

FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS
MEDICINA VETERINÁRIA

Carolina Chizzotti Parrilli

***CLOSTRIDIUM BOTULINUM* EM
ALIMENTOS**

São Paulo
2008

Carolina Chizzotti Parrilli

CLOSTRIDIUM BOTULINUM EM ALIMENTOS

Trabalho de Conclusão de Curso
realizado durante o 10º semestre do
curso de Medicina Veterinária sobre
orientação do professor Mestre Álvaro
Pereira Dias.

**São Paulo
2008**

Carolina Chizzotti Parrilli

CLOSTRIDIUM BOTULINUM EM ALIMENTOS

Trabalho de Conclusão de Curso
realizado durante o 10º semestre do
curso de Medicina Veterinária sobre
orientação do professor Mestre Álvaro
Pereira Dias.

**Prof. Mestre [Álvaro Pereira Dias]
FMU - Orientador**

**Prof. Dr. [Ricardo Moreira Calil]
1º avaliador**

**Prof. Dr. [Terezinha Knöbl]
2º avaliador**

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho de conclusão de curso á meus avós Ernesto Brizzi Chizzotti e Rosa Brizzi Chizzotti, pois se não fossem eles eu não estaria aqui agora e não teria chegado aonde cheguei.

AGRADECIMENTOS

Eu queria agradecer a todos os professores pelo aprendizado, todos os amigos e colegas que conheci nesta jornada, ao meu namorado pela paciência e principalmente agradecer á minha família pela compreensão, apoio, amor e por sempre acreditarem em mim. Eu amo muito todos vocês e vou levar cada um no meu coração.

Obrigada!

RESUMO

O presente estuda o *Clostridium botulinum*, suas características morfológicas, os alimentos envolvidos na enfermidade, a fisiopatogenia, as manifestações clínicas provocadas por esta doença, o diagnóstico, o tratamento, as condutas epidemiológicas e sanitárias, o tratamento industrial de conservas, bem como a prevenção e controle deste microrganismo nos alimentos.

Palavra chave: *Clostridium botulinum*, Botulismo, Botulismo Alimentar

ABSTRACT

The present studies the *Clostridium botulinum*, their morphologic characteristics, the foods involved in the illness, the fisiopatogenia, the clinical manifestations provoked by this disease, the diagnosis, the treatment, the epidemic and sanitary conducts, the industrial treatment of preserves, as well as the prevention and control of this microorganism in the foods

Key word: *Clostridium botulinum*, Botulism, Alimentary Botulism

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	
Morfologia do <i>Clostridium botulinum</i>	14
FIGURA 2	
Esporo bacteriano típico.....	15
FIGURA 3	
Conservas.....	18
FIGURA 4	
Enlatados.....	18
FIGURA 5	
Embutidos.....	19
FIGURA 6	
Peixes e frutos do mar.....	19
FIGURA 7	
Hortaliças e Legumes.....	19
FIGURA 8	
Mecanismo de ação da toxina.....	21
FIGURA 9	
Mecanismo de ação da acetilcolina.....	22
FIGURA 10	
Ação da acetilcolina nos terminais nervosos.....	22
FIGURA 11	
Ptose palpebral.....	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	
Condições de tempo temperatura para destruição do <i>Clostridium botulinum</i>	16
TABELA 2	
Fatores ótimos e limitantes que influenciam os patógenos de origem alimentar mais comuns.....	35
TABELA 3	
Resistência térmica dos microorganismos.....	36

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Objetivo.....	13
3. Agente Etiológico.....	14
4. Resistência dos esporos.....	15
5. Toxina botulínica.....	17
6. Alimentos associados.....	18
7. Botulismo Infantil.....	20
8. Fisiopatogenia.....	21
9. Sintomas.....	2
10. Diagnóstico da doença.....	24
10.1 Anamnese.....	24
10.2 Exames laboratoriais e complementares no paciente.....	24
10.3 Exames laboratoriais nos alimentos.....	26
11. Tratamento.....	27
11.1 Tratamento específico.....	27
11.2 Tratamento geral.....	28
12. Incidência da doença no Brasil.....	30
13. Conduta epidemiológica.....	32
14. Conduta Sanitária.....	34
15. Prevenção e Controle.....	35
15.1 Na indústria.....	35
15.2 Na comercialização.....	38
15.3 O consumidor.....	38
16. Considerações Finais.....	40
17. Referências Bibliográficas.....	41

1. INTRODUÇÃO

O termo botulismo, utilizado para designar a intoxicação provocada pelo *Clostridium botulinum*, provém de *botulus*, que significa salsicha em Latim, devido ao envolvimento deste alimento nos primeiros casos de botulismo cientificamente comprovados (FRANCO et al., 2001), que ocorreram na Europa, mais exatamente na Alemanha no séc. XVII (CVE, 2008).

Este microrganismo foi descrito, pela primeira vez, em 1897, por Emile Pierre Van Ermengem, após uma investigação de um surto com 33 casos decorrentes de uma refeição comum (presunto, entre outras coisas) servida por um restaurante na cidade de Ellezelles, na Bélgica. O botulismo de origem alimentar é relativamente raro, mas pode matar rapidamente, e através de uma fonte comum alimentar contaminada pode expor muitas pessoas ao mesmo tempo (CVE, 2008).

Atualmente, três formas de botulismo são conhecidas: botulismo clássico corresponde à intoxicação causada pela ingestão de alimentos contendo neurotoxinas; botulismo de lesão, que é uma doença infecciosa causada pela proliferação e conseqüente liberação de toxinas em lesões infectadas com *Clostridium botulinum* e o botulismo infantil, que é também uma doença infecciosa causada pela ingestão de esporos de *Clostridium botulinum* e subseqüente germinação, multiplicação e toxigênese no intestino de crianças com menos de um ano de idade. Uma vez que a toxina é responsável pela sintomatologia do botulismo, as três formas dessa doença são clinicamente muito semelhantes (FRANCO et al., 2001).

Foram descritos também, casos de botulismo de crianças ou adultos por colonização intestinal, que é representado por aqueles casos nos quais, nenhum veículo alimentar pode ser identificado, não há nenhuma evidência de botulismo por ferimento e ocorre em crianças maiores de um ano de idade e em adultos. Investigações cuidadosas têm demonstrado que alguns desses casos foram devido à colonização do trato gastrintestinal por *Clostridium botulinum* com produção de toxina *in vivo*. Sabe-se também que em muitos casos de botulismo com forte suspeita de colonização intestinal, os pacientes tinham história de cirurgia gastrintestinal prévia ou de doença inflamatória do intestino o que poderia ter predisposto à colonização entérica (CVE, 2008).

Há ainda a descrição de quadros de intoxicação por via conjuntiva, através de aerossóis ou líquidos, por acidente em laboratório, em que a toxina alcança imediatamente a corrente sanguínea, desenvolvendo o quadro típico. Também por via respiratória, através da inalação da toxina, que acaba por atingir a corrente sanguínea, e alcança o sistema nervoso e os demais órgãos (CVE, 2008).

Segundo GELLI et al. 2002, surtos de botulismo são descritos em todos os continentes. O número de casos de botulismo e a letalidade tem diminuído devido a utilização do soro antitoxina botulínica, mas esta doença ainda permanece provocando riscos à saúde pública (OUAGARI et al., 2002).

