

## Botulismo

María Inés Mota, Gustavo Varela

### Definición

Es una enfermedad paralizante, potencialmente letal, causada por la acción de las neurotoxinas botulínicas (NTBs) producidas bajo determinadas condiciones ambientales por cepas toxigénicas de *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* y más raramente *Clostridium butyricum*.

Se trata de una enfermedad de notificación obligatoria que integra el grupo A del Código Nacional sobre Enfermedades y Eventos Sanitarios; por lo tanto debe denunciarse dentro de las 24 horas de reconocida o sospechada la enfermedad, por la vía de comunicación más rápida y sin esperar la confirmación por el laboratorio. Todas las notificaciones deben dirigirse a la **Unidad de Vigilancia en Salud Pública**, teléfono: 2409 12 00, FAX: 2408 58 38, o través de la página web: [www.msp.gub.uy](http://www.msp.gub.uy) Información adicional sobre la enfermedad está disponible en la siguiente página del MSP: [http://www.msp.gub.uy/uc\\_4817\\_1.html](http://www.msp.gub.uy/uc_4817_1.html)

### Los agentes

Las bacterias responsables de botulismo integran el género *Clostridium*. Se trata de bacilos largos con extremos rectos o ligeramente curvos, que pueden presentarse aislados o formando filamentos, gram positivos (aunque en cultivos envejecidos pueden aparecer gram variables), móviles, anaerobios estrictos, catalasa y oxidasa negativos, capaces de producir esporos ovales que se ubican en la región subterminal de la bacteria y la deforman. Las especies asociadas a casos de botulismo en seres humanos son en orden decreciente de frecuencia: *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* y *Clostridium butyricum*.

Las cepas de *C. botulinum* se caracterizan desde el punto de vista fenotípico por dar resultado positivo para la prueba de lipasa en el ensayo de agar yema de huevo e hidrolizar la gelatina.

*C. botulinum* se divide en 4 grupos metabólicos: las cepas del grupo I son proteolíticas y producen NTBs de los tipos A, B y F; las del grupo II son no-proteolíticas, psicrofílicas y producen NTBs tipo B, E y F; las del grupo III producen NTBs tipo C y D; mientras que las cepas del grupo IV producen NTB de tipo G. Las cepas que pertenecen a los grupos I y II causan la mayoría de los casos de botulismo que ocurren en los seres humanos, las cepas del grupo III predominan en los casos de botulismo animal y las del grupo IV en general no producen enfermedad.

Los esporos de *C. botulinum* son ubicuos, están ampliamente distribuidos en la naturaleza, sobre todo suelos y sedimentos marinos, dependiendo del grupo metabólico de la célula vegetativa que les dio origen. Los esporos del grupo II predominan en ambientes acuáticos mientras que los del grupo I son terrestres. Factores climáticos como las corrientes marinas y los vientos secos (Zonda, Siroco, Bochorno, entre otros) pueden determinar cambios en la distribución de los esporos y por lo tanto variaciones en la prevalencia de las cepas que producen la enfermedad.

Los esporos toleran condiciones ambientales adversas (exposiciones a 100 °C y 1 atmósfera de presión, desecación, falta de nutrientes, cambios extremos de pH, etc.) por periodos prolongados de tiempo sin perder la capacidad de germinar (o sea pasar a la forma vegetativa capaz de multiplicarse, producir NTBs y esporular nuevamente).

