

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Etiopatogenia de la intoxicación por *Clostridium botulinum*

Por:

FÉLIX CASTAÑEDA VÁZQUEZ

MONOGRAFÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Etiopatogenia de la intoxicación por *Clostridium botulinum*

Por:

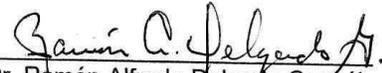
FÉLIX CASTAÑEDA VÁZQUEZ

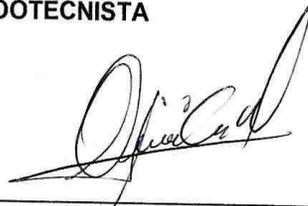
MONOGRAFÍA

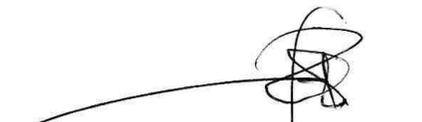
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:

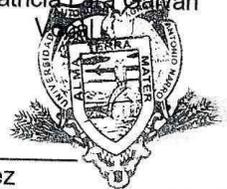

Dr. Ramón Alfredo Delgado González
Presidente


MC. Olivia García Morales
Vocal


MVZ Jorge Iturbide Ramírez
Vocal


MC. Patricia Lara Galván


MVZ. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Universidad de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS**

Etiopatogenia de la intoxicación por *Clostridium botulinum*

Por:

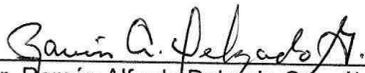
FÉLIX CASTAÑEDA VÁZQUEZ

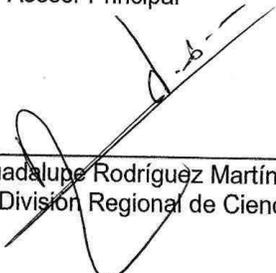
MONOGRAFÍA

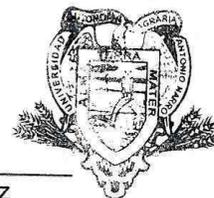
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Ramón Alfredo Delgado González
Asesor Principal


MVZ. J. Guadalupe Rodríguez Martínez
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Sergio Castañeda Cortés y Cecilia Vázquez Galicia por ser un ejemplo de amor y lucha, por el esfuerzo que hicieron para darnos estudio, por todo, Gracias.

A MI ESPOSO:

Jerónimo Ortiz Camaño por ser un buen Esposo y Amigo, por tu confianza, por motivarme a caminar hacia adelante, a nunca rendirme, por llorar y reír conmigo, por todo lo vivido juntos , Gracias Corazón... Te Amo.

A MIS HIJOS:

Perla (†), Emmanuel y Francisco por ser un motivo más para continuar hacia adelante.

A MIS HERMANOS :

Alfonso, Josefina, Gilberto (†), Sonia, Ramón y Lidia por apoyarme en todos aspectos, y a ti “Beto” (†) en donde quiera que estés Gracias, gracias por el sacrificio que hiciste para que la familia tuviera una mejor vida y mejores oportunidades.

A MI AMIGA:

Claudia Araceli Serrano Gurrola Por ser una Hermana más para mí, por vivir muchas experiencias juntas, y a pesar de todo salimos adelante y hoy podemos contarlas como un bello recuerdo.

A MI AMIGO:

Alfonso Armando Martínez Lázaro Por estar siempre al pendiente de mi familia, por convivir bonitos momentos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna Por todas las experiencias vividas dentro de esta Unidad.

Al Dr. Ramón Alfredo Delgado González Por su Tiempo y apoyo para realizar este trabajo.

Al MVZ Eric Alejandro Reyes Ramírez Por su amistad y apoyo.

A la Familia Castañeda Vázquez Por darme su apoyo y confianza.

A la Familia Ortiz Camaño Por su tiempo, apoyo y consejos.

A la Familia Serrano Gurrola Por su amistad y su apoyo.

A todos ustedes Gracias por haber aportado su tiempo y apoyo para concluir este trabajo.

RESUMEN

La bacteria *Clostridium botulinum* es un bacilo Gram positivo, anaerobio estricto, formadora de esporas y se encuentra naturalmente en el ambiente, particularmente en el suelo. *C. botulinum*, produce la neurotoxina botulínica, que es una de las sustancias biológicas más venenosas conocidas, causa la enfermedad conocida como botulismo, que afecta a los animales y a los humanos, ocasionando una parálisis neuromuscular mediante un mecanismo de acción que produce ésta neurotoxina.

Existen en la naturaleza siete tipos de neurotoxinas botulínicas que se han identificado con base a diferencias antigénicas, éstas se denominan de la A, a la G. Además son divididas en 4 grupos botulínicos. Los Grupos I y II son los principales responsables del botulismo humano. El Grupo III es responsable del botulismo en diversas especies animales. El Grupo IV no parece estar asociado con el botulismo en humanos o animales. El Grupo I puede formar neurotoxinas de tipo A, B o F. El Grupo II puede formar neurotoxinas de tipo B, E o F. El Grupo III puede formar neurotoxinas tipo C o D. Y el Grupo IV puede formar neurotoxina tipo G.

El botulismo es la intoxicación consecutiva a la ingestión de la neurotoxina preformada en los alimentos contaminados con la neurotoxina. El botulismo causa una enfermedad caracterizada por una parálisis flácida en humanos y animales. Las formas del botulismo son el transmitido por los alimentos, Infantil y por heridas.

De acuerdo a los antecedentes descritos el objetivo de la presente revisión bibliográfica es describir al agente causal del botulismo y su patogenia en humanos y animales.