GELLI et al. 2002 citam que, dos 294 surtos ocorridos nos EUA entre 1973 e 1977, 128 relacionaram-se ao consumo de vegetais, 47 de peixes, 16 de carnes, cinco de produtos lácteos, 3 de comida mexicana e os demais por outros tipos de alimentos, ou não foi possível identificá-los.

Na Argentina, de acordo com Escartin 2002, citado por GELLI et al. (2002), 16 surtos foram descritos entre 1980 e 1989. Frutas e vegetais foram responsáveis por 36% dos surtos, 29% estavam associados ao consumo de carne e 21% por peixes.

No final de 1996, um surto de botulismo afetou oito jovens na Itália. O alimento suspeito foi o queijo cremoso industrializado (Mascarpone), pois este tinha sido consumido por todos os pacientes antes do início dos sintomas. A toxina do tipo A foi encontrada em algumas amostras do queijo (AURELI et al, 2002).

Entre 1993 e 1996, 70 casos foram identificados na França (todos com toxina do tipo B). O alimento de maior impacto para saúde humana foi o presunto, mas a carne de porco cozida, vegetais enlatados e mariscos também foram implicados. Em 50% dos casos preparações caseiras em condições precárias foram relatadas (LECLERC et al., 2002).

Em 1997, ocorreu nos EUA um caso de botulismo pelo consumo de ovo em conserva. A toxina do tipo B foi detectada na amostra do alimento e no soro do paciente (CDC, 2000).

Em fevereiro de 2002, dois irmãos sul-africanos, com idade de oito e 12 anos, desenvolveram uma paralisia flácida aguda e morreram. Bioensaios em camundongos revelaram a presença da toxina do tipo A no soro das duas crianças e nos restos do alimento implicado. O alimento implicado foi peixe enlatado com molho de tomate (FREAN et al., 2004).

Em 2004 foram descritos cinco casos de botulismo alimentar em Portugal: três ocorreram de forma isolada e dois casos simultâneos em indivíduos da mesma família. Quatro associaram-se à ingestão de presunto e um à ingestão de atum enlatado (CARDOSO et al., 2004).

Contudo, as conservas caseiras constituem o maior risco para a saúde pública, em razão dos procedimentos inadequados na preparação dos alimentos (STEPHEN, 2001).

2. OBJETIVO

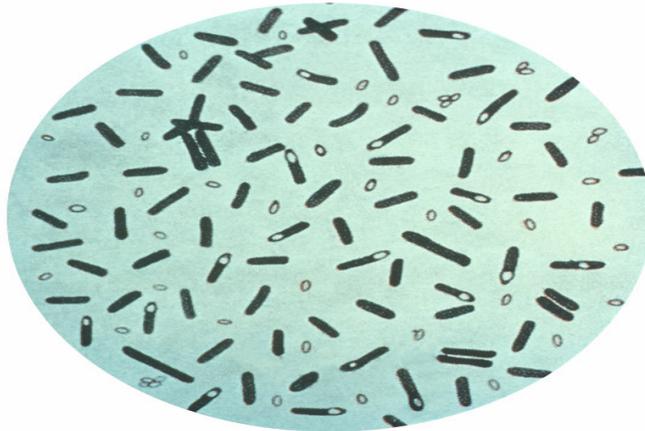
O objetivo deste trabalho é estudar a ação do *Clostridium botulinum*, suas conseqüências e como fazer a prevenção e controle deste microrganismo nos alimentos.

3. AGENTE ETIOLÓGICO

O *Clostridium Botulinum* é um bacilo gram positivo, produtor de esporos, encontrado com freqüência no solo, alimentos, fezes humanas e animais (FRANCO et al., 2001). São bastonetes retos ou levemente curvos com flagelos piritríquios, apresentam cápsula e são móveis, anaeróbicos, com esporos ovais e sub-terminais (Figura 1). Para produzirem a toxina necessitam de pH básico ou próximo do neutro (CVE, 2008).

São sete os tipos de *Clostridium Botulinum* (de A á G), que se distinguem pelas características antigênicas da neurotoxina que produzem, embora tenham ação farmacológica similar. Os tipos A, B e E, e, raramente o F, causam doenças em humanos. Nestes, o tipo E, está associado ao consumo de pescados e frutos do mar, em conservas ou defumados. Os tipos C e D são causa da doença em pássaros e mamíferos (TRABULSI et al., 1999).

Figura 1: Morfologia do *Clostridium botulinum*

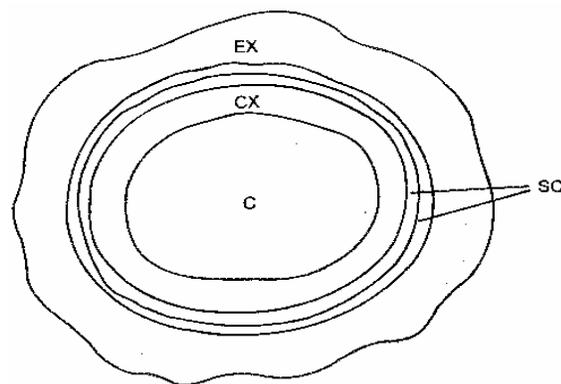


Fonte: http://upload.wikimedia.org/kikipedia/commons/5/58/clostridium_botulinum_01.png

4. RESISTÊNCIA DOS ESPOROS

O esporo é constituído por uma estrutura formada por um centro contendo o material genético da bactéria, envolvido por várias camadas de mucopeptídeos e capas externas de natureza protéica (Figura 2). A formação de esporos é importante para a microbiologia dos alimentos, pois estas estruturas são resistentes ao calor, radiações ionizantes, compostos químicos, desidratação e congelamento (FRANCO et al., 2001).

Figura 2 : Esporo bacteriano típico



Fonte: Franco et al., 2001

Ex = exósporo; SC = capas do esporo; Cx = córtex; C = região central

A estrutura típica bacteriana apresentada na figura 2 possui Região Central (C): O Protoblasto do esporo que é rico em Cálcio e ácido dipicolíco, formando o dipicolinato de cálcio, que formam um gel. Nesta região também são encontrados enzimas, DNA, RNA e outros minerais além do Cálcio. Córtex (Cx): Camada que envolve a região central (protoblasto), que é composta por peptideoglicanos. As capas dos esporos (SC) que são constituídas por proteínas, carboidratos e lipídios. Essas capas são importantes na resistência dos esporos a certos agentes antibacterianos, como por exemplo, a Lisozima. E uma capa externa (Ex) constituída de proteínas, lipídios e carboidratos. Todas essas estruturas estão relacionadas à resistência do esporo de *Clostridium botulinum* (FRANCO et al., 2001).

Os esporos do *Clostridium botulinum* são as formas mais resistentes que se tem encontrado entre os agentes bacterianos, podendo sobreviver por mais de 30 anos em meio líquido e, provavelmente, mais tempo ainda em estado seco (RADOSTITS et al., 2002). Podem tolerar temperaturas de 100°C por horas (Tabela 1). Para destruir os esporos, os alimentos contaminados devem ser aquecidos a 120°C por 30 minutos (TRABULSI et al, 1999).

Tabela 1: Condições de tempo temperatura para destruição do *Clostridium botulinum*

Tempo em minutos	Temperatura
316	100°C (212°F)
121	105°C (221°F)
36	110°C (230°F)
12	112,2°C (234°F)
4	120°C (248°F)

Fonte: Pardi et al., 1996

5. TOXINA BOTULÍNICA

As toxinas botulínicas são proteínas simples, antigênicas, solúveis em água, estáveis em meio ácido e em salmouras contendo até 26,6% de sal; são ainda termolábeis, sendo destruídas pelo aquecimento à 80°C durante 30 minutos ou à 100°C durante 5 minutos, quando expostas a luz solar por 1 à 3 horas, à temperatura ambiente por 12 horas, ou em 20 minutos em água clorada (destruição de 84%) (ROITMAN et al., 1991).