La diferencia en la termo-resistencia, en la temperatura de germinación de los esporos y en la temperatura óptima de multiplicación de las formas vegetativas es responsable en parte de la distribución de los distintos grupos metabólicos de *C. botulinum* y por lo tanto del riesgo potencial diferencial que estos agentes representan en la producción de alimentos. Los esporos de las cepas del grupo I son los que toleran mayores temperaturas y causan problemas con los alimentos enlatados y en las conservas a base de vegetales y carnes preparadas de forma casera. En cambio los esporos de las cepas del grupo II no toleran temperaturas tan elevadas como los anteriores y causan problemas con los alimentos “listos para consumir” que fueron procesados de forma mínima (pasterización, envasados al vacío [*sous-vide* en francés ‘al vacío’]) y conservados a temperaturas de heladera (4-8 °C) por periodos prolongados. Estas son condiciones óptimas para que los esporos de *C. botulinum* grupo II que hayan tolerado el proceso de cocción germinen, se multipliquen y produzcan cantidades importantes de NTB.

Las cepas de *C. butyricum* se caracterizan desde el punto de vista metabólico por mostrar una prueba de lipasa negativa en agar yema de huevo, ser incapaces de hidrolizar la gelatina, no producir fermentación “tormentosa” de la leche y fermentar la lactosa. Producen esporos ovales que tienen una ubicación subterminal. Las cepas de *C. butyricum* sintetizan fundamentalmente NTB tipo F y a veces tipo E y se han asociado a algunos casos de botulismo infantil.

Las cepas de *C. baratii* dan resultado positivo para la lecitinasa y negativo para lipasa en la prueba de agar yema de huevo. A diferencia de lo que ocurre con *C. botulinum*, el origen ambiental de las cepas toxigénicas de *C. baratii* no ha sido establecido claramente. Las cepas de *C. baratii* producen principalmente NTB tipo F y al igual que *C. butyricum* se hanc recuperado de casos de botulismo infantil.

### **Atributos de virulencia y mecanismos patogénicos.**

El atributo de virulencia por excelencia presente en las cepas de *Clostridium* asociadas a casos de botulismo es la producción de NTBs. Las NTBs son una familia de toxinas proteicas formadas por 2 cadenas, una cadena pesada (H) y otra liviana (L), unidas por uniones disulfuro. Presentan actividad metalo-proteasa (endopeptidasa) y se ubican junto a la toxina Shiga producida por cepas de *Shigella dysenteriae* tipo 1 entre los venenos bacterianos más potentes conocidos. La dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de la NTB tipo A para ratones es mínima, menor a 0.01 ng comparada con 45 ng de DL<sub>50</sub> de otras toxinas bacterianas ensayadas en los mismos animales. Hasta el momento se han descrito 7 variantes antigénicas mayores (A-G, la C se divide en C1 y C2) y no presentan reacción antigénica cruzada entre ellas. Los tipos A, B y E son los más frecuentemente asociados a casos en seres humanos. Las NTBs son sensibles a la actividad proteolítica y desnaturalizante presentes en condiciones normales en el estómago y la primera porción del duodeno de los seres humanos. Para llegar activas a sus sitios “blanco”, las NTBs son sintetizadas como pro-toxinas (toxina progenitora) que luego son activadas por proteólisis gástrica (toxina derivada), antes de ser absorbidas en distintos sectores del tubo digestivo en el caso del botulismo “clásico”.

Una vez dentro del organismo (más adelante se describen las diferentes formas de botulismo conocidas), las toxinas se unen de forma irreversible a la membrana pre-sináptica de la neurona de la placa motora esquelética a través de diferentes receptores,

ingresan al citoplasma neuronal por un proceso de endocitosis mediada por receptor y bloquean la liberación de acetilcolina hacia la hendidura sináptica, dando como resultado una parálisis flácida. También tienen efectos sobre las sinapsis autonómicas periféricas. La acción de las NTBs a este nivel es responsable de que los pacientes presenten trastornos del ritmo cardíaco, hipotensión, hipotermia y retención de orina.

Como ocurre con el tétanos, en el botulismo todas las alteraciones y manifestaciones clínicas se deben a la acción de las NTBs, actuando en diferentes sectores del sistema nervioso. Hasta el momento no se ha demostrado que las NTBs tengan acción citolítica/citotóxica con capacidad para destruir las neuronas comprometidas. Su efecto es únicamente funcional; como sucede con la toxina colérica, las NTBs son toxinas citotónicas, las motoneuronas y las fibras musculares afectadas permanecen vivas. Sin embargo, los músculos afectados se atrofian de forma transitoria y muestran una dispersión marcada de los receptores para la acetilcolina.

