

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el botulismo infantil

Miembros del Comité Científico

Rosaura Farré Rovira, Francisco Martín Bermudo, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Mariano Domingo Álvarez, Antonio Herrera Marteache, Félix Lorente Toledano, M^a Rosario Martín de Santos, Emilio Martínez de Victoria Muñoz, M^a Rosa Martínez Larrañaga, Antonio Martínez López, Cristina Nerín de la Puerta, Teresa Ortega Hernández-Agero, Perfecto Paseiro Losada, Catalina Picó Segura, Rosa María Pintó Solé, Antonio Pla Martínez, Daniel Ramón Vidal, Jordi Salas-Salvadó, M^a Carmen Vidal Carou.

Secretario

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2011-001

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de mayo de 2011

Grupo de Trabajo

M^a Rosario Martín de Santos (Coordinadora)
Antonio Herrera Marteache
Félix Lorente Toledano
Antonio Martínez López
Teresa Ortega Hernández-Agero
Cristina Alonso Andicoberry (AESAN)

9

revista del comité científico nº 14

Resumen

El botulismo infantil es una enfermedad que se presenta en niños de entre 1 y 52 semanas de edad, cuando ingieren esporas de *Clostridium botulinum*. Las esporas, en el intestino grueso, pasan a formas vegetativas y liberan neurotoxinas que actúan a nivel de la unión neuromuscular impidiendo la liberación del neurotransmisor acetilcolina. La gravedad de la enfermedad resultante varía desde una leve hipotonía a parálisis flácida sistémica, habiéndose llegado incluso a considerar causa de muerte súbita en lactantes. Las esporas de *C. botulinum* se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo y en los sedimentos acuáticos de todo el mundo. De los posibles alimentos que se han tratado de vincular con el botulismo infantil (miel, jarabe de maíz, preparados deshidratados para lactantes, cereales, infusiones de especies vegetales, etc.), la miel es el que con mayor frecuencia aparece como responsable en los casos en los que se logra identificar la fuente. No obstante, en la mayoría de las ocasiones no es posible esclarecer el origen de las esporas responsables de la enfermedad.

Muchos investigadores han señalado la importancia de las condiciones ambientales que rodean al niño y que facilitan su exposición a las esporas de *C. botulinum*, citándose como factores de riesgo el contacto con polvo o tierra en domicilios ubicados en zonas rurales donde se llevan a cabo actividades agrícolas y ganaderas, así como en áreas urbanas con abundantes zonas en construcción que implican movimientos de tierra, o cuando se realizan obras de rehabilitación en los inmuebles.

Se considera que la mínima dosis infectiva de esporas de *C. botulinum* está comprendida entre 10 y 100 esporas. Los datos epidemiológicos actuales permiten considerar que el riesgo de padecer la enfermedad es bajo en los niños menores de 12 meses si se evita el consumo de miel y/o infusiones de especies vegetales.

Palabras clave

Botulismo infantil, toxinas botulínicas, miel, infusiones de especies vegetales, polvo.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on infant botulism.

Abstract

Infant botulism is a disease that occurs in infants between 1 and 52 weeks years of age when spores of *Clostridium botulinum* are ingested. These spores germinate and produce neurotoxins in the large intestine lumen. These toxins act at the neuromuscular junction blocking release of acetylcholine neurotransmitter. Clinical severity varies from a mild hipotony to systemic flaccid paralysis. It has even been considered as the cause of infant sudden death. *C. botulinum* spores are commonly found in soil samples and aquatic sediments throughout the world. Honey is the most well-documented food source of *C. botulinum* spores for infants although corn syrup, infant formulas, dry cereals, plants infusions and dust have been also associated with infant botulism. However, for the majority of cases the source of the causative spores remains unclear.

Researchers have also stressed the importance of the child's natural environment that may facilitate the exposure to *C. botulinum* spores. Contact with dust or soil in houses from rural areas, where farming activities are carried out, has also been cited as a risk factor. As well as urban areas with big areas under construction involving earthmoving or restoration works in buildings.