O peso molecular é variável, oscilando entre 5.000 à 900.000 dáltons, sendo mais freqüente entre 50.000 à 250.000 dáltons (TRABULSI, et al; 1999).

Uma grama de toxina botulínica do tipo A é suficiente para matar 30 milhões de camundongos (SCARCELLI & PIATTI, 2002). A dose letal da toxina botulínica para o ser humano não é conhecida, mas pode ser estimada pelos resultados encontrados em primatas. Tem-se, por exemplo, uma dose letal para toxina tipo A em um homem de 70 Kg igual à 0,09-0,15µg por via intravenosa ou intramuscular, de 0,70-0,90µg por inalação, ou ainda de 70µg por via oral (STEPHEN, 2001).

Existem toxinas proteolíticas e não proteolíticas. Normalmente estas toxinas precisam ser ativadas para evidenciar máxima toxicidade; nos casos proteolíticos (A, B e F), essa ativação é desnecessária, sendo, no entanto, fundamental para o tipo E e outros não proteolíticos. A tripsina é a mais eficiente das enzimas utilizadas na ativação da toxina, cabendo lembrar que o tempo de contato deve ser controlado para não reduzir o efeito tóxico (ROITMAN et al., 1991).

As toxinas botulínicas são as mais potentes toxinas conhecidas (GELLI et al., 2002). Estas não atingem o sistema nervoso central devido à barreira hematoencefálica, não ocorrendo, portanto, perturbações de origem central, permanecendo o paciente, comumente, consciente durante a evolução do quadro.

As toxinas atuam nas junções neuromusculares, provocando paralisia funcional motora sem a interferência com a função sensorial. Os efeitos farmacológicos das toxinas acometem principalmente os nervos periféricos, os quais tem a acetilcolina como mediador (CDC, 2000).

6. ALIMENTOS ASSOCIADOS

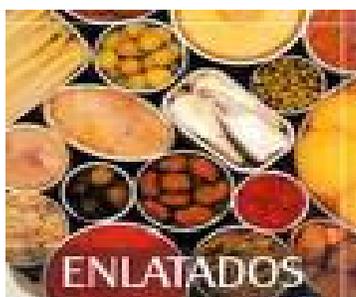
Muitos são os alimentos descritos como responsáveis pelo botulismo, tais como embutidos de carnes em geral (por exemplo salsicha, salame, presunto) (Figura 5) ou conservas em lata e vidro de doces (Figura 3); hortaliças; legumes (por exemplo palmitos, aspargos, cogumelo, alcachofra, pimentões, berinjela, alho, picles) (Figura 7); peixes; frutos do mar (Figura 6), e outros, especialmente acondicionados em embalagens á vácuo, sem oxigênio, sem o tratamento adequado, que favorecem o desenvolvimento da bactéria, e assim, a produção da toxina (TRABULSI et al., 1999).

Figura 3: Conservas



Fonte: http://correiogourmand.com.br/images/cg_prod_alim_conservas_15_320.jpg

Figura 4: Enlatados



Fonte: <http://www.emporiodobrasil.com/sitebuildercontent/sitebuilderpictures/enlatados.jpg>

Figura 5: Embutidos

Fonte: http://correiogourmand.com.br/images/cg_prod_alim_embutidos_03_170.jpg

Figura 6: Peixes e frutos do mar

Fonte: http://marcelokatsuki.folha.blog.uol.com.br/images/montagem-frutos_mar.jpg

Figura 7. Hortaliças e legumes

Fonte: <http://wwwusers.rdc.puc-rio.br/anabranc/imagens/itinerante/rumonordeste2006/03-desenho-de-hortaliças.jpg>

7. BOTULISMO INFANTIL

O botulismo infantil, também conhecido com botulismo de lactentes (associado à Síndrome da Morte Súbita do Recém – Nascido), ocorre em crianças muito jovens devido à absorção de toxina produzida *in vivo*, no intestino da criança. A ausência de microbiota de proteção permite que o esporo de *Clostridium botulinum* ingerido germine e ocorra a produção de toxina na luz intestinal. A doença esta normalmente associada ao consumo de mel contaminado, por isso este alimento não deve ser fornecido para crianças menores de um ano de idade (CIÊNCIA RURAL, 2008).

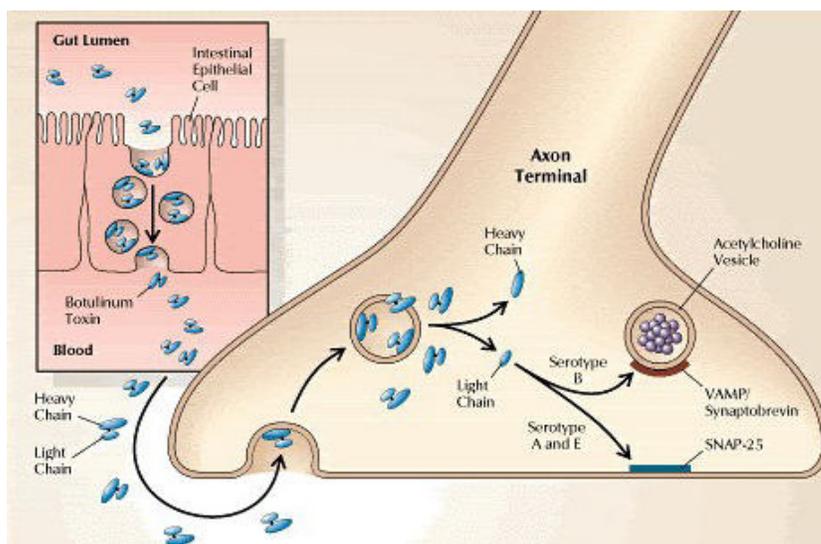
O botulismo infantil é outra forma importante da doença. No Brasil, no Centro Nacional de Epidemiologia, o Programa de Vigilância do botulismo iniciou-se em 1999, e, até julho de 2002, 15 casos de botulismo infantil foram notificados (BRASIL, 2002). Nos EUA, desde 1973, uma média de 71 casos de botulismo infantil ocorreram anualmente (SHAPIRO et al., 1998).

SCHOCKEN-ITURRINO et al. (1999) analisaram 85 amostras de mel comercializado em diferentes Estados do Brasil. Ocorreu multiplicação bacteriana do gênero *Clostridium* em 23 amostras. Seis foram positivas para o *Clostridium botulinum* (7,06%) e identificadas como produtoras de toxinas dos tipos A, B e D. RALL et al. (2003) investigaram a ocorrência de *Clostridium botulinum* em 100 amostras de mel comercializado no Estado de São Paulo e encontraram 3% delas positivas, considerando assim o mel um produto de risco, no que diz respeito ao botulismo infantil. RAGAZANI (2004) avaliou microbiologicamente 100 amostras de mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros, entre 2002 e 2003. Destas amostras, 39% apresentavam bactérias. Entre essas, 11% eram do gênero *Clostridium* e 7% foram confirmadas como *Clostridium botulinum*.