Algunas cepas de *Clostridium botulinum* producen otras toxinas diferentes a las NTBs denominadas C2 y C3. Tienen acción ADP-ribosilante (como la toxina diftérica) y en principio no participarían de la patogenia del botulismo.

Los genes que codifican las NTBs se ubican en diferentes sectores del genoma bacteriano y son móviles, por lo tanto pueden transferirse entre diferentes cepas del mismo género o especie a través de fagos, transposones y plásmidos. Este fenómeno de intercambio genético horizontal ocurre en la naturaleza, sobre todo en el intestino de animales muertos y explica en parte por que algunas cepas de *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* y *Clostridium butyricum* pueden portar más de un tipo de toxina botulínica.

### **Tipos de botulismo**

Actualmente se reconocen 4 formas mayores de la enfermedad: el botulismo “clásico” de origen alimentario, el botulismo de heridas, el botulismo infantil y el botulismo “no clasificado”.

La **forma “clásica”** es una intoxicación alimentaria (se trata de un verdadero envenenamiento) causada por la ingestión con los alimentos de la NTB progenitora, que luego se activa y absorbe a diferentes niveles del tubo digestivo. El periodo de incubación es variable, en general los primeros síntomas aparecen entre 6 y 12 horas luego de consumir el alimento y depende sobre todo de la cantidad de toxina ingerida. Esta es la forma más frecuente de la enfermedad. Los alimentos más comúnmente involucrados son las conservas en base a carne, vegetales del tipo de las hortalizas y pescado preparadas en el hogar. En este caso las personas afectadas son pocas y en general pertenecen al grupo familiar. En la actualidad, los casos debidos al consumo de alimentos de producción industrial masiva son menos frecuentes debido al cumplimiento estricto de las normas de higiene exigidas para la elaboración de este tipo de alimentos; sin embargo cuando ocurren comprometen un número importante de personas.

El **botulismo de heridas** es una forma rara de la enfermedad, menos frecuente que la anterior, hasta el momento a nivel mundial se han comunicados menos de 40 casos. Se debe a la producción de NTB en el propio hospedador. Se trata de una verdadera

enfermedad infecciosa. La historia natural de esta forma es la siguiente: primero se produce una herida en el individuo con determinadas características y condiciones que luego se contamina con esporos de las especies del género *Clostridium* productoras de NTBs. Las condiciones de la herida son tales (baja presión parcial de O<sub>2</sub>, presencia de pus, material extraño y otras bacterias, etc.) que permiten la germinación de estos esporos y la producción de NTB por las células vegetativas. Esta forma de botulismo se observa frecuentemente en usuarios de drogas intravenosas debido al uso de agujas o sustancias contaminadas con esporos. El periodo de incubación puede durar 7 días y la sintomatología es similar a la del **botulismo “clásico”**, salvo por la ausencia de manifestaciones gastrointestinales.

En los casos de **botulismo infantil**, la NTB se produce en el intestino del niño que ha sido colonizado con cepas toxigénicas de *Clostridium*. Como la forma anterior se trata de una verdadera enfermedad infecciosa. Se ha sugerido que la alimentación con miel y el tipo de flora intestinal (menos desarrollada que en adulto) que presentan algunos niños facilitarían la instalación y proliferación de estos cultivos en el tubo digestivo. Es una enfermedad que afecta niños con edades comprendidas entre 1 y 52 semanas. En EEUU entre 1976 y 1991 se comunicaron más de 1.000 casos. Los primeros síntomas del botulismo infantil son diferentes a los de las otras formas de la enfermedad que vimos hasta ahora. En general los niños presentan primero constipación, debilidad para succionar, letargo, llanto débil y babeo. Luego se afecta la musculatura esquelética, comenzando por los músculos inervados por los nervios craneanos con origen bulbar; el niño presenta luego hipotonía generalizada y dificultad respiratoria. Por más información a propósito de esta forma de botulismo consultar en: <http://www.infantbotulism.org/>