It is considered that the minimum infective dose of spores of *C. botulinum* may be as low as 10-100 spores. Current epidemiological data indicate that the risk of disease is low in infants less than 1 year old by avoiding the consumption of honey and/or plants infusions.

Key words

Infant botulism, botulinum neurotoxin, honey, plants infusions, dust.

Introducción

Debido a la gravedad del botulismo infantil y a pesar de su baja incidencia, la existencia de casos en España ha determinado que la Dirección Ejecutiva de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) haya solicitado al Comité Científico la elaboración de un informe que valore el estado del conocimiento respecto al botulismo infantil y su relación con el consumo de alimentos.

Se denomina botulismo a una enfermedad neurológica grave que afecta al hombre y a los animales, caracterizada por una parálisis flácida y producida por neurotoxinas (Hatheway, 1990) (Midura, 1996). En la actualidad, se reconocen cuatro tipos de botulismo: intoxicación botulínica clásica, botulismo de las heridas, botulismo infantil y botulismo por inhalación.

La intoxicación botulínica clásica se produce por la ingestión de alimentos que contienen neurotoxinas sintetizadas por *C. botulinum* al multiplicarse en los alimentos. En 1821, Justinus Kerner estudió una serie de intoxicaciones alimentarias que atribuyó al consumo de salchichas mal elaboradas, denominando a la enfermedad botulismo, del latín *botulus* (salchicha). Kerner llegó a extraer un compuesto tóxico de las salchichas que identificó como el responsable de la enfermedad. En 1897, el microbiólogo belga Emile-Pierre van Ermengen aisló una bacteria esporulada, Gram positiva y anaerobia en un jamón responsable de una intoxicación alimentaria, a la que denominó *Bacillus botulinus* (*C. botulinum* en la actualidad).

En 1951, se describió el botulismo de las heridas que se desencadena cuando éstas se infectan con esporas de *C. botulinum*, que pasan a formas vegetativas y producen las neurotoxinas. Se han detectado casos en drogodependientes por inyección intravenosa (Kuusi et al., 1999) (Barry et al., 2009).

El botulismo infantil no se reconoció hasta 1976 (Midura y Arnon, 1976) (Pickett et al., 1976). Se presenta en niños de entre 1 y 52 semanas de edad, que ingieren esporas de *C. botulinum*. Las esporas, en el intestino grueso, pasan a formas vegetativas y liberan neurotoxinas que actúan a nivel de la unión neuromuscular impidiendo la liberación del neurotransmisor acetilcolina. La gravedad de la enfermedad resultante varía desde una leve hipotonía de pares craneales seguida de parálisis flácida descendente, simétrica, aguda, afebril a parálisis flácida sistémica, habiéndose llegado incluso a considerar causa de muerte súbita en lactantes. La variada sintomatología y su presentación inespecífica determina que sea una enfermedad difícil de diagnosticar y que pueda confundirse con otros procesos, principalmente con el síndrome de *Guillain-Barré* y la *Miastenia gravis* (Arnon, 2004). El botulismo infantil se ha detectado en muchos países, aunque los niveles de notificación han sido muy variables. La ausencia de casos suele atribuirse más a dificultades en el diagnóstico y sistema de notificaciones que a la inexistencia de la enfermedad. También se ha descrito en adultos una forma de botulismo similar al infantil, que se presentaría vinculada a infecciones gastrointestinales, tratamientos prolongados con antibióticos y cirugía intestinal (Chia et al., 1986) (Freedman et al., 1986) (Griffin et al., 1997).

El botulismo por inhalación de las neurotoxinas iría asociado a acciones bioterroristas. Se considera que un gramo de toxina purificada podría provocar la muerte por inhalación a más de un millón de personas, aunque pueden existir dificultades técnicas para su diseminación (Arnon et al., 2001).