8. FISIOPATOGENIA

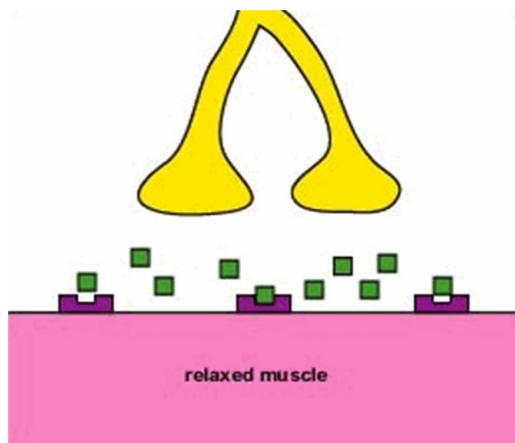
A germinação dos esporos no alimento ocorre em condições anaeróbicas (alimentos embalados ou lacrados) em que o pH é superior a 4,5 e com uma elevada atividade água, assim a forma de esporo se transforma na forma vegetativa produzindo a toxina dentro do recipiente durante o armazenamento (SCARCELLI & PIATTI, 2002). Com isso, a toxina pré-formada nos alimentos é ingerida, devendo inicialmente atravessar a barreira do trato gastrointestinal. O ponto de máxima absorção da toxina é no intestino delgado, penetrando inicialmente no sistema linfático e posteriormente alcançado a corrente sanguínea. A seguir a toxina é transportada pela corrente sanguínea aos nervos; nestes, a toxina liga-se aos terminais pré-sinápticos dos nervos colinérgicos, interferindo na liberação da acetilcolina nas junções mioneuronais (Figura 8). Em consequência, haverá falhas na transmissão de impulsos através das junções das fibras nervosas, resultando na paralisia dos músculos que estes nervos controlam (MURRAY, 2000).

Figura 8: Mecanismo de ação da toxina



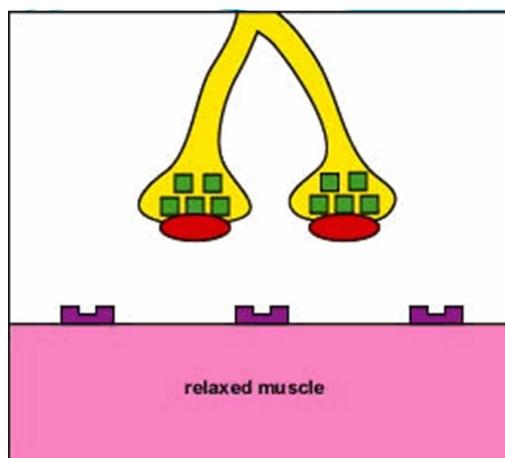
Fonte: <http://farmafir.blogspot.com/2007/01/toxinabotulinica.html>

Figura 9. Mecanismo de ação da Acetilcolina



Fonte: Roque Oliveira Villarreal, 2008

Figura 10. Ação da toxina botulínica nos terminais nervosos



Fonte: Roque Oliveira Villarreal, 2008

Obs: As figuras 9 e 10 foram cedidas por Roque Oliveira Villarreal de seu arquivo pessoal

9. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O Botulismo de origem alimentar tem um período de incubação que, em geral, varia de 12 a 36 horas, dependendo da quantidade de toxina ingerida. A doença inicia-se às vezes com problemas gastrintestinais como náuseas, vômitos e diarreia, mas estes efeitos não são causados pela neurotoxina, já que inexitem nos casos de botulismo de lesão e de botulismo infantil. Às vezes, a diarreia ocorre nos primeiros estágios da doença, e, em seguida, é substituída pela constipação intestinal (FRANCO et al., 2001).

O início da ação da neurotoxina botulínica provoca fadiga e fraqueza muscular. O quadro neurológico se instala com manifestações de cefaléia, vertigem, ptose palpebral (Figura 11), disfagia, paralisia facial bilateral, redução dos movimentos da língua e dificuldade para sustentar o pescoço. A paralisia se instala e não há alteração do nível de consciência (FIGUEIREDO et al., 2006).

A musculatura que controla a respiração é progressivamente paralisada, podendo provocar a morte em três a cinco dias por parada respiratória (FRANCO et al., 2001).

Figura 11. Ptose palpebral



Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/abo/v70n3/28f1.jpg>

10. DIAGNÓSTICO DE BOTULISMO

O botulismo é diagnosticado através dos sinais e sintomas, pela detecção e triagem da toxina no sangue do paciente e pelos testes complementares nos alimentos suspeitos.

10.1 Anamnese

A anamnese deve ser dirigida, buscando verificar os tipos de alimentos ingeridos, tempo de ingestão e aparecimento da doença, a possível existência de outros casos e fontes comuns de ingestão, além da caracterização dos sinais e sintomas apresentados. O exame neurológico consiste da pesquisa do grau de incapacidade muscular devendo ser realizadas provas exploratórias motoras (de cabeça, pálpebras, membros superiores e inferiores, mãos e dedos, deslocamento corporal no leito) e de fonação, com registro de intensidade e de localização, a cada 2 horas (CVE, 2008).

O diagnóstico fica ainda mais provável se um paciente adulto relata ter recentemente ingerido conservas de alimentos, enlatadas ou em vidro, caseiras ou não, e se membros da família estão similarmente doentes. Se o quadro clínico típico está presente e nenhum item alimentar pode ser apontado com precisão como o provável veículo de transmissão, deve se investigar um fermento contaminado. Se o quadro clínico é típico e o fermento identificado, o fermento deve ser explorado e exames laboratoriais de cultura e teste de toxicidade devem ser realizados (VERONESI et al., 2002).

10.2 Exames laboratoriais e complementares no paciente

Deve ser feita a investigação da toxina no sangue do paciente, cuja coleta deve ser o mais precoce possível e antes da administração do soro (antitoxina) específico. A coleta tardia do sangue pode impedir a sua detecção, pois esta vai sendo rapidamente absorvida pelos tecidos. Em geral, após oito dias do início da doença, a toxina não é mais encontrada (BROOKS et al., 2000).

A pesquisa da toxina botulínica nas fezes (conteúdo intestinal) e lavado gástrico pode ser um meio auxiliar importante no diagnóstico. Além da determinação da toxina, o diagnóstico pode ser complementado por cultura do *Clostridium botulinum* nos casos de botulismo infantil, por ferimentos e por causa indeterminada. A coleta de coprocultura de rotina será importante também para o diagnóstico diferencial entre algumas doenças transmitidas por alimentos que possam apresentar quadros similares (BROOKS et al., 2000).

Estudos laboratoriais de rotina não são úteis na confirmação da suspeita clínica de botulismo e serão normais se nenhuma complicação secundária ocorrer. O exame de líquido cérebro espinhal, em geral é normal (CIMERMAN et al., 2004).

Estudos radioneurológicos normais, tais como tomografia computadorizada ou ressonância magnética ajudam no diagnóstico de traumatismos cranianos ou outras condições neurológicas que podem ser confundidas com botulismo (CVE, 2008).

A realização de eletroneuromiografia (ENMG) evidencia que o impulso nervoso está bloqueado no nível muscular e não no SNC. A ENMG é, na maioria das vezes útil, quando conduzida com estimulações repetitivas em 50 Hz. ENMGs devem ser realizados em músculos clinicamente comprometidos e os resultados positivos podem ser obtidos de somente um músculo, ainda que muitos estejam acometidos. Por causa das variações dos resultados em ENMG e suas interpretações, este exame deve ser feito por profissionais com experiência neste procedimento (CVE, 2008).