Palabras Clave: *Clostridium botulinum*, Neurotoxina, Grupos botulínicos, Botulismo

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES.....	2
III.	DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	5
IV.	SEROTIPOS Y GRUPOS BOTULÍNICOS.....	6
V.	NEUROTOXINA BOTULÍNICA	8
VI.	ENFERMEDAD DEL BOTULISMO	9
6.1.	Signos clínicos en animales.....	11
6.2.	Síntomas en humanos	11
VII.	PATOGENIA DEL BOTULISMO	12
7.1.	Vías de entrada de la neurotoxina.....	12
7.2.	Mecanismos de acción de la neurotoxina	13
VIII.	DIAGNÓSTICO	15
8.1.	Detección de la toxina.....	16
8.2.	Aislamiento de <i>Clostridium</i>	16
8.3.	Diagnóstico diferencial	17
IX.	PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.....	17
9.1.	Prevención en animales.....	18
9.2.	Prevención en humanos	18
X.	CONCLUSIÓN	19
XI.	GLOSARIO.....	20
XII.	LITERATURA CITADA.....	22

I. INTRODUCCIÓN

Clostridium botulinum, produce una neurotoxina, la neurotoxina botulínica, la cual es la causa de la enfermedad conocida como botulismo, que afecta a los animales y a los humanos, ocasionando una parálisis neuromuscular mediante un mecanismo de acción que produce ésta neurotoxina, ya que es una de las sustancias biológicas más venenosas conocidas (Caya *et al.*, 2004).

La bacteria *Clostridium botulinum* es un bacilo Gram positivo, anaerobia estricta, formadora de esporas y se encuentra naturalmente en el ambiente, particularmente en el suelo. Las esporas de *Clostridium botulinum* son comunes en el ambiente, pero pueden germinar y desarrollarse en ambientes anaerobios en condiciones específicas. En medicina veterinaria se conocen a las bacterias del género *Clostridium*, como grupos de microorganismos asociados al suelo, como su principal medio de diseminación, dada su capacidad de producción de esporas (Smith, 2009).

Existen en la naturaleza siete tipos de neurotoxinas botulínicas que se han identificado con base a diferencias antigénicas, éstas se denominan de la A, a la G. La tipo A es muy virulenta, se encuentra en los vegetales y afecta al hombre (Jacobson *et al.*, 2008). La tipo B es poco virulenta, se la encuentra en los preparados de carne de cerdo, pero también en los pescados, verduras y leche. La tipo C su poder patógeno es escaso y afecta pocas veces al hombre, pero si afecta a aves, se distinguen tres toxinas, las C1 (neurotoxina), C2 y C3. La tipo D afecta rara vez al hombre, pero sí a bovinos y equinos. La tipo E es muy virulenta, se encuentra en conservas de peces. La tipo F se trata de un subgrupo del tipo E o de un mutante, se encuentra en el pescado. La tipo G fue aislada en un campo de maíz (Hauser *et al.*, 1994; Merialdi y Ramin, 2016).

Además son divididas en 4 grupos botulínicos. Los Grupos I y II son los principales responsables del botulismo humano. El Grupo III es responsable del botulismo en diversas especies animales. El Grupo IV no parece estar asociado con el botulismo en

humanos o animales. El Grupo I puede formar neurotoxinas de tipo A, B o F. El Grupo II puede formar neurotoxinas de tipo B, E o F. El Grupo III puede formar neurotoxinas tipo C o D. Y el Grupo IV puede formar neurotoxina tipo G (Wang *et al.*, 2014).

Las cepas proteolíticas (Grupo I) se relacionan frecuentemente con alimentos procesados y conservados en el hogar, como vegetales enlatados y carnes curadas. Las cepas no proteolíticas (Grupo II), son un riesgo de seguridad en los alimentos procesados industrialmente modernos debido a su capacidad para crecer a temperaturas de refrigeración, ya que estos alimentos se procesan con tratamientos térmicos suaves que pueden permitir la supervivencia de las esporas de *Clostridium botulinum* (PHAC, 2010).

El botulismo es la intoxicación consecutiva a la ingestión de la neurotoxina preformada en conservas, debido a fallos en la preparación, envasado y tratamiento de las conservas que han permitido la multiplicación y la producción de la neurotoxina. El proceso toma más importancia con el desarrollo de las técnicas de conservación que deben inactivar a las esporas, impidiendo su germinación, pese a la gran resistencia de la spora, la industria alimentaria moderna ha eliminado prácticamente el riesgo de botulismo (Solomon y Lilly, 2001).

El botulismo causa una enfermedad caracterizada por una parálisis flácida en humanos y animales. El botulismo es una de las enfermedades que se incluye dentro de las causas de muerte súbita en los animales, es decir aquellas en las que repentinamente el animal cae y muere relativamente rápido, no dando lugar a la observación de signos clínicos (Johnson, 2007). En el botulismo transmitido por los alimentos las manifestaciones clínicas son el resultado de la ingestión de los alimentos con la toxina preformada. El botulismo por heridas es una infección asociada con la multiplicación celular cuando la herida se contamina con esporas de *Clostridium botulinum*, donde éstas germinan y producen toxinas (CDC, 2018).

II. ANTECEDENTES

Clostridium botulinum es una bacteria anaerobia estricta, bacilo recto o ligeramente curvo, Gram positivo de 2 a 10 μm de longitud y 0.5 a 2 μm de ancho, aunque pueden encontrarse bacilos de 20 a 45 μm de largo; presentan flagelos peritricos, y esporas ovoides subterminales, no tienen cápsula y las colonias tienen un diámetro de 3 a 8 mm, de forma rizoides (Graham y Eriksen, 1922).

El botulismo o alantiasis, fue descrito desde 1793, destacando la publicación del médico alemán Justinus Kerner (1786-1862), en 1820 basado en un brote que afectó a trece personas, de las que murieron seis, en el reino de Württemberg (ubicado en el suroeste de la actual Alemania), por haber comido embutidos, a la cual se llamó durante mucho tiempo "Enfermedad de Kerner". Posteriormente, la palabra latina "botulus", que significa salchicha, pasó al léxico médico a finales del siglo XVII (Domínguez y Domínguez, 1990).