Identificación del peligro

En 1976, el botulismo infantil se reconoce por primera vez como una forma clínica de botulismo diferente de la intoxicación botulínica clásica (Midura y Arnon, 1976) (Pickett et al., 1976). No obstante,

existe constancia de un caso documentado aunque mal diagnosticado ocurrido en 1931 en California (Arnon et al., 1979).

A diferencia de la intoxicación botulínica clásica que se desencadena por la ingestión de neurotoxinas presentes en el alimento, el botulismo infantil puede considerarse como un evento oportunista en el que esporas de *C. botulinum* penetran en el intestino grueso donde la inmadurez de la flora intestinal permite que las esporas germinen, pasen a formas vegetativas y liberen las neurotoxinas. Asimismo, cepas de *Clostridium butyricum* y de *Clostridium baratii* han sido también responsables de algunos casos de botulismo infantil por toxinas E y F (McCroskey et al., 1991) (Gimenez et al., 1992) (Fenicia et al., 2002) (Arnon, 2004) (Barash et al., 2005) (Brook, 2007) (Abe et al., 2008).

Desde 1976 se han notificado más de 2.900 casos a nivel mundial y hoy se considera la forma más frecuente de botulismo en muchos países (Koepke et al., 2008) (Barash et al., 2010) (Lúquez et al., 2010).

Caracterización del peligro

1. Características del agente y su patogenicia

C. botulinum es un bacilo Gram positivo, anaerobio estricto y esporulado. Las esporas de *C. botulinum* están ampliamente distribuidas en el suelo y en los sedimentos acuáticos, pudiendo contaminar distintos tipos de alimentos (Tanzi y Gabay, 2002) (EFSA, 2005) (Lindström et al., 2010).

C. botulinum, en función de las toxinas que elabora, se clasifica en siete tipos (A, B, C, D, E, F y G). Los tipos A, B, E, F y G son los que se asocian con el botulismo en el hombre, mientras que los tipos C y D afectan a los animales. No obstante, se han notificado algunos casos esporádicos en el hombre producidos por los tipos C y D (Fenicia y Anniballi, 2009). Generalmente, cada cepa de *C. botulinum* produce una única toxina aunque existen cepas que pueden sintetizar más de una (Arnon, 1984), en cuyo caso se designan en función de la toxina mayoritaria que elaboran (Ab, Af, Ba y Bf). También se han encontrado cepas de *C. butyricum* y *C. baratii*, que manteniendo todas las características típicas de estas dos especies, producen las toxinas E y F, respectivamente (Brook, 2007).

Las cepas de *C. botulinum* también se clasifican en cuatro grupos (I-IV) en función de sus diferentes propiedades bioquímicas y en especial con relación a su capacidad proteolítica. Las cepas de *C. botulinum* que producen el botulismo en el hombre pertenecen a los grupos I (cepas proteolíticas que producen las toxinas A, B y F) y II (cepas no proteolíticas que producen las toxinas B, F y E). Las esporas de las cepas del grupo I son más termorresistentes que las del grupo II. Las toxinas, por el contrario, son todas termolábiles (Lindström et al., 2010).

Con relación al botulismo infantil, los tipos de *C. botulinum* aislados más frecuentemente han sido el A y B, mientras que los tipos E y F se han descrito en menor medida (Lúquez et al., 2010). Asimismo, en la bibliografía se cita un caso producido por *C. botulinum* tipo C (Koepke et al., 2008). También se han identificado cepas que producen las toxinas Ab, Ba y Bf (Fathalla et al., 2008) (Fenicia y Anniballi, 2009). Paralelamente, cepas de *C. butyricum* que producen la neurotoxina E y cepas de *C. baratii* que producen la neurotoxina F se han asociado con casos de botulismo infantil (McCroskey et al., 1991) (Barash et al., 2005) (Abe et al., 2008). La mayor parte de las cepas de *C. botulinum* responsables del botulismo infantil son proteolíticas (Brook, 2007).