Una forma similar de **botulismo infeccioso** puede ocurrir en individuos adultos que han sido sometidos a cirugía del tubo digestivo y han recibido antimicrobianos por períodos prolongados. Estas personas no presentan el antecedente de haber ingerido algún alimento “peligroso”.

El **botulismo no clasificado** lo constituyen los casos que ocurren en individuos mayores de 12 meses de edad en los cuales no hubo heridas o consumo de alimentos que lo expliquen. En muchos de estos casos no se puede descartar que las NTBs hayan ingresado al individuo por vía respiratoria. Nuevamente queda de manifiesto la importancia del viento para arrastrar partículas de polvo con esporos bacterianos adheridos.

Hay otras 2 formas adicionales de botulismo que hay que tener presente: el **botulismo iatrogénico** que ocurre como consecuencia del uso de la NTB con fines terapéuticos y cosméticos, y el **botulismo de laboratorio** que afecta a personas que trabajan e investigan con estos agentes.

### **Manifestaciones clínicas generales**

El periodo de incubación en los casos de botulismo alimentario es variable y puede ser de 8 a 10 días, aunque lo más frecuente es que sea de 1 a 12 horas.

Las manifestaciones clínicas comunes consisten en una parálisis simétrica de los músculos inervados por los nervios craneales, seguida por una parálisis flácida descendente que puede comprometer los músculos respiratorios. Los pacientes

presentan: debilidad general, diplopía, visión borrosa por dificultad en la acomodación, fotofobia, midriasis, pupilas fijas y sequedad ocular. A nivel digestivo puede haber disfagia y sequedad de boca, lengua y faringe; estreñimiento; náuseas y vómitos. Habitualmente los pacientes con botulismo **no presentan fiebre**, a no ser que tengan un proceso infeccioso adicional como en el caso del botulismo de heridas.

Cuando 2 o más personas que consumieron el mismo alimento, definido como “riesgoso”, presentan estos síntomas el diagnóstico es concluyente. El diagnóstico clínico en un caso esporádico es sumamente difícil y depende mucho del nivel de sospecha del médico tratante. Cada caso de botulismo es una emergencia de salud pública y debe denunciarse inmediatamente a las autoridades sanitarias. Este gesto es tan importante como el de iniciar el tratamiento inmediatamente. Como vimos antes para las distintas formas de la enfermedad algunas presentan diferentes antecedentes y otros síntomas y signos asociados, dependiendo sobre todo de la ubicación de la fuente productora de NTB.

En Uruguay en el periodo 1993-2001 hubo un brote de botulismo declarado (1999), con 4 personas afectadas y una fallecida. El alimento implicado fue una conserva de producción casera.

En 2002 hubo un brote en Colonia. [http://www.msp.gub.uy/uc\\_4841\\_1.html](http://www.msp.gub.uy/uc_4841_1.html)

En 2009 no hubo casos denunciados. En lo que va del año 2011 se han registrado 3 casos sospechosos en Paysandú ([http://www.msp.gub.uy/uc\\_4824\\_1.html](http://www.msp.gub.uy/uc_4824_1.html))

### **Diagnóstico Clínico**

Se basa fundamentalmente en el alto nivel de sospecha del médico actuante, detectando la presencia de las manifestaciones clínicas características descritas antes, y en el caso de la forma clásica de la enfermedad, en el reconocimiento de los alimentos implicados, su forma de preparación y de conservación. El médico actuante debe además investigar si otras personas cercanas al caso “índice” que compartieron algún tipo de alimento presentan síntomas y signos similares.