En 1869 y 1870, Müller publicó dos trabajos sobre el botulismo. Para entonces, se creía que la intoxicación era debido a un microorganismo, aunque no se encontró en los alimentos causales. Más tarde, Van den Corput, atribuyó su origen a un hongo, que llamó *Sarcina botulina* (Domínguez y Domínguez, 1990).

En 1895, en Bélgica, después de una ceremonia fúnebre, los integrantes de una orquesta fueron invitados a tomar una colación fría, donde el plato fuerte fue un típico jamón salado de un cerdo sacrificado cuatro meses antes, y que fue comido fresco sin consecuencias cuatro meses antes, salando el resto, enfermaron 34 personas, incluyendo a todos los músicos, cuyos síntomas se presentaron entre las 24 y 36 horas siguientes a la ingestión que incluían estrabismo, diplopia, afonía y disfagia, tres intoxicados fallecieron (Collins y East, 1998).

Emile Pierre van Ermengem, aisló esporas de un bacilo anaerobio, del resto del jamón, así como del bazo de uno de los fallecidos, que denominó *Bacillus botulinus*. Después,

Wilhelm Kempner, de Berlín, en 1897 obtuvo una antitoxina inyectando a animales la cepa de Ermengem (Hatheway, 1988).

III. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

La distribución de *Clostridium botulinum* es cosmopolita, puede encontrarse en el suelo, agua y vegetales, en el tracto digestivo de animales mamíferos, aves y peces. Las esporas del *Clostridium botulinum*, tienen su hábitat en la tierra y en el agua estancada o muy quieta. Las esporas son transportadas por el movimiento del agua o de la tierra, causado por el viento o por animales (Acha y Szyfres, 2003).

Las esporas contaminan la hierba, el forraje, el heno, las plantas terrestres y acuáticas entre ellas los vegetales que consume el hombre como verduras, legumbres y frutos. Las esporas son muy resistentes al calor. La principal fuente de intoxicación es el alimento, en donde se multiplica la bacteria y se produce la neurotoxina. La neurotoxina es la causa de la enfermedad del botulismo. En animales es más común en el ganado bovino de áreas con suelos deficientes en fósforo. En los humanos se observa sobre todo en zonas rurales, donde se elaboran conservas de forma artesanal (WHO, 2002).

El botulismo no es una enfermedad común, estimándose que ocurren unos 1000 casos anuales a nivel mundial, las regiones donde se dispone de más datos sobre esta enfermedad son fundamentalmente Estados Unidos y Europa. Los casos en EEUU superan los 100 casos anuales notificados al Centro de Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés). Aproximadamente el 15% de los casos son de origen alimentario, el 65% son casos de botulismo infantil y un 20% son por heridas (CDC, 2018).

El crecimiento de la bacteria *Clostridium botulinum* y la formación de neurotoxinas tienen lugar en productos altamente deficientes de oxígeno y cuyo pH no sea muy ácido (mayor de 4.6) y en algunas combinaciones de temperatura de almacenamiento, razón por la cual es más frecuente encontrarla en alimentos enlatados o cerrados, esto ocurre mayormente en conservas de alimentos hechas sin las debidas precauciones y en alimentos mal procesados, en casa (CFSAN, 2009).

IV. SEROTIPOS Y GRUPOS BOTULÍNICOS

Serotipo A. Fue identificado por Leucks en 1910, serotipo proteolítico más frecuente. Las esporas son bastantes resistentes al calor, afecta con más frecuencia al hombre en América y en Europa. Los alimentos en los que se puede encontrar son las conservas de vegetales, de frutas, carne y pescados (Peck y Stringer, 2005; Johnson et al., 2010).

Serotipo B. Fue encontrado por Leucks en 1910, la mayoría de sus cepas son proteolíticas y hemolíticas. La neurotoxina es menos potente que la A, es más frecuente en Europa; Los alimentos que causan más casos son las conservas y preparados de carne, especialmente porcina, jamón salado o ahumado, pescado, queso, legumbres, pastas y guisantes. Causa intoxicaciones en bovinos, equinos y pavos (Collins y East, 1998).

Serotipo C. Fue descubierto por Bengston (1922). No es proteolítico y su patogenicidad es débil, causa botulismo en aves silvestres acuáticas (enfermedad occidental del pato). Se ha encontrado su toxina en las larvas de las moscas, es poco frecuente en el hombre, se ha encontrado en el botulismo por heridas. Los animales enferman al comer pienso con larvas de la *Lucilia caesar* o forraje con carroña, el hombre al comer hígado de cerdo o aves contaminados con el serotipo C. Se distinguen tres toxinas C1 (neurotoxina), C2 y C3 (Hauser et al., 1998; Takeda et al., 2005).

Serotipo D. Meyer y Gunnison identificaron éste serotipo en 1929 en heridas humanas. No es proteolítico, causa pocos casos humanos, la mayoría de ellos debida a conservas vegetales. Se encuentra en el intestino de ruminantes y equinos, y en los vegetales (Bruchim et al., 2003).

Serotipo E. Fue aislado por Gunnison, Cumminas y Meyer en 1934. No es proteolítico, es termolábil y muy toxigénico, se producen más casos por conservas de peces, y mamíferos marinos (Chin, 2000).

Serotipo F. Fue encontrado por Moeller y Scheibel en 1960 en el hombre, parece ser una mutante del serotipo E, Se encuentra en conservas de carne, pescados como el salmón o en patés (pasta de hígado; Carter y Peck, 2015).

Serotipo G. Fue aislado en 1970 en un maizal de Argentina (Carter y Peck, 2015; Domínguez y Domínguez, 1990).