Os testes de detecção da toxina no soro do paciente, cultura de tecidos desbridados de um ferimento e teste de toxicidade, além de cultura de fezes e exames em alimentos incriminados são os melhores métodos para confirmar o diagnóstico de botulismo. Fezes e amostra de soro devem ser coletadas precocemente, pois aumentam a probabilidade de se obter resultados positivos (MURRAY, 2000).

A administração de antitoxina é a única terapia específica para o botulismo e evidências sugerem que é efetiva somente quando dada precocemente no curso da disfunção neurológica. Desta forma, o diagnóstico não pode aguardar os resultados dos estudos que podem demorar e serem confirmatórios em apenas alguns casos. O

diagnóstico deveria ser feito com base na história do caso e nos achados clínicos (VERONESI et al., 2002).

10.3 Exames laboratoriais nos alimentos suspeitos

São importantes para detecção da toxina, auxiliar no diagnóstico da doença e para a tomada de providencias sanitárias e medidas de prevenção. Os alimentos suspeitos devem ser conservados e devidamente acondicionados em geladeira para possibilitarem a investigação epidemiológica e sanitária. As amostras coletadas devem ser transportadas sob refrigeração (CIMERMAN et al., 2001).

11. TRATAMENTO

O tratamento deverá ser feito em unidade de terapia intensiva (UTI), abrangendo os seguintes aspectos principais: (CVE, 2008).

1. Administração de antitoxina botulínica, na tentativa de prevenir a progressão neurológica da doença, nos casos moderados e de progressão lenta, ou para encurtar a duração da falência das funções ou dificuldade respiratória, nos casos severos e de progressão rápida.
2. Monitorização cuidadosa da capacidade vital respiratória e suporte respiratório efetivo para aqueles com insuficiência ventilatória (o monitoramento da capacidade vital respiratória deve ser iniciado tão logo o diagnóstico é estabelecido);
3. Cuidado intensivo e meticuloso apropriado para uma doença paralítica de longa duração.

11.1 Tratamento Específico

A soroterapia específica é feita com soro anti-botulinico, específico para o tipo imunológico ou polivalente (anti A, B, E e F) (CVE, 2008). Essa terapia será mais efetiva se instituída precocemente. A toxina eqüina atua contra a toxina circulante e neutraliza somente moléculas ainda não fixadas às terminações nervosas. Por este motivo, nos casos tardios a antitoxina poderá não ser mais eficaz. (FIGUEIREDO et al., 2006). Teste dermatológico de sensibilidade deve ser realizado antes da administração do soro anti-botulinico. A administração de uma ampola de 10ml de antitoxina botulínica trivalente, por via intravenosa, resulta em níveis séricos de anticorpos do tipo A, B e F suficientes para a neutralização da toxina circulante nos pacientes com botulismo. Depois de realizado o teste de sensibilidade, a administração de apenas um frasco de 10ml de antitoxina deve ser feita por via intravenosa, e não necessita ser repetida, ao contrário do que recomendam as bulas dos produtos disponíveis no mercado, uma vez que a circulação de antitoxina tem uma meia vida de 5 a 8 dias (CVE, 2008).

Este tratamento não é sem risco, sendo que estudos mostram que aproximadamente 9% das pessoas tratadas experimentam reações de hipersensibilidade. Daí á importância que seja feito o diagnostico com outras síndromes neurológicas e que os médicos reconheçam o botulismo precocemente em seu curso (BROOKS et al., 2000).

A antitoxina eqüina raramente tem sido usada em botulismo infantil por causa do risco de induzir hipersensibilidade ao longo da vida á antígenos eqüinos e também por causa de reações anafiláticas que podem ser mais severas em crianças (MURRAY, 2000).

O soro anti-botulinico deverá ser solicitado á central de vigilância epidemiológica-Disque CVE -Centro de Referência do Botulismo, sediados no Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, através do telefone 0800 55 54 66. Esta central repassará todas as informações necessárias á obtenção do soro, a partir da discussão detalhada do caso, mediante solicitação por escrito e em formulário próprio (CVE, 2008).

Outras orientações técnicas importantes como procedimentos para a coleta dos exames laboratoriais do paciente e do alimento, retaguarda laboratorial, condições de transporte dos espécimes, investigações epidemiológicas e sanitárias também serão fornecidas (CVE, 2008).

11.2 Tratamento Geral

Medidas para eliminar a toxina do aparelho digestório: quando oportuno, lavagem do estômago e clisteres devem ser feitos (VERONESI et al., 2002).

Antibiótico - indica-se o uso de antibióticos para o tratamento de infecção secundária, segundo a teoria da toxi-infecção, de que há o crescimento de *Clostridium botulinum* no intestino humano e em ferimentos profundos com produção da toxina, estaria também indicado o uso de antibiótico contra bacilo, além do tratamento com o soro específico. No botulismo infantil, a antibióticoterapia deve ser empregada apenas em infecções secundárias, pois a destruição bacteriana na luz intestinal pode aumentar a absorção da toxina. Aminoglicosídeos podem potencializar os efeitos da toxina (CIMERMAN et al., 2004).

Ação no mecanismo fisiopatogenico da doença: medicamentos utilizados para neutralizar o bloqueio muscular têm resultados controversos. A administração de indutores da liberação de serotonina tem efeito antitóxico no botulismo, sendo os mais usados a Reserpina e a Clorpromazina (CVE, 2008).

Terapêutica de sustentação: em todas as formas da doença, o aspecto mais importante são os cuidados de suporte ao paciente, particularmente respiratórios e nutricionais. Realizar controles freqüentes do meio interno (VERONESI et al., 2002). A assistência respiratória é essencial para evitar o óbito, que pode ocorrer devido à insuficiência respiratória, comprometimento da deglutição e freqüentes crises obstrutivas por muco viscoso. O controle oftalmológico é necessário para evitar lesões da conjuntiva ou córnea, devido á diminuição da secreção lacrimal. O controle cardiológico é fundamental, uma vez que a toxina atinge todos os órgãos podendo haver parada cardiorespiratória e óbito (CIMERMAN et al., 2004).

12. OCORRÊNCIA DA DOENÇA NO BRASIL

A ocorrência da doença é baixa no mundo, porém, com alta letalidade se não tratada adequada e precocemente. Em todos os países do mundo, são conhecidos casos esporádicos ou em grupos de pessoas, relacionados à ingestão de alimento preparado e conservado em condições que permitam a produção da toxina pelo bacilo. Alguns casos de botulismo podem estar subnotificados devido às dificuldades diagnósticas (CIÊNCIA RURAL, 2008).

No Brasil, não há dados sistematizados sobre a incidência, formas de botulismo, tipos de toxinas, mortalidade e distribuição geográfica, até porque as doenças transmitidas por alimentos são uma preocupação muito recente (CIÊNCIA RURAL, 2008).

Segundo EDUARDO et al. (2002), o primeiro caso de botulismo confirmado no Estado de São Paulo ocorreu em 1990, quando uma pessoa desenvolveu a doença após consumir conserva vegetal caseira (picles), que apresentava toxina botulínica do tipo A.