La toxina botulínica se considera uno de los compuestos tóxicos más letales para el hombre. Algunos autores establecen la dosis letal oral para el hombre en 1 µg/kg (Sobel, 2005).

Las toxinas botulínicas sintetizadas en el interior de la célula tienen un peso molecular aproximado de 150 kDa y escasa toxicidad. Se liberan al medio al lisarse la célula aunque también pueden hacerlo al final de la fase exponencial de crecimiento. La toxina botulínica no se libera en forma libre sino unida a otras proteínas conocidas como progenitores de la toxina (hemaglutininas y proteínas no hemaglutinantes), cuya función es proteger a la toxina de su degradación y facilitar su fijación a receptores de las células intestinales. La toxina botulínica una vez liberada se desdobra en una cadena pesada (100 kDa) y una cadena ligera (50 kDa) por la acción de proteasas producidas por el microorganismo o presentes en los tejidos (Smith, 2009). Las dos subunidades permanecen unidas por un puente disulfuro y el desdoblamiento ocurre a un tercio aproximadamente del extremo N-terminal. La cadena ligera es una endopeptidasa que contiene Zn^{2+} e hidroliza una o más de las tres proteínas intracelulares (sinaptobrevina, sintaxina y complejo SNAP-25) necesarias para la fusión vesicular y la liberación del neurotransmisor acetilcolina (Pellizzari et al., 1999) (Brook, 2007) provocando, en última instancia, la parálisis flácida característica de esta enfermedad.

En el botulismo infantil, los síntomas que con mayor frecuencia se presentan, tras un periodo de incubación de aproximadamente tres días, son el estreñimiento inicial e inapetencia, y progresivamente disminución de los movimientos, pérdida de la expresión facial, llanto débil, disfunción en la deglución con pérdida del reflejo nauseoso, parálisis oculares, debilidad del tronco e hipotonía generalizada, simétrica y descendente. La evolución de la enfermedad es variable y oscila desde una rápida recuperación cuando los niños son hospitalizados antes de que aparezcan los síntomas respiratorios (Midura, 1996), hasta el fallecimiento. Como se ha comentado en la introducción, *C. botulinum* también se ha asociado a casos de muerte súbita en niños. Böhnelt et al. (2001) llevaron a cabo un estudio durante cinco años en el que analizaron 75 casos que incluían 57 clasificados como de muerte súbita. De las muestras investigadas, en 15 se detectó la toxina o el microorganismo, por lo que estos autores concluyeron que en estos casos se podría atribuir la muerte a *C. botulinum*, recomendando a las autoridades sanitarias que se investigara su presencia en casos de muerte repentina en niños menores de 1 año.

El botulismo infantil se confirma por la detección de las neurotoxinas en heces o por el aislamiento en heces de los microorganismos productores de la toxina (Fenicia y Anniballi, 2009). En las muestras de sangre raramente se encuentran niveles detectables de neurotoxina. En los alimentos sospechosos se investiga la presencia de esporas de *C. botulinum* y en caso positivo, se comprueba si son del mismo tipo que las aisladas del paciente, comparándose posteriormente las cepas mediante técnicas genéticas (Brett et al., 2005) (Barash et al., 2010).

El tratamiento convencional con antitoxina botulínica equina para adultos no está recomendado en niños, ya que su eficacia nunca ha sido evaluada en ensayos controlados y es frecuente la aparición de reacciones anafilácticas (Fox et al., 2005) (Cárdenas et al., 2007). En el año 2003, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó el empleo de inmunoglobulina humana específica (*BabyBIG®*) para el tratamiento de aquellos lactantes en los que se sospeche de esta enfermedad. Se trata de anticuerpos humanos obtenidos a partir de plasmas procedentes de adultos inmunizados que tienen la capacidad

de neutralizar la toxina botulínica circulante en sangre. Desde 2005, el *BabyBIG*^R está disponible para tratar lactantes hospitalizados fuera de Estados Unidos. Antes de disponer de este fármaco, el botulismo infantil se acompañaba de una alta morbimortalidad (Cárdenas et., al 2007) (López Laso et al., 2008).