En la página del Ministerio de Salud Pública [http://www.msp.gub.uy/uc\\_4817\\_1.html](http://www.msp.gub.uy/uc_4817_1.html) se puede consultar la definición de caso sospechoso de botulismo (incluido botulismo del lactante).

### **Diagnóstico de Laboratorio**

El diagnóstico de botulismo se confirma por el hallazgo de las NTBs en muestras del paciente (suero, heces, contenido gástrico, exudado de heridas, contenido intestinal, biopsias, etc.). La presencia de *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* o *Clostridium butyricum* aporta para el diagnóstico, sin embargo no es concluyente.

El laboratorio que procesa las muestras clínicas y de alimentos y realiza los procedimientos moleculares de investigación epidemiológica debe tener un nivel de bioseguridad tipo 2, con presión negativa y acceso restringido. El personal debe estar muy bien entrenado y es conveniente que esté inmunizado con la vacuna pentavalente disponible.

Existe una cantidad importante de ensayos utilizados para la detección de NTBs. No es el objetivo de esta comunicación describir en detalle cada uno de los procedimientos, sino dar una idea de la complejidad que tienen algunos y destacar que la mayoría no están disponibles en los laboratorios de nuestro país. Muchos de los ensayos para detectar NTBs utilizan animales de laboratorio. La prueba de letalidad en ratones y su

confirmación utilizando animales protegidos de forma pasiva con antitoxinas es el procedimiento estándar contra el cual se compara el rendimiento diagnóstico de los otros ensayos.

Se han desarrollado una variedad de procedimientos basados en reacciones antígeno-anticuerpo (ELISA, RIA, gel difusión, hemaglutinación pasiva, etc.) con diferentes sistemas de revelado, lectura y grado de automatización. Estos procedimientos muestran valores de sensibilidad y especificidad variables, dependiendo sobre todo de la calidad de los reactivos y de los pasos previos utilizados para el enriquecimiento y purificación de la muestra. Otras pruebas se basan en poner de manifiesto en las muestras analizadas la actividad endopeptidasa de las NTBs.

También se utilizan métodos bacteriológicos tradicionales de cultivo e identificación. Estos requieren la demostración adicional de que la cepa identificada es productora de NTBs. Estos procedimientos tienen el inconveniente de que los resultados demoran varios días, por lo tanto, desde el punto de vista individual tienen valor nulo; sin embargo resultan importantes para los estudios epidemiológicos y de seguimiento en la cadena de producción alimentaria, ya que las cepas recuperadas se pueden comparar por procedimientos genéticos que se describen más abajo y de ese modo conocer las fallas que pudieron ocurrir durante la preparación.

En los últimos años se han incorporado al arsenal diagnóstico procedimientos basados en la demostración de la presencia de ADN de *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* o *Clostridium butyricum* en las muestras humanas o de alimentos. Como ocurre con los procedimientos inmunológicos existen una importante variedad de formatos.

Por último queremos mencionar que existen una serie de procedimientos basados en el estudio de los ácidos nucleicos (PFGE, AFLP, RAPD-PCR, DRE-PCR, etc.) que permiten la comparación genética de cepas de *Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii* o *Clostridium butyricum* recuperadas en diferentes lugares o muestras y que aportan datos útiles para la comprensión de la epidemiología de las diferentes formas de botulismo.