Grupo I. Son responsables del botulismo humano, forma neurotoxinas de tipo A, B, F. Son bacterias altamente proteolíticas que también pueden degradar carbohidratos. Son bacterias mesófilas, con temperaturas de crecimiento mínimas de 12°C y óptimas de 37°C. Las esporas formadas son altamente resistentes al calor (Peck, 2010).

Grupo II. Comprende cepas sacarolíticas, fermentan un rango de carbohidratos, sin actividad proteolítica. Forman neurotoxinas tipo B, E, o F. Se asocian al botulismo alimentario, productos cárnicos y algunas veces con productos pesqueros. Son bacterias psicrótróficas. La temperatura óptima de crecimiento es de 18°C. Forma esporas con menor resistencia al calor (Carter y Peck, 2015).

Grupo III. Incluye cepas no proteolíticas. Produce toxinas tipo C o D, asociadas con el botulismo en animales. La neurotoxina C es binaria estando constituida por dos fracciones, C1 y C2. Los tipos toxigénicos C se denominan C alfa o C beta según la fracción predominante. El tipo toxigénico D produce además, la fracción C2 en pequeñas cantidades. Se cultivan a 40°C como temperatura óptima. Sus esporas son moderadamente resistentes al calor (Johnson, 2007).

Grupo IV. Comprenden cepas proteolíticas que no producen lipasa. Forman la neurotoxina tipo G. No producen esporas. Se desarrollan óptimamente a 37°C. Las

cepas han sido reclasificadas como nueva especie, *Clostridium argentinense* (Spelund y Klaveness, 2014).

V. NEUROTOXINA BOTULÍNICA

Una toxina es una sustancia venenosa producida por células vivas de animales, plantas, bacterias u otros organismos biológicos; que tiene una acción dañina sobre los procesos bioquímicos de otros seres vivos. Una neurotoxina es una toxina cuya acción altera o incluso bloquea totalmente la función neurológica ya sea a nivel del sistema nervioso central (toxina tetánica) o a nivel de sistema nervioso periférico (toxina botulínica; Rings, 2004).

La toxina botulínica, es una potente neurotoxina producida por la bacteria *Clostridium botulinum*, es uno de los venenos más poderosos que existen. La neurotoxina botulínica es una proteína termolábil producida por *Clostridium botulinum*, es la causa de la intoxicación consecutiva a la ingestión de la neurotoxina preformada en conservas de frutas y verduras debido a la falla en la preparación, envasado y tratamiento de las conservas que han permitido la multiplicación y la producción de neurotoxina, dando origen a la enfermedad neuromuscular conocida como botulismo (Nigam y Nigam, 2010).

La neurotoxina botulínica es una proteína termolábil de 150 kDa, compuesta de una cadena ligera L (50 kDa) y una cadena pesada H (100 kDa) unidas por un puente disulfuro. La cadena pesada tiene dos dominios funcionales. El dominio C-terminal está involucrado en la unión de neurotoxinas a la célula nerviosa. El dominio N-terminal involucrado en el movimiento de la cadena ligera en el citoplasma de la célula nerviosa. La toxicidad de la neurotoxina botulínica es generalmente expresada en unidades (U). Una U de la toxina botulínica es la mediana de la dosis letal intraperitoneal en ratones (DL 50), aproximadamente de 20 unidades/nanogramos (1U = aproximadamente 0,05 ng; Lindström *et al.*, 2009).

VI. ENFERMEDAD DEL BOTULISMO

El botulismo es la intoxicación consecutiva a la ingestión de la neurotoxina botulínica producida por *Clostridium botulinum*, la neurotoxina botulínica es preformada en conservas, de frutas, vegetales, productos cárnicos o de pescados, debido a la falla en la preparación, envasado y tratamiento de las conservas que han permitido la multiplicación y la producción de neurotoxina (Critchley, 1991).

El botulismo se caracteriza por una parálisis flácida, afectando a los animales y a los humanos, muchos de los casos no tratados son letales debido a la parálisis de los músculos respiratorios. El proceso toma más importancia con el desarrollo de las técnicas de conservación que deben inactivar a las esporas, impidiendo su germinación, pese a la gran resistencia de la spora, la industria alimentaria moderna ha eliminado prácticamente el riesgo de botulismo (van der Burgt *et al.*, 2007).

El botulismo en los animales es causado por las neurotoxinas preformadas en una variedad de fuentes incluso materia vegetal en descomposición (granos, ensilaje, heno), animales muertos y agua contaminada. Se ha registrado botulismo en mamíferos, aves, reptiles y peces (Anniballi *et al.*, 2013).

En los humanos las tres formas principales de la enfermedad son las transmitidas por los alimentos, el botulismo intestinal o infantil y a través de heridas (Fagan *et al.*, 2009).

El botulismo transmitido por los alimentos es una intoxicación causada por el consumo de alimentos contaminados con la neurotoxina preformada; alimentos que no hayan sido cocidos apropiadamente, alimentos enlatados en casa, alimentos procesados de manera inapropiada como por ejemplo las mermeladas, carnes curadas. Es la intoxicación más grave, la incidencia de esta enfermedad es baja, pero es considerada de elevada tasa de mortalidad si no se diagnostica y se trata rápidamente. Aproximadamente entre el 5 y 10 % de las personas con botulismo mueren (Brunt *et al.*, 2016).

El botulismo Infantil ocurre en bebés menores de un año. El botulismo infantil/intestinal (adulto) es una infección asociada con la multiplicación celular y la formación de neurotoxinas en el intestino (Fagan *et al.*, 2009).

El botulismo por la herida es una infección asociada con la multiplicación celular y la formación de neurotoxinas en una herida (a menudo después del abuso de drogas; Taillac y Kim, 2010).