2. Relación dosis-respuesta

En el botulismo infantil, la mínima dosis infectiva de esporas de *C. botulinum* cuya ingestión podría desencadenar los síntomas no se conoce con exactitud, aunque se considera comprendida entre 10 y 100 esporas (Bianco et al., 2008). En un estudio intragástrico de dosis-respuesta realizado por Sugiyama y Mills (1978) en crías de ratones, se determinó que la dosis infectiva 50 (ID₅₀) era de 700 esporas de *C. botulinum* y de 1.500 esporas en crías de rata (Moberg y Sugiyama, 1980).

3. Población susceptible

La edad es el único factor de predisposición reconocido en el botulismo infantil. La mayor parte de los casos que se registran se producen en niños con edades comprendidas entre 1 y 52 semanas, siendo la edad media de presentación las 13 semanas (Brook, 2007) (Koepeke et al., 2008). También puede afectar, en casos muy excepcionales, a niños de mayor edad con alteraciones intestinales, inmunodeprimidos o después de tratamientos prolongados con antibióticos (Chia et al., 1986) (Freedman et al., 1986) (Griffin et al., 1997).

Los adultos sanos y los niños mayores ingieren con los alimentos esporas de *C. botulinum* de manera habitual sin desarrollar la enfermedad. Este hecho parece deberse a la madurez de la flora intestinal. En los niños de corta edad, la flora intestinal es más simple tanto cualitativa como cuantitativamente, de forma que no impide la colonización de la mucosa por parte de las esporas de microorganismos del género *Clostridium* (Midura, 1996) (Arnon, 2004).

4. Factores de riesgo

Algunos autores han sugerido que el tipo de lactancia, tiempo de lactancia materna, edad en la que se introducen nuevos alimentos, etc., podría influir en la presentación del botulismo infantil (Nevas et al., 2005).

El tipo de leche consumida por los afectados ha sido uno de los principales factores analizados, debido a las diferencias existentes en la composición inmunológica entre la leche materna y las leches comerciales, en cuanto a su influencia sobre la microflora intestinal que es la que debe competir con las esporas de *C. botulinum* en la colonización intestinal. La edad de aparición de los síntomas es menor en el caso de niños alimentados con lactancia artificial (Arnon, 2004), donde la gravedad del proceso suele ser mayor, lo que podría estar relacionado con una menor presencia de inmunoglobulinas A, lactoferrina, lisozima o con el tipo de flora intestinal. Con relación a los niños alimentados con leche materna, se considera que el periodo más crítico es el que coincide con la introducción de nuevos alimentos, lo que iría acompañado de un cambio importante en el tipo de flora intestinal. Sin embargo, son varios los autores que concluyen que no es posible establecer una relación directa entre el tipo de alimentación y la aparición de la enfermedad (Fenicia y Anniballi, 2009).

Otro factor que puede favorecer la aparición del botulismo infantil es la ralentización de la motilidad intestinal, medida como la frecuencia de defecación. Menos de una deposición al día se considera un factor de riesgo tanto para los bebés alimentados con lactancia materna como con lactancia artificial. La existencia de divertículos de Meckel parece ser un factor predisponente en el caso del botulismo infantil producido por *C. butyricum*. Sin embargo, esta relación no se ha demostrado en el caso de *C. botulinum* (Arnon, 2004).

De todos los posibles alimentos que se han tratado de vincular con el botulismo infantil (miel, jarabe de maíz, azúcar, preparados deshidratados para lactantes, cereales, infusiones de especies vegetales, etc.), la miel es el que aparece con mayor frecuencia como responsable de los casos en los que se logra identificar la fuente (Arnon et al., 1979) (Midura, 1996) (Satorres et al., 1999) (SCVMPH, 2002) (Van der Vorst et al., 2006) (Koepeke et al., 2008) (Bianco et al., 2009). No obstante, conviene señalar que en la mayoría de los casos investigados no se llega a esclarecer el origen de las esporas responsables de la enfermedad.