Posteriormente, entre 1997 e 1999, ocorreram 3 casos confirmados de botulismo de origem alimentar provocados pela ingestão de conserva de palmito contendo a toxina do tipo A. Diante desses casos, a Vigilância Sanitária Nacional determinou a rotulagem de todos os produtos nacionais e estrangeiros, na prateleira e na fábrica, com a seguinte advertência para o consumidor: “Para sua segurança, ferva este produto, por 15 minutos, antes de ser consumido”, pois, todo o palmito passou a ser considerado suspeito (EDUARDO et al., 2002).

SANTIAGO (1972) relatou a primeira epidemia de botulismo do Brasil, que ocorreu em 1958, no estado do Rio Grande do Sul, em que nove pessoas morreram após consumirem conserva caseira de peixe.

SERRANO (1982) descreveu um surto de botulismo de origem alimentar, que ocorreu no Estado do Rio de Janeiro em 1982, em que 2 pessoas foram acometidas, sendo que uma morreu. O alimento incriminado foi patê de galinha, mantidos em condições insatisfatórias de refrigeração.

Um surto de botulismo ocorreu no Estado de Minas Gerais em 1987, e envolveu sete pessoas de uma mesma família após a ingestão de carne suína conservada sob a forma de enlatado caseiro. Onze meses após, ocorreu um novo

caso, e este episódio passou a ser considerado a segunda epidemia de botulismo ocorrida no Brasil (GELLI et al., 2002).

13. CONDUTA EPIDEMIOLÓGICA

Notificação do caso: a ocorrência de um único caso de Botulismo de origem alimentar representa uma emergência de saúde pública, pois pode ser um prenúncio de um grande surto, devido a possibilidade de haver outros casos resultantes da ingestão de uma fonte única de alimentos contaminados, os quais podem ainda estar disponíveis para o consumo (PARDI, et al. 1995).

O médico ao se deparar com quadros neurológicos abruptos, em pacientes geralmente saudáveis, e com história de ingestão de alimentos suspeitos (conservas em latas ou vidros, embutidos, ou compotas) deve discutir o caso imediatamente com o serviço de Vigilância Epidemiológica local/municipal, regional ou estadual. As autoridades de saúde pública do estado devem contatar imediatamente a Central de Vigilância Epidemiológica – Disque CVE – Centro de Referência do Botulismo do Estado de São Paulo, cujos profissionais estão preparados para orientar sobre todos os aspectos técnicos e operacionais relativos à doença (CVE, 2008).

A investigação epidemiológica: é iniciada com a notificação do caso e deve ser imediatamente desencadeada pela equipe de Vigilância Epidemiológica, cumprindo os seguintes passos: a) levantamento da história do caso e de sua internação, obtendo-se esses dados dos médicos que realizaram o atendimento ao doente, bem como, de seus familiares. A investigação epidemiológica de um caso suspeito de botulismo inclui uma pesquisa imediata para levantar as possíveis causas do botulismo, a identificação de exposições alimentares suspeitas, bem como a confirmação do diagnóstico. Se um número maior de pessoas foi afetado, deve ser realizada uma rápida investigação epidemiológica para assegurar a identificação da fonte e controle do surto. Testes laboratoriais diagnósticos do paciente e dos alimentos devem ser realizados. b) Obtenção de dados importantes buscando estabelecer o início preciso da doença, sinais e sintomas, resultado dos exames neurológicos, alimentos consumidos dentro de um período mínimo de cinco dias, relacionando-os por ordem cronológica do consumo em relação ao início dos sintomas, procurando estabelecer o consumo comum entre o paciente e demais familiares ou outras pessoas, o que todos comeram, o que só o paciente comeu, o quanto foi ingerido de cada alimento, para buscar a responsabilização do alimento suspeito. c) acionar imediatamente a Vigilância Sanitária para coletar na casa, em

restaurantes ou em outros estabelecimentos, dependendo da história do alimento consumido, amostras dos alimentos ingeridos para a análise laboratorial de detecção da toxina. É muito importante que se consiga recolher exatamente os alimentos que foram consumidos pelo paciente, mas se não for possível, recolher exemplares da mesma marca da que foi ingerida (CVE, 2008).

Vigilância e acompanhamento dos familiares e comensais para detecção precoce de novos casos de botulismo; orientação aos familiares ou pessoas próximas que consumiram o alimento para procurarem o serviço médico frente a sinais e sintomas suspeitos (CIMERMAN et al., 2004).

Preenchimento da Ficha Individual de Notificação e Investigação de Botulismo e envio dos dados, conforme fluxo estabelecido (CVE, 2008).

14. CONDOTA SANITÁRIA

A Vigilância Sanitária deve: 1) Dar início á coleta de alimentos na casa do paciente ou estabelecimento onde foi feita a ingestão do alimento suspeito, para encaminhamento ao laboratório de análise. É importante recuperar informações como a marca do produto, local onde foi comprado, data de validade, quando foi aberto, onde estava armazenado e todas as demais informações a partir da descrição detalhada do rótulo, como nome e endereço do fabricante, distribuidor, número de lote, data de fabricação, etc. 2) Realizar a inspeção sanitária nos locais de fabricação dos alimentos suspeitos para verificação das condições higiênico-sanitárias, controles e técnicas de processamento, APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), BPF (Boas Práticas de Fabricação), origem da matéria-prima, verificação de lotes data de fabricação e validade, número de registro no Ministério da Saúde, número de registro no IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) (quando for o caso). Recolher amostras dos produtos para análises laboratoriais de pH, microbiológica e outras, e tomar as medidas sanitárias perante as infrações por ventura já detectadas (CVE, 2008).

15. PREVENÇÃO E CONTROLE

Três aspectos de importância são: O controle na indústria, na comercialização e os cuidados preventivos por parte do consumidor (PARDI et al., 1995).

15.1 Na indústria:

No âmbito industrial, independentemente do tratamento térmico, no caso de conservas enlatadas, visando especificamente à destruição das formas vegetativas, esporos e toxinas do *Clostridium botulinum*, devem ser adotadas determinadas normas destinadas a criar um meio que não permita o crescimento do germe ou a formação da toxina (PARDI et al., 1995).

Os principais fatores que influenciam a germinação e multiplicação do *Clostridium botulinum* (Tabela 2) são temperatura, pH e aw (atividade água), que é a quantidade de água livre para o microrganismo (SILVA E.A., 2002).

Tabela 2: Fatores ótimos e limitantes que influenciam os patógenos de origem alimentar mais comuns.

Microrganismo	Fatores que afetam o crescimento						
	Temperatura °C			pH			AW**
	mínima	ótima	máxima	mínimo	ótimo	máximo	mínimo
<i>Bacillus cereus</i>	5	30	50	4,4	7	9,3	0,93
<i>Campylobacter jejuni</i>	25	42	45	4,9	7	9,0	0,98
<i>Clostridium botulinum</i> A e B	10	37	50	4,8	7	8,5	0,95
<i>Clostridium botulinum</i> tipo E	3	30	45	5,0	7	8,5	0,97
<i>Clostridium perfringens</i>	15	46	50	5,0	7	8,9	0,96
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	37	44	4,5	7	8,0	*
<i>Salmonella sp.</i>	6	43	46	3,8	7	9,0	0,95
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	37	48	4,3	7	9,0	0,83
<i>Vibrio cholerae</i>	5	37	44	6,0	7	11	0,97
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	3	37	44	4,8	8	9,0	0,93
<i>Vibrio vulnificus</i>	8	37	43	5,0	8	9,0	0,93
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3	30	43	4,4	7	9,6	0,97

Fonte: Silva, E.A., 2002

O tempo de redução decimal ou valor D é o tempo de tratamento térmico necessário para destruir 90% dos esporos ou células vegetativas de um dado microorganismo. Já o valor Z ou resistência do microorganismo á diferentes temperaturas corresponde ao aumento necessário na temperatura para reduzir a décima parte o tempo de redução decimal ou valor D (Tabela 3) (BARUFFALDI et al., 1998).