El botulismo por inhalación se ha descrito recientemente, los únicos casos humanos han sido el resultado de la inhalación de la toxina por parte de los trabajadores del laboratorio. La inhalación de la toxina botulínica se considera un método probable para un ataque bioterrorista (Stewart, 1990).

6.1. Signos clínicos en animales

En los animales, los signos del botulismo son la debilidad muscular y la falta de coordinación que llevan a una parálisis, afectando primero las patas traseras y luego asciende. Los animales pueden tener dificultad para masticar, padecen trastornos visuales. La muerte es la consecuencia de la parálisis de los músculos respiratorios. Los bovinos comienzan con ataxia, incoordinación, dificultad para caminar, luego la enfermedad se agrava llevando al animal al decúbito esternal, no puede levantar la cabeza, sialorrea, protrusión de lengua, dificultad respiratoria y muerte (Wilkins y Palmer, 2003a,b).

6.2. Síntomas en humanos

Por lo general los síntomas se manifiestan entre 12 y 36 horas después de la ingesta de la neurotoxina botulínica, con un plazo mínimo de cuatro horas y un máximo de ocho días. En los humanos, los signos neurológicos causados por la neurotoxina botulínica son similares en todas las formas de la enfermedad, en el caso de botulismo transmitido por los alimentos se observan signos gastrointestinales. Los síntomas

iniciales de la enfermedad del botulismo incluyen fatiga intensa, debilidad y vértigo, seguidos generalmente por visión borrosa, sequedad de boca y dificultad para tragar y hablar. También puede presentarse vómito, diarrea e inflamación abdominal. La enfermedad puede dar lugar a debilidad en el cuello y los brazos, y afectar posteriormente los músculos respiratorios (Brunt *et al.*, 2016).

VII. PATOGENIA DEL BOTULISMO

7.1. Vías de entrada de la neurotoxina

En la intoxicación alimentaria se ingiere la neurotoxina botulínica preformada que es absorbida por endocitosis a través del tracto gastrointestinal. En el botulismo por heridas se produce la neurotoxina a nivel de la herida siempre y cuando el germen haya encontrado las condiciones adecuadas para germinar. En el lactante las esporas ingeridas germinan a nivel del colon, ya que no existe flora inhibitoria, y producen la toxina que después es absorbida (Hatheway, 1988).

Después de ser absorbida desde el tracto gastrointestinal o desde la herida, la neurotoxina botulínica es llevada por vía linfática o sanguínea hasta su sitio de acción, que son las terminaciones nerviosas colinérgicas. Como no atraviesa la barrera hematoencefálica, solo actúa sobre el sistema nervioso periférico, especialmente a nivel de la placa neuromuscular y en el sistema autónomo. La porción activa de la toxina tiene actividad de peptidasa que es específica para proteínas que forman la estructura de la vesícula sináptica que contiene el neurotransmisor y están involucradas en la exocitosis (Nigam y Nigam, 2010).

La acción de la toxina previene la exocitosis del neurotransmisor y de esta manera se bloquea el impulso nervioso. La recuperación de la función nerviosa requiere la regeneración de la motoneurona terminal y la formación de nuevas terminaciones motoras. La neurotoxina botulínica actúa mediante un mecanismo de acción, bloqueando la liberación de acetilcolina, causando de esta manera una parálisis flácida de los músculos esqueléticos y un fallo parasimpático (Binz *et al.*, 2010).

7.2. Mecanismos de acción de la neurotoxina

La acción de la neurotoxina botulínica previene la exocitosis del neurotransmisor y de esta manera se bloquea el impulso nervioso. Las terminaciones nerviosas presinápticas en la unión neuromuscular contienen vesículas membranosas que almacenan el neurotransmisor acetilcolina. La neuroestimulación inicia varias acciones que culminan en la fusión de las vesículas contenedoras de neurotransmisores con la

membrana nerviosa. La interacción entre las proteínas de la vesícula y las de la superficie celular que juntas forman el complejo SNARE facilita este proceso (Nigam y Nigam, 2010).

Las proteínas SNARE —acrónimo derivado de su nombre en inglés 'SNAP (Soluble NSF Attachment Protein) REceptor'— o receptores de proteínas de fijación soluble de NSF2 son un grupo de proteínas cuyo papel principal es facilitar la fusión de las vesículas, encargadas del transporte de moléculas necesarias para el funcionamiento de la célula, con los compartimentos celulares apropiados (Kortepeter *et al.*, 2001).

La fusión de las membranas estimula la liberación por exocitosis de la acetilcolina en la hendidura sináptica. La acetilcolina se difunde en la hendidura sináptica hasta unirse a los receptores musculares provocando la contracción del músculo (Binz *et al.*, 2010).

La neurotoxina botulínica lleva a cabo una lisis de las proteínas implicadas en la exocitosis de la acetilcolina a nivel de la unión neuromuscular, inhibiendo la descarga colinérgica. Esto ocurre después de que la neurotoxina haya penetrado en el sistema vascular y haya sido transportada a las terminaciones periféricas colinérgicas. La neurotoxina de 150 kDa se disocia del complejo proteico que la envuelve (Frevert, 2015).

El dominio C de la cadena pesada de la neurotoxina se fija rápida e irreversiblemente a los receptores diana de la superficie de las terminaciones nerviosas presinápticas. A continuación se introduce en la neurona por endocitosis mediada por receptor, de forma que la neurotoxina permanece en una vesícula de la célula. Se libera la cadena ligera de la neurotoxina en el citoplasma de la terminación nerviosa. La cadena ligera fragmenta la proteína SNAP-25 celular y de esta forma bloquea la liberación de acetilcolina, con su inmediata parálisis muscular (Binz *et al.*, 2010).