Muchos investigadores han señalado la importancia de las condiciones ambientales que rodean al niño y que facilitan su exposición a las esporas de *C. botulinum*, citándose como factores de riesgo el contacto con polvo o tierra en domicilios ubicados en zonas rurales donde se llevan a cabo actividades agrícolas y ganaderas, así como en áreas urbanas con abundantes zonas en construcción que impliquen movimientos de tierra (Midura, 1996) (Fox et al., 2005).

5. Situación actual mundial

Hasta la fecha, se han documentado casos de botulismo infantil en 26 países de todos los continentes, a excepción de África. Los países que presentan el mayor número de casos son Estados Unidos, Argentina, Australia, Italia, Canadá y Japón (Fenicia y Anniballi, 2009). La falta de notificaciones en África podría ser debida más a la dificultad en el diagnóstico y sistema de registro que a la inexistencia de la enfermedad (Koepeke et al., 2008).

Conviene tener presente que prácticamente toda la información existente sobre el botulismo infantil parte únicamente del estudio de los pacientes ingresados, lo que puede sesgar los resultados obtenidos (Arnon, 2004). De hecho, la incidencia percibida actualmente es más un reflejo de la capacidad del personal sanitario de detectar la enfermedad que de la frecuencia real de la misma.

Dentro del continente americano, en Estados Unidos y en Argentina, el botulismo infantil es, actualmente, la forma más frecuente de botulismo (Arnon, 2004) (Lúquez et al., 2007), siendo Estados Unidos el país donde se notifican, con diferencia, el mayor número de casos a nivel mundial (Koepeke et al., 2008).

En Europa, los casos de botulismo infantil se detectan de manera más homogénea entre los distintos países. Esta circunstancia puede deberse tanto a una capacidad similar de diagnosticar la enfermedad en todos los países, como a una distribución ambiental más homogénea de las esporas, o bien a ambas. En la Unión Europea, el botulismo es una enfermedad de declaración obligatoria. Sin embargo, su declaración no precisa de separación por edades o por forma de presentación, por lo que los datos específicos de botulismo infantil existentes se refieren principalmente a casos documentados y publicados. De acuerdo con Koepeke et al. (2008), hasta el año 2006 se habían notificado en Europa un total de 65 casos de botulismo infantil, siendo Italia el país con mayor número de notificaciones.

En España, de acuerdo con el estudio realizado por Koepke et al. (2008), desde 1985 a 2002 hay referencias de nueve casos de botulismo infantil. De estos nueve casos, en cuatro se determinó el tipo de toxina, siendo A en dos de los casos y B en los otros dos. En la bibliografía consultada se encuentran referencias de algunos casos más (Lizarraga et al., 1996) (Cárdenas et al., 1997) (López Laso et al., 2008).

La variabilidad entre países e incluso dentro de un mismo país a la hora de informar sobre los casos de botulismo infantil, podría reflejar la heterogénea distribución medioambiental de las esporas. En Argentina, en algunos estudios, se ha encontrado una relación directa entre la incidencia de botulismo infantil y la presencia de esporas de *C. botulinum* en determinadas regiones (Lúquez et al., 2005, 2007). Además de las diferentes capacidades de detección de la enfermedad y de la documentación de los casos, la variabilidad en la incidencia entre países podría atribuirse a prácticas culturales relativas a la administración a los lactantes de miel, infusiones u otros alimentos infantiles, junto con una diferente exposición al polvo o al suelo y también a una variabilidad en la susceptibilidad de los pacientes debida a causas aún desconocidas (Koepke et al., 2008).