## **Tratamiento**

Los pacientes deben ser hospitalizados inmediatamente en unidades de cuidado intensivo con monitoreo cardio-respiratorio continuo. El tratamiento debe comenzar lo más rápido posible e incluye medidas de sostén e institución de apoyo ventilatorio mecánico si es necesario. El único tratamiento específico es la administración de antitoxina botulínica para evitar que las toxinas libres circulantes se unan de forma irreversible a los receptores neuronales y agraven la situación. La antitoxina se debe administrar rápidamente, preferiblemente antes de las 24 horas de iniciada la enfermedad. Hay que tener en cuenta que hasta el 1% de los individuos que reciben la antitoxina puede presentar efectos adversos, algunos de ellos graves. Los efectos más comúnmente observados son shock anafiláctico, reacciones de hipersensibilidad y enfermedad del suero. Por lo tanto, algunos autores recomiendan realizar un test cutáneo de sensibilidad antes de administrar la antitoxina. Una de las presentaciones disponibles para uso en adultos (Botulism Antitoxin Behrings®, vial de 250 ml) producida en equinos tiene una composición por ml de 750 UI de antitoxina tipo A; 500 UI de antitoxina tipo B y 50 UI de antitoxina tipo E. Por lo tanto, existe la posibilidad teórica de que la antitoxina no tenga el efecto deseado ya que la enfermedad puede deberse a la acción de otras variantes antigénicas de NTB y como vimos antes no existe reacción cruzada entre ellas.

La otra presentación aprobada por la FDA para uso en casos de botulismo infantil es BabyBIG<sup>®</sup>. El producto está formado por inmunoglobulinas purificadas a partir de un conjunto de plasmas obtenidos de sujetos adultos inmunizados con la vacuna pentavalente (A, B, C, D y E) y que fueron seleccionados por presentar los títulos más elevados para las NTB tipo A y B. Esta antitoxina tiene la ventaja con respecto a la anterior que presenta anticuerpos neutralizantes para 5 variantes.

En los casos de botulismo infeccioso se recomienda no utilizar antibióticos que producen lisis bacteriana ya que durante la destrucción de las formas vegetativas se libera la mayor cantidad de NTBs al exterior. En los casos de botulismo de heridas esta indicada la limpieza quirúrgica.

Queda por establecer el papel que puede tener como coadyuvante terapéutico en estas formas de la enfermedad el uso de antibióticos que inhiben la síntesis proteica. Estos presentan la ventaja teórica sobre los  $\beta$ -lactámicos y otros que no producen lisis bacteriana y además por su acción inhibitoria de la síntesis proteica disminuirían la carga tóxica.

## **Prevención**

La educación de las personas que preparan conservas caseras, poniendo el énfasis en el riesgo que representa para la salud pública el manejo incorrecto de este tipo de alimentos es fundamental para la prevención de esta forma de botulismo. Se les debe aportar información clara y entendible acerca del manejo seguro de los alimentos en lo que tiene que ver con la higiene de los mismos previo al proceso de conservación, tratamiento térmico adecuado (temperatura y duración), conservación correcta, así como medidas de seguridad posteriores. Las NTBs son termolábiles y pierden su actividad biológica si se calientan a 80 °C por más de 10 minutos. El calentamiento de los alimentos “sospechosos” a esta temperatura y por ese tiempo evita el desarrollo de **botulismo alimentario**. Instrucciones para la preparación segura de conservas caseras pueden obtenerse en la página del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos [http://www.uga.edu/nchfp/publications/publications\\_usda.html](http://www.uga.edu/nchfp/publications/publications_usda.html)

La prevención de los casos debidos al consumo de alimentos de producción masiva depende de que se cumplan las medidas de elaboración segura y que no ocurran fallas durante el proceso de elaboración y distribución.

La medida fundamental para evitar o disminuir los casos de **botulismo infantil** es eliminar la miel de la dieta de los niños menores de 12 meses de edad. La miel es el único alimento que fue definitivamente asociado a través de estudios epidemiológicos a casos de botulismo infantil. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en un número de casos de esta enfermedad el origen no puede establecerse. Algunos autores sostienen que estos casos pueden ocurrir por la ingestión directa de los esporos “adheridos” a partículas de “polvo” que “arrastra” el viento.

Para evitar el botulismo de heridas es imprescindible utilizar material estéril descartable y realizar una buena limpieza “quirúrgica” en aquellas heridas que se consideren sospechosas.