Tabela 3: Resistência térmica dos microrganismos.

<i>Microrganismos Esporulados</i>	Temperatura (°C)	D (min)	Z (°C)
<i>Clostridium botulinum</i>	121	0,1 a 0,2	
<i>Clostridium botulinum</i> tipo A (proteolítico)	121	0,13	9,0
<i>Clostridium botulinum</i> tipo B (proteolítico)	121	0,15	11,0
<i>Clostridium botulinum</i> tipo B (não-proteolítico)	82,2	1,5 a 32,3	8,3 a 16,5
<i>Clostridium botulinum</i> tipo E (não-proteolítico)	77	0,77 a 1,95	
<i>Clostridium botulinum</i> tipo F (proteolítico)	121	0,14 a 0,22	9,3 a 12,1
<i>Clostridium botulinum</i> tipo F (não-proteolítico)	77	1,6 a 9,5	
<i>Clostridium botulinum</i> tipo G (proteolítico)	115,6	0,25 a 0,29	20,9 a 27,3
<i>Bacillus cereus</i>	100	5,5	
<i>Bacillus coagulans</i>	96	8,0	
	121	3,0	
<i>Bacillus licheniformis</i>	100	13,0	
<i>Bacillus subtilis</i>	121	0,3 a 0,7	
<i>Clostridium butyricum</i>	85	12 a 23	
<i>Clostridium perfringens</i>	100	0,3 a 17,6	
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	121	16	7,7
<i>Clostridium termosaccharolyticum</i>	121	68	11,0
<i>Bactérias Vegetativas</i>	Temperatura (°C)	D (min)	Z (°C)
<i>E. coli</i> (leite)	70	0,04	6,5
<i>L. plantarum</i> (suco de tomate)	70	11,0	12,5
<i>Listeria monocytogenes</i> (carne bovina crua)	70	0,15	6,7
<i>Salmonella typhimurium</i> (leite 51%)	70	0,35	6,8
<i>Staphylococcus aureus</i> (leite)	70	0,30	5,1
<i>Streptococcus faecalis</i> (caldo)	70	2,84	17,0
<i>Micobacterium lacticum</i> (leite desnatado)	70	4,0	
<i>Leveduras</i>	Temperatura (°C)	D (min)	Z (°C)
<i>Saccharomyces</i>		1,0 a 22,5	4,0 a 6,5
<i>Kluyveromyces bulgaricus</i>	60	20 a 40	

Fonte: BARUFFALDI et al., 1998.

Além disso, no caso de produtos de origem animal, a adição de nitrato e nitrito (conservantes), associada ou não ao NaCl (sal), e temperaturas de refrigeração, são controles adequados contra o desenvolvimento da bactéria impedindo, desta forma, a produção da toxina. O Nitrato e Nitrito, de Sódio ou de potássio, além de inibirem o crescimento do *Clostridium Botulinum*, são estabilizadores da cor vermelha da carne (FRANCO et al., 2001). Segundo Art. 372 do RIISPOA (Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal), o emprego de

Nitratos e Nitritos, de sódio ou de potássio ou de qualquer combinação entre eles, só pode ser feito em quantidades tais que, no produto pronto para o consumo, o teor em Nitrito não ultrapasse duzentas partes por milhão. Tolera-se nos produtos prontos a presença de nitritos na proporção máxima de duzentas partes por milhão e de nitratos até uma parte por mil, separadamente (BRASIL, 1952).

Complementa-se o processamento posteriormente, pela inspeção sanitária e tecnológica das latas (PARDI et al., 1995). Segundo Artigo 386 do RIISPOA diz que a Inspeção Federal levará em conta no exame dos produtos enlatados (BRASIL, 1952):

1. O estado e condições do recipiente, que não devem apresentar falhas de estanagem, estar isento de ferrugem ou outros defeitos, não estar amassado, nem apresentar orifícios;
2. Não se mostrar bombeado;
3. Submetido à prova de percussão deve relevar som correspondente à natureza do enlatado;
4. À perfuração, não deve ocorrer desprendimento de gases, nem projeção de líquido, ao mesmo tempo que a entrada de ar nos continentes submetidos à vácuo produzirá um ruído característico, diminuindo consideravelmente a concavidade da tampa oposta;
5. Nas conservas que tomam a forma da lata, é recomendável tirá-las num só bloco, para exame das superfícies;
6. A conserva deve revelar cheiro, sabor e coloração próprios ao tipo;
7. À fragmentação, não deve demonstrar a presença de tecidos inferiores ou de outros que não constem da formula aprovada;
8. No exame microbiológico e químico serão realizadas as provas que couberem em cada uso e de acordo com as técnicas de laboratório aprovadas pelo D.I.P.O.A. (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal);
9. As conservas enlatadas não devem apresentar reação de amônia e apenas ligeiros vestígios de hidrogênio sulfurado ao saírem do estabelecimento produtor.

15.2 Na comercialização:

A higiene dos estabelecimentos industriais e de processamento é importante no sentido de que eles não sejam transformados em fonte de contaminação. É fundamental também que a rede varejista obedeça ao prazo de validade e as exigências de manutenção dos diferentes produtos, à constância das temperaturas prescritas e as condições de umidade e de higiene em geral (PARDI et al., 1995).

15.3 O consumidor:

Ao consumidor, recomenda-se, independentemente da adoção de cuidados quanto à procedência do alimento, pressionar para que os varejistas obedeçam às boas regras de manutenção dos produtos (STEPHEN, 2001).

Devem-se rejeitar os produtos envasados com sinais de fermentação ou enlatados com bombeamento, não provando qualquer alimento com mostra de deterioração. A mais leve suspeita deve ferver o alimento pelo menos por 15 minutos. Deve evitar ainda o consumo de alimentos crus ou pré-cozidos, que foram descongelados e mantidos á temperatura ambiente. Mesmo os produtos cozidos em condições normais de meio ambiente, devem ser submetidos á nova cocção (PARDI et al., 1995).

As conservas comerciais não esterilizáveis, em latas ou vidros, especialmente de vegetais, podem ser seguras desde que submetidas à acidificação ou outras manipulações adequadas para inibir o desenvolvimento do microrganismo (BARUFALDI et al., 1998).

As pessoas que fazem conservas em casa devem ser orientadas sobre o tempo apropriado, pressão e temperaturas requeridas para destruir os esporos; sobre a necessidade de refrigeração adequada para o armazenamento de alimentos incompletamente processados, e sobre a efetividade da fervura das latas ou vidros para destruir a toxina botulínica (STEPHEN, 2001). Em conservas caseiras de vegetais, a destruição dos esporos pode ser alcançada através do aumento da pressão durante o cozimento, que permite atingir temperaturas seguras, acima da temperatura de fervura (>100°C) (BARUFALDI et al., 1998). Já a toxina botulínica é

termolábil e pode ser inativada pelo aquecimento á 80°C por 10 minutos. Assim, o risco do botulismo por alimentos caseiros, enlatados ou em vidro, pode ser reduzido pelo aquecimento imediatamente antes do consumo (FRANCO et al., 2001).