VIII. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de esta enfermedad se realiza en base a la historia clínica, los signos y síntomas clínicos y la demostración de la presencia de la toxina botulínica. El

diagnóstico de laboratorio se realiza mediante la detección de la toxina en suero y heces, y aislamiento del germen (Bruchim *et al.*, 2003).

En casos tempranos de la enfermedad es más probable el diagnóstico por la prueba de la detección de la toxina. En casos tardíos de la enfermedad son más probables de tener un cultivo positivo mediante el aislamiento del germen (Weber *et al.*, 1994).

8.1. Detección de la toxina

Las muestras en las que es posible detectar la toxina son suero, heces, alimento, vómito y contenido gástrico. En lo que respecta el suero es importante obtener un buen volumen, de 10-15 ml de suero, ya que son necesarias varias pruebas de inoculación. Para el examen de heces debe obtenerse de 25-30 gr. Los alimentos sospechosos deben ser enviados en sus envases originales. La detección de la toxina se realiza con la prueba de inoculación en un ratón. La toxina es detectada en muestras de suero o heces (Weber *et al.*, 1994).

La prueba consiste en inocular al ratón con la muestra, vía intraperitoneal, si la toxina se encuentra presente, aparece en el ratón un signo característico que se denomina cintura de avispa; el ratón morirá luego de presentar un cuadro de parálisis progresiva (Sobel, 2005).

8.2. Aislamiento de *Clostridium*

Las muestras que pueden ser útiles para el aislamiento del germen son los alimentos, heces, hisopado de la herida, sangre, suero, vómito. El aislamiento de *Clostridium botulinum* a partir de muestras se basa en 1) La reacción de la lipasa; 2) Coloración de Gram; 3) Determinación de requerimientos de crecimiento anaeróbico; 4) Demostración de toxigenicidad; 5) Identificación del tipo de toxina (Lindström, *et al.*, 2009).

Las muestras de heces y alimentos deben recibir un tratamiento especial que es la centrifugación y obtención de un extracto. Se puede preparar un extendido y observar con una coloración de Gram, buscando los bacilos y esporas. Inocular las muestras en un medio de agar almidón –glucosa –carne (Sobel, 2005).

8.3. Diagnóstico diferencial

Por lo general, el diagnóstico se basa en la historia clínica y el examen clínico, seguidos de la confirmación de laboratorio, especialmente para demostrar la presencia de la toxina botulínica en el suero, las heces o los alimentos, o un cultivo de *Clostridium botulinum* de heces, heridas o alimentos. En ocasiones el botulismo se diagnostica equivocadamente, ya que suele confundirse con accidente cerebrovascular, síndrome de Guillain-Barré, Miastenia gravis, parálisis por garrapatas, y otras intoxicaciones (Caya *et al.*, 2004).

IX. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO

La administración de la antitoxina botulínica es el único tratamiento en específico para el botulismo. La antitoxina botulínica administrada mientras la toxina aún circula en la

sangre, puede prevenir que la enfermedad progrese y disminuir su duración. Una vez que la toxina se ha unido a las terminaciones nerviosas, la antitoxina no puede revertir la unión, por ese motivo se debe administrar dentro de las primeras 24 horas. Los tratamientos adicionales dependen de la forma de la enfermedad. Para el botulismo transmitido por los alimentos se pueden hacer lavado de estómago, enemas. Para el botulismo por heridas incluye el desbridamiento quirúrgico de la herida y antibióticos (Sobel, 2005).

9.1. Prevención en animales

En las áreas donde el botulismo animal es común, se pueden utilizar vacunas en caballos, ganado bovino, ovejas, cabras y aves. Se deberán recoger los cadáveres para evitar que otros animales ingieran tejidos contaminados. Se deben controlar las moscas para evitar la aparición de gusanos tóxicos y que estos sean ingeridos por las aves. Es necesario limpieza y desinfección con productos efectivos contra la bacteria (Smith, 2009).

9.2. Prevención en humanos

La prevención más importante en humanos consiste en las medidas de higiene alimentaria, como lavado de vegetales que se comerán crudos y la cocción adecuada de carnes (a más de 85°C durante 5 minutos). La prevención exitosa del botulismo transmitido por los alimentos depende de identificar medidas de control apropiadas cuando se introducen o modifican nuevas tecnologías de procesamiento, y asegurar que estas medidas de control efectivas se apliquen correctamente. La falta de aplicación efectiva de la cocción botulínica a los alimentos enlatados o embotellados ha llevado a muchos brotes de botulismo alimentario asociados con *Clostridium botulinum* (Peck y Stringer, 2005).

X. CONCLUSIÓN

La intoxicación por *Clostridium botulinum* no es muy común, pero sí de mucha importancia, ya que la bacteria produce una potente neurotoxina, la neurotoxina botulínica, y al ser ingerida causa la enfermedad neuromuscular llamada Botulismo, y

al no ser tratada a tiempo puede ocasionar la muerte. La enfermedad del botulismo afecta a los animales y al hombre de todo el mundo.

En los humanos se observa sobre todo en zonas rurales, donde se elaboran conservas de forma artesanal. En animales es más común en el ganado bovino de áreas con suelos deficientes en fósforo.

Las principales formas de transmisión del botulismo son:

Botulismo transmitido por los alimentos: Aproximadamente el 15% de los casos son de origen alimentario, el botulismo transmitidos por los alimentos resulta por la ingestión de la neurotoxina preformada en los alimentos enlatados, la mayoría de los casos se deben a alimentos enlatados en forma casera, por ejemplo: mermeladas, miel, verduras y productos derivados de la carne.

Botulismo infantil: El 65% son casos de botulismo infantil, observado en niños menores de un año de edad, la miel ha sido asociada con algunos casos de botulismo infantil.

Botulismo por heridas: El 20% son por heridas, es poco común, ocurre cuando una herida se contamina con la bacteria y el organismo es capaz de crecer y producir la neurotoxina.