## Vacunas

Debido a que todas las alteraciones presentes en los casos de botulismo se deben a la acción de las NTBs y estas son proteínas que se pueden inactivar de distintas formas (físicas, químicas) para que pierdan su actividad biológica sin alterar su capacidad para estimular una respuesta inmune neutralizante protectora (toxoides) es posible desarrollar y utilizar vacunas seguras y efectivas (como la antitetánica) para prevenir el botulismo. Sin embargo, debido a que se trata de una enfermedad rara, no existen planes de vacunación para la población general. En cambio la inmunización con la vacuna pentavalente disponible y aprobada por la FDA puede administrarse a personas que trabajan con cepas productoras de NTB y en voluntarios a partir de los cuales se prepara luego la antitoxina.

## Conclusiones

Independientemente del tipo de botulismo, existen manifestaciones clínicas características que son altamente sugestivas de la enfermedad: parálisis simétrica de los músculos inervados por los nervios craneales, seguida por una parálisis flácida descendente que puede comprometer los músculos encargados de la respiración, sin fiebre y sin alteraciones sensoriales (salvo la visión borrosa). Frente a esta situación el médico tratante debe internar de inmediato a el/o los pacientes en unidades de cuidado intensivo y administrar rápidamente la antitoxina botulínica. Además debe realizar la denuncia dentro de las 24 horas. No existen planes de vacunación para la población general. La educación de las personas que preparan conservas caseras y de sus consumidores es fundamental para la prevención de esta forma de botulismo.

## Bibliografía consultada (ordenada alfabéticamente)

- Algorta G, y cols.** Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Uruguay. Montevideo, 2002. Publicado con el apoyo del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ) de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Ganador del premio MSP 2001.
- Aureli P, Fenicia L, Pasolini B, et al.** Two cases of type E infant botulism caused by neurotoxigenic *Clostridium butyricum* in Italy. J. Infect. Dis. 1986, 154:207–211.
- Barash, JR, Tang TW, Arnon SS.** First case of infant botulism caused by *Clostridium baratii* type F in California. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4280-4282.
- Bleck TP.** *Clostridium botulinum*. Chapter 23, p. 2822-28228. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. 2005. Elsevier, Philadelphia-USA.
- Holzer VE.** Botulism from inhalation. Med. Klin. 1962; 57:1735-1738.
- Koepke R, Sobel J, Arnon SS.** Global Occurrence of Infant Botulism, 1976–2006. Pediatrics. 2008;122: 73-82.

- Lindström M., Korkeala H.** Laboratory diagnostics of botulism. Clin. Microbiol. Rev. 2006; 19:298-314.
- McCroskey LM, Hatheway CL, Fenicia L, et al.** Characterization of an organism that produces type E botulinal toxin but which resembles *Clostridium butyricum* from the feces of an infant with type E botulism. J. Clin. Microbiol. 1986; 23:201-202.
- Mulleague L, Bonner SM, Samuel A, et al.** Wound botulism in drug addicts in the United Kingdom. Anaesthesia. 2002;57:301-302.
- Rivas C, Mota MI.** Bacterias anaerobias. Capitulo 21, p. 413-438. En: Temas de Bacteriología y Virología Médica, 3<sup>era</sup> edición. 2008. Oficina del Libro FEFMUR.
- Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C.** Neurotoxins affecting neuroexocytosis. Physiol Rev. 2000; 80:717-766.
- Sobel J.** Botulism. Clin Infect Dis. 2005; 41: 1167-1173
- Tejada García M, Guindel Jiménez C.** Tratamiento con antitoxina botulínica en dos casos de botulismo alimentario. Farm Hosp. 2010; 34:47-48.
- Van Ermengem E.** Uber ein neuen anaeroben *Bacillus* und seine Beziehungen zum Botulismus. Z. Hyg. Infektkr. 1897;26:1-56.