As conservas enlatadas de Produtos de origem animal recebem tratamento de esterilização comercial, que consiste em fornecer ao produto uma temperatura de 121°C por um determinado tempo que permita que cada partícula do alimento seja exposta a essa temperatura por 3,5 minutos o que possibilita uma redução 12D. Já as conservar de vegetais tenros (palmito, alcachofra, pimentão, etc.) que, por suas características não suportam uma esterilização comercial à 121°C, o que não garante que cada partícula do alimento receba um tratamento 12D. Estas exigem processamento cuidadoso como, lavagem e desinfecção, acidificação adequada, salmoura adequada, tamanho adequado, além das técnicas normais de produção dos alimentos, controle de pontos críticos na produção (APPCC), controle e garantia de qualidade, condições higiênico-sanitárias adequadas dos estabelecimentos e licença e registro na Vigilância Sanitária (CVE, 2008).

16. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando-se em consideração os dados apresentados bem como a importância do botulismo como um problema de saúde pública, é indispensável relatar que o maior perigo de contaminação está nos alimentos preparados de forma artesanal, principalmente em conservas caseiras.

A esterilização comercial à temperatura de 121°C inibe o *Clostridium botulinum* dentro da lata.

A utilização das ferramentas de qualidade PPHO (Procedimento Padrão de Higiene Operacional), BPF (Boas Práticas de Fabricação) e APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) são elementos auxiliares importantes para a prevenção da doença.

A manutenção de pH inferior a 4,6, aw menor que 0,96 e nitrito e nitrato de 150 a 200ppm são fundamentais para impedir que a forma de esporo passe para a forma vegetativa e produza a toxina.

Portanto a utilização de Inspeção e Tecnologia adequadas de tratamento botulínico inibem o *Clostridium botulinum*.

17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AURELI, P. et al. Na outbreak in Italy of botulism associated with a dessert made With Mascarpone cream cheese. **European Journal of Epidemiology**, Roma, v.16, n.10, p.913-918, 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 5 ed. Brasília: FUNASA, p.842, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. D.I.P.O.A, Brasília, 1952.
- BROOKS, P. R. **Microbiologia Médica**. 3^o edição, editora Guanabara Koogan, p.252-254, 2000.
- CARDOSO, T. et al. Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos. **ACTA Médica portuguesa**, Lisboa, v.17, p.54-58, 2004.
- CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION/ CDC. Foodborne botulism from eating Home-Pickled Eggs – Illinois, 1997. **CDC**, Atlanta, v.49, n.34, p.57-61, 2000.
- CIMERMAN, S; CIMERMAN, B. **Condutas em Infectologia**. Editora Atheneu, p.183-191, São Paulo, 2004.
- EDUARDO, M.B.P. et al. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água: Clostridium botulinum/Botulismo**. São Paulo: Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, p.41, 2002.
- FIGUEIREDO, M. A. A; DIAS, J; LUCENA, R. **Revista da sociedade brasileira de Medicina tropical**. V.39, n.3, Uberaba, maio-jun, 2006.

FRANCO, B. D. G. M. et al. **Microbiologia dos Alimentos**. v.2, Editora Atheneu, p. 139-145, São Paulo, 2001.

FREAN, J. et al. Fatal type A botulism in South Africa, 2002. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London**, v.98, p.290-295, 2004.

GELLI, D.S. et al. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.44, n.6, p.321-324, 2002.

LECLERC, V. et al. Pathogens in meat and Milk products: surveillance and impact on human health in France. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.76, p.195-202, 2002.

MARIA, Santa. **Ciência Rural** – Arquivo do instituto Adolfo Lutz. São Paulo – SP, v.38, n.1, p.280-287, jan/fev, 2008.

MURRAY, Patrick R. **Microbiologia Médica**. 3^o edição, editora Guanabara Koogan, p.252-255, São Paulo, 2000.

OUAGARI, Z. et al. Le Botulisme à Casablanca. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, Paris, v.98, n.4, p.272-275, 2002.

PARDI, M. C; SANTOS, I. F; SOUZA, E. R; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. v.1, Editora UFG, (p.), 1995.

PARDI, M. C; SANTOS, I. F; SOUZA, E. R; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e tecnologia da Carne**. v.2, Editora UFG, p.858, 1996.

RAGAZANI, A.V.F. **Avaliação microbiológica do mel comercializado no Estado de São Paulo e outros Estados brasileiros**. 2004. 76f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

RALI, V.L.M. et al. Honey consumption in the state of São Paulo: a risk to human health? **Food Microbiology**, London, v.9, p.299-303, 2003.

ROITMAN. I; TRAVASSOS, L. R; AZEVEDO, J. L. **Tratado de microbiologia**. v.1, Editora Manole, p.46-49, 1991.

SANTIAGO, O. et al. **Toxi-infecções produzidas por alimentos**. Brasília: Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal, DIPAC, Ministério da Agricultura, p.276, 1972.

SCARCELLI, E.: PIATTI, R.M. Patógenos emergentes relacionados á contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.123-127, 2002.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Study of presence of the spores of ***Clostridium botulinum*** in honey in Brazil. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v.24, p.379-382, 1999.

SERRANO, A.M. Um provável surto de botulismo humano no Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.1, n.2, p.16-19, 1982.

SHAPIRO, R.L. et al. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. **Annals of Internal Medicine**, London, v.129, n.3, p.221-228, 1998.

SILVA, Eneo Alves. **Manual de Controle Higiênico Sanitário**. 5^o ed., Editora Varela, p.41, 2002.

STEPHEN, S.A. et al. Botulinum toxin as a biological weapon. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v.285, n.8, p43-49, 2001.

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F; GOMPERTZ, O. F; CANDEIAS, J. A. N. et al. **Microbiologia**. 3ª edição, editora Atheneu, p.295-296, 1999.

VERONESI, R; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. v.1, editora Atheneu, p.587-596, São Paulo, 2002.

Fontes de sites:

Morfologia do *Clostridium botulinum*:

http://upload.wikimedia.org/kikipedia/commons/5/58/clostridium_botulinum_01.png,

acessado em: 12 de setembro de 2008.

Esporo bacteriano típico:

http://correiogourmand.com.br/images/cg_prod_alim_conservas_15_320.jpg,

acessado em: 12 de setembro de 2008.

Enlatados

<http://www.emporiodobrasil.com/sitebuildercontent/sitebuilderpictures/enlatados.jpg>,

acessado em: 03 de outubro de 2008.

Embutidos:

http://correiogourmand.com.br/images/cg_prod_alim_embutidos_03_170.jpg,

acessado em: 03 de outubro de 2008.

Peixes e Frutos do Mar:

http://marcelokatsuki.folha.blog.uol.com.br/images/montagem-frutos_mar.jpg,

acessado em: 03 de outubro de 2008.

Hortaliça:

<http://wwwusers.rdc.puc-rio.br/anabranc/imagens/itinerante/rumonordeste2006/03-desenho-de-hortaliças.jpg>, acessado em: 03 de outubro de 2008.

Mecanismo de ação da toxina:

<http://farmafir.blogspot.com/2007/01/toxinabotulinica.html>, acessado em 22 de outubro de 2008.

Ptose palpebral:

<http://www.scielo.br/img/revistas/abo/v70n3/28f1.jpg>, acessado em 10 de novembro de 2008.

<http://www.cve.saude.sp.gov.br> – Centro de Vigilância Epidemiológica – Manual do botulismo. Acessado em 10 de setembro de 2008.