XI. GLOSARIO

Acetilcolina: Sustancia química que actúa en la transmisión de los impulsos nerviosos.

Anaerobio: Organismo que es capaz de vivir o desarrollarse en un medio sin oxígeno.

Cepa: Población de células de una sola especie descendientes de una única célula.

Endocitosis: Es un mecanismo clave por el cual las células introducen moléculas grandes, partículas extracelulares e incluso pequeñas células, englobándolas en una invaginación de la membrana citoplasmática, formando una vesícula que termina por desprenderse de la membrana para incorporarse al citosol. Se presenta como un caso contrario a los acontecimientos de la exocitosis, tiene como fin regular la composición de lípidos y proteínas de la membrana plasmática.

Espora: Un cuerpo microscópico unicelular o pluricelular que se forma con fines de dispersión y supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas.

Etiopatogenia: Es un término médico que se refiere al origen de una enfermedad y sus mecanismos, es decir, la combinación de etiología y patogénesis. De esta manera, una enfermedad tiene tres aspectos: una etiopatogenia, unos síntomas y un tratamiento.

Exocitosis: Las sustancias dentro de la vesícula se liberan al exterior. Estas sustancias podrían ser desechos, toxinas, o moléculas señalizadoras como hormonas (o neurotransmisores durante la transmisión sináptica).

Gram positiva: Bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram.

Neurotoxina: Toxina que actúa sobre el sistema nervioso.

Proteolítico: La proteólisis es la degradación de proteínas ya sea mediante enzimas específicas, llamadas peptidasas, o por medio de degradación intracelular.

SNAP-25: Es una proteína t-SNARE que está codificada por el gen SNAP25 en humanos. SNAP-25 es un componente del complejo trans-SNARE, que se propone para dar cuenta de la especificidad de la fusión de la membrana y ejecutar directamente la fusión formando un complejo hermético que une las vesículas sinápticas y las membranas plasmáticas .

SNARE: Las proteínas SNARE son receptores de proteínas de fijación soluble cuyo papel principal es facilitar la fusión de las vesículas, encargadas del transporte de moléculas necesarias para el funcionamiento de la célula, con los compartimentos celulares apropiados. Las SNARE más estudiadas son las que median el acoplamiento de las vesículas sinápticas con la membrana presináptica en las neuronas. Las neurotoxinas bacterianas causantes del botulismo y el tétanos interfieren en la función de estas SNARE.

Termolábil: Que se destruye al alcanzar una temperatura más o menos elevada.

Vesículas sinápticas: son pequeñas esferas ubicadas en el extremo de los axones en las neuronas del sistema nervioso. Cumplen el rol de hacer sinapsis, secretar una sustancia transmisora o un neurotransmisor.

XII. LITERATURA CITADA

- 1. Acha, P.N. y Szyfres, B. (2003).** Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Botulism. Vol. 1. Bacterioses and mycoses. 3rd ed. Washington DC: PAHO [Pan American Health Organization]. Scientific and Technical Publication No. 580.
- 2. Anniballi, F., Fiore, A., Löfström, C., Skarin, H., Auricchio, B., Woudstra, C., Bano, L., Segerman, B., Koene, M., Båverud, V., Hansen, T., Fach, P., Tavell, A.A., A.T., Hedeland, M., Olsson, E.E. y De Medici, D. (2013).** Management of animal

botulism outbreaks: from clinical suspicion to practical countermeasures to prevent or minimize outbreaks. *Bio Secur. Bioterrorism: Biodefense Strategy, Pract. Sci.* 11:Suppl 1:S191-S199.

3. Binz, T., Sicorra, S. y Mahrhold, S. (2010). Clostridial neurotoxins: Mechanism of SNARE cleavage and outlook on potential substrate specificity reengineering. *Toxins* (Basel). 2(4):665-682.

4. Bruchim, Y., Steinman, A., Markovitz, M., Baneth, G., Elad, D. y Shpigel, N.Y. (2003). Toxicological, bacteriological and serological diagnosis of botulism in a dog. *Vet. Rec.* 158(22):768-769.

5. Brunt, J., van Vliet, A.H. M., van den Bos F., Carter, A.T. y Peck, M.W. (2016). Diversity of the Germination Apparatus in *Clostridium botulinum* Groups I, II, III, and IV. *Front. Microbiol.* 7:1702. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01702

6. Carter, A.T. y Peck, M.W. (2015). Genomes, neurotoxins and biology of *Clostridium botulinum* Group I and Group II. *Res. Microbiol.* 166:303-317.

7. Caya, J.G., Agni, R. y Miller, J.E. (2004). *Clostridium botulinum* and the clinical laboratorian: a detailed review of botulism, including biological warfare ramifications of botulinum toxin. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 128(6):653-662.

8. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Botulism [online]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/botulism/general.html>. 03 de junio de 2018.

9. CFSAN. Center for Food Safety and Applied Nutrition (2009). Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. U.S. Food and Drug Administration. *Clostridium botulinum*. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070879>. 03 de junio de 2018.

10. Chin, J. (2000). Control of communicable diseases manual. 17^a ed. Washington, D.C.: American Public Health Association. Botulism. p. 70-75.

11. Collins, M.D. y East, A.K. (1998). Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *J. Appl. Microbiol.* 84:5-17.

