico de proteínas citosólicas
por los serotipos de toxina botulínica

Toxina botulínica	Proteína afectada
A	SNAP-25
B	VAMP (sinaptobrevina)
C	SNAP-25 Sintaxina
D	VAMP (sinaptobrevina)
E	SNAP-25
F	VAMP (sinaptobrevina)
G	VAMP (sinaptobrevina)

SNAP-25: Proteína asociada a sinaptosoma de 25KDa

VAMP: Proteína de membrana asociada a vesícula sináptica

Referencias

1. Erbguth FJ, Naumann M. Historical aspects of botulinum toxin Justinus Kerner (1786–1862) and the “sausage poison”. *Neurology*. 1999; 53: 1850-1853.
2. Ledermann W. Historia del Clostridium botulinum. *Rev Chil Infect*. 2003; 20: S39-S41.
3. Cherington M. Clinical spectrum of botulism. *Muscle Nerve*. 1998; 21: 701-710.
4. Tagle P, Tapia J, Soza M, Court J. Botulismo: Aspectos neurológicos de una intoxicación colectiva. *Rev Med Chile*. 1974; 102: 127-129.
5. Scott AB. Botulinum toxin injection into extraocular muscles as alternative to strabismus surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1980; 17: 21-25.
6. Chang M, Glynn K, Groseclose SL. Endemic, notifiable bioterrorism-related diseases, United States 1992-1999. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9: 556-564.
7. Han SZ, Alfano MC, Psoter WJ, Rekow ED. Bioterrorism and catastrophes response. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134: 745-752.
8. Poeck K, Hacke W. *Neurologie*. Heidelberg. Springer. 2006.
9. Goonetilleke A, Harris JB. Clostridial neurotoxins. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75; S35-S39.
10. www.minsal.cl
11. Cherington M. Botulism: Update and review. *Sem Neurol*. 2004; 24: 155-163.
12. Sobel J. Botulism. *Clin Infec Dis*. 2005; 41: 1167-1173.
13. Montecucco C, Molgó J. Botulinal neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Op Pharmacol*. 2005; 5: 274-279.
14. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, et al. Botulism toxin as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA*. 2001; 285: 1059-1070.
15. Jahn R, Lang T, Sudhof TC. Membrane fusion. *Cell*. 2003; 112: 519-533.

16. Torbey MT, Suarez JI, Geocadin R. Less common causes of quadriplegia and respiratory failure. En: Suarez JI (Ed): Critical care neurology and neurosurgery. Totowa. Humana Press. 2004: 493-513.
17. Jenzer G, Mumenthaler M, Ludin HP, Robert F. Autonomic dysfunction in botulism B: a clinical report. *Neurology*. 1975; 25: 150-153.
18. Bolton CF, Chen R, Wijdicks EFM, Zifko UO. *Neurology of breathing*. Philadelphia. Butterworth Heinemann. 2004.
19. Passaro DJ, Werner SB, McGee J, Mac Kenzie WR, Vugia DJ. Wound botulism associated with black tar heroin among injecting drug users. *JAMA*. 1998; 279: 859-863.
20. Werner SB, Passaro D, McGee J, Schechter R, Vugia DJ. Wound botulism in California, 1951-1998: recent epidemic in heroin injectors. *Clin Infect Dis*. 2000; 31: 1018-1024.
21. Kuhn J, Gerbershagen K, Schaumann R, Langerberg U, Rodloff AC, Mueller W, et al. Wundbotulismus bei heroinsüchtigen in Deutschland. *Dtsch Med Wochenschr*. 2006; 131: 1023-1028.
22. Wijdicks EFM. *Neurologic complications of critical illness*. New York. Oxford University Press. 2002.
23. Spika JS, Schaffer N, Hargrett-Bean N, Collin S, Mac Donald KL, Black PA. Risk factors for infant botulism in the United States. *Am J Dis Child*. 1989; 143: 828-832.
24. Holzer VE. Botulism from inhalation. *Med Klin*. 1962; 57: 1735-1738.
25. Woodruff BA, Griffin PM, McCroskey LM, Smart JF, Wainwright RB, Bryant RG, et al. Clinical and laboratory comparison of botulism from toxin types A, B, and E in the United States, 1975-1988. *J Infect Dis*. 1992; 166: 1281-1286.
26. Gutmann L, Bodensteiner J. Electrodiagnosis of Botulism-Revisited. *J. Clin Neuromusc Dis*. 2001; 2: 121-122.
27. Mellado P, Sandoval P, Soza M, Fadic R, Mellado L. Tetraplejía en la Unidad de Terapia Intensiva. En: Castillo L, Romero C, Mellado P. (eds) *Cuidados Intensivos Neurológicos*. Santiago. Mediterráneo. 2004: 170-187.
28. St. Louis ME, Peck SH, Bowering D, Morgan GB, Blatherwick J, Banerjees, et al. Botulism from chopped garlic: delayed recognition of a major outbreak. *Ann Intern Med*. 1988; 108: 363-368.

29. Sandoval P, Mellado P. Variantes del síndrome de Guillain Barré. *Cuad Neurol.* 2002; 26: 107- 112.
30. Tomicic V, Mellado P, Lim J, Sandoval P. Crisis Miasténica. En: Castillo L, Romero C, Mellado P. (eds) *Cuidados Intensivos Neurológicos.* Santiago. Mediterráneo. 2004: 455-462.
31. Gangarosa EA. Botulism in the US, 1899–1969. *Am J Epidemiol.* 1971; 93:93–101.
32. Tacket CO, Shandera WX, Mann JM, Hargrett NT, Blake PA. Equine antitoxin use and other factors that predict outcome in type A foodborne botulism. *Am J Med.* 1984; 76: 794-798.
33. Chang GY, Ganguly G. Early antitoxin treatment in wound botulism results in better outcome. *Eur Neurol.* 2003; 49: 151-153.
34. Black RE, Gunn RA. Hypersensitivity reactions associated with botulinal antitoxin. *Am J Med.* 1980; 69: 567-570.
35. Hatheway CH, Snyder JD, Seals JE, Edell TA, Lewis GE Jr. Antitoxin levels in botulism patients treated with trivalent equine botulism antitoxin to toxin types A, B, and E. *J Infect Dis.* 1984; 150: 407-412.
36. 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: 462-471.