12. Critchley, E.M. (1991). A comparison of human and animal botulism: a review. *J.R. Soc. Med.* 84 (5):295-298.

- 13. Domínguez, C.M. y Domínguez, C.M. (1990).** Monografía XVI. Agresivos químicos y microbiológicos en la guerra y el terrorismo Botulismo. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia 243-309. Disponible en <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/549/567>. 08 de junio de 2018.
- 14. Fagan, R.P., McLaughlin, J.B. y Middaugh, J.P. (2009).** Persistence of botulinum toxin in patients' serum: Alaska, 1959-2007. *J. Infect. Dis.* 199(7):1029-1033.
- 15. Frevert, J. (2015).** Pharmaceutical, biological and clinical properties of botulinum neurotoxin type A products. *Drugs R.D.* 15(1):1-9.
- 16. Graham, R. y Eriksen, S. (1922).** Experimental botulism in dogs. *J. Infect. Dis.* 31:402-406.
- 17. Hatheway, C.L. (1988).** Botulismo. En: Balows, A., Hausler, W.J.J., Ohashi, M., Turano, A. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Springer Verlag Nueva York Inc. pp. 111-133.
- 18. Hauser, D., Eklund, M.W., Boquet, P. y Popoff, M.R. (1994).** Organization of the botulinum neurotoxin C1 gene and its associated non-toxic protein genes in *Clostridium botulinum* C 468. *Mol. Gen. Genet.* 243:631-640.
- 19. Jacobson, M.J., Lin, G., Whittam, T.S., y Johnson, E. A. (2008).** Phylogenetic analysis of *Clostridium botulinum* type A by multi-locus sequence typing. *Microbiology.* 154:2408-2415.
- 20. Johnson, A.L., McAdams, S.C. y Whitlock, R.H. (2010).** Type A botulism in horses in the United States: a review of the past ten years (1998-2008). *J. Vet. Diagn. Invest.* 22(2):165-173.
- 21. Johnson, E.A. (2007).** *Clostridium botulinum*. En: Doyle M.P., Beuchat L.R. Food Microbiology: Fundamentals and frontiers. 3ª ed. ASM Press. pp. 401-421.
- 22. Kortepeter M, Christopher G, Cieslak T, Culpepper R, Darling R, Pavlin J, Rowe J, McKee K, Eitzen E, (2001).** Medical management of biological casualties handbook [online]. 4th ed. United States Department of Defense; Botulinum. p: 121-128. Disponible en: <http://www.vnh.org/BIOCASU/17.html>. 08 de junio de 2018.
- 23. Lindström, M., Fredriksson-Ahomaa, M. y Korkeala, H. (2009).** Molecular epidemiology of group I and group II *Clostridium botulinum*. Tomado de: Brüggemann,

H. y Gottschalk, G. Clostridia, Molecular Biology in the Post-Genomic Era. Norfolk, UK: Caister Academic Press. pp:103–130.

24. Meriardi, G. y Ramin, M. (2016). Study on potential *Clostridium botulinum* growth and toxin production in parma ham. *Italian J. Food Safety*. 5(2):5564. DOI: 10.4081/ijfs.2016.5564

25. Nigam PK, Nigam Anjana (2010) . Botulinum toxin. *Indian J. Dermatol.* 55(1):8-14.

26. Peck, M.W. (2010). *Clostridium botulinum*. En: Juneja, V.K. y Sofos, J.N. Pathogens and toxins in food: challenges and interventions. ASM Press; Washington, D.C. p. 31-52.

27. Peck, M.W. y Stringer, S.C. (2005). The safety of pasteurised in-pack chilled meat products with respect to the foodborne botulism hazard. *Meat Sci.* 70:461-475.

28. PHAC. Public Health Agency of Canada (2010). Botulismo. The Center for Food Security and Public Health. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/botulismo.pdf>. 08 de junio de 2018.

29. Rings, D.M. (2004). Clostridial disease associated with neurologic signs: tetanus, botulism, and enterotoxemia. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20(2):379-391.

30. Sobel, J. (2005). Botulism. *Clin. Infect. Dis.* 41(8):1167-1173.

31. Solomon, H.M. y Lilly, T. (2001). Bacteriological analytical manual. Chapter 17. *Clostridium botulinum*. Disponible en:

<https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070879.htm>

32. Smith, L.A. (2009). Botulism and vaccines for its prevention. *Vaccine*. 27 Suppl 4:D33-9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.08.059.

33. Spelund, M. y Klaveness, D. (2014). Botulism outbreaks in natural environments - an update. *Front Microbiol.* 5:287. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00287

34. Stewart JS (1990). Anaerobic bacterial infections En reptiles. *J. Zoo. Wildl. Med.* 21(2):180-184.

35. Taillac, P.P. y Kim, J. (2010). Botulism. eMedicine; Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/829125-overview>.

- 36. Takeda, M., Tsukamoto, K., Kohda, T., Matsui, M., Mukamoto, M., Kozaki, S. (2005).** Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism. *Avian Dis.* 49(3):376-381.
- 37. van der Burgt, G.M., Mitchell, E.S., Otter, A., Whitaker, K.A. y Hogg, R. (2007).** Seven outbreaks of suspected botulism in sheep in the UK. *Vet Rec.* 161(1):28-30.
- 38. Wang, L., Sun, Y., Yang, W., Lindo, P. (2014).** Type A botulinum neurotoxin complex proteins differentially modulate host response of neuronal cells; *Toxicon* 82:52-60.
- 39. Weber, J.T., Hatheway, C.L. y St. Louis, M.E. (1994).** Botulism. En: Hoeprich, P.D., Jordan, M.C. y Ronald, A.R.. *Infectious diseases*, 5th ed.. Philadelphia: JB Lippincott Company; p. 1185–1194.
- 40. Wilkins, P.A. y Palmer, J.E. (2003a).** Botulism in foals less than 6 months of age: 30 cases (1989-2002). *J. Vet. Intern. Med.* 17(5):702-707.
- 41. Wilkins, P.A. y Palmer, J.E. (2003b).** Mechanical ventilation in foals with botulism: 9 cases (1989-2002). *J. Vet. Intern. Med.* 17(5):708-712.
- 42. WHO. (World Health Organization) (2002).** Botulism [online]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs270/en/> 08 de junio de 2018.