Evaluación de la exposición

1. Presencia de *Clostridium botulinum* en alimentos y otras fuentes

Las esporas de *C. botulinum* están distribuidas ampliamente en el suelo y en los sedimentos acuáticos, pudiendo contaminar distintos tipos de alimentos (Tanzi y Gabay, 2002) (EFSA, 2005) (Lindström et al., 2010).

Distintos estudios que han evaluado la presencia de esporas de *C. botulinum* en suelos y sedimentos acuáticos de Estados Unidos, Canadá, América Central y del Sur, Europa, África, Indonesia, Australia y Nueva Zelanda, han puesto de manifiesto que la incidencia de botulismo infantil y el tipo de toxina responsable están directamente relacionados con el grado de contaminación de los suelos y con el tipo de esporas presentes en ellos (Fenicia y Anniballi, 2009).

En Estados Unidos, la FDA llevó a cabo en el año 1982 un amplio estudio en el que se examinaron diez categorías de alimentos infantiles para determinar la posible presencia de esporas de *C. botulinum*. Se analizaron un elevado número de muestras que incluían cereales deshidratados (90), preparados deshidratados para lactantes (100), leche en polvo desnatada (100), leche entera (90), frutas enlatadas (100), zumos de frutas (100), miel (100), jarabe de maíz (40), azúcar (90) y zanahorias cocidas (100). Los resultados obtenidos sólo pusieron de manifiesto la presencia de esporas de *C. botulinum* tipo A en dos de las 100 muestras de miel analizadas así como la presencia de esporas de *C. botulinum* tipo B en ocho de las 40 muestras de jarabe de maíz. Dado que no existían datos previos de la presencia de esporas de *C. botulinum* en jarabe de maíz, se consideró conveniente realizar un muestreo más amplio a nivel nacional, tomando muestras de diferentes supermercados y establecimientos comerciales que garantizase un mayor número de proveedores. De las 961 muestras envasadas analizadas, cinco contenían esporas de *C. botulinum* tipo B en niveles aproximados de 1,25 esporas/25 g (Kauter et al., 1982). A raíz de los resultados obtenidos en este estudio, la FDA recomendó que se evitase el consumo de miel y jarabe de maíz en niños menores de un año. Conviene destacar que Estados Unidos es el país que notifica un mayor número de casos de botulismo infantil. En 2009, según los datos que aporta el

CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), se registraron 121 casos de botulismo, de los que 84 (69%) correspondieron al botulismo infantil (CDC, 2009).

Un estudio bastante similar al mencionado se realizó en Canadá en el año 1988 para determinar la presencia de esporas de *C. botulinum* en alimentos infantiles. Se analizaron 150 muestras de miel, 43 de jarabe de maíz y 40 de cereales deshidratados. Los resultados obtenidos sólo pusieron de manifiesto la presencia de esporas de *C. botulinum* en una muestra de arroz y en una muestra de miel sospechosa de estar implicada en un caso de botulismo infantil (Hauschild et al., 1988).

Miel

Como se ha señalado, de los posibles alimentos responsables del botulismo infantil, la miel es el que con mayor frecuencia se ha vinculado con casos de enfermedad, no sólo en Estados Unidos sino también en Europa (Aureli et al., 2002) (Tanzi y Gabay, 2002).

El consumo de miel en niños menores de un año es relativamente bajo, y aún más, desde la existencia de recomendaciones sanitarias en algunos países que desaconsejan su utilización (Arnon et al., 1979) (SCVMPH, 2002). Algunas empresas de Estados Unidos y Reino Unido incluyen en el etiquetado de los envases de miel la mención de producto no indicado para niños menores de 12 meses (Arnon, 2004) (Koepke et al., 2008) por lo que varios autores señalan que la prevalencia del botulismo infantil asociado al consumo de miel podría haber disminuido desde la aparición de estas recomendaciones (Fenicia y Anniballi, 2009).

La presencia de esporas de *C. botulinum* en la miel puede provenir del polen, del tracto digestivo de las abejas, polvo, aire, tierra, agua y néctar. Otras fuentes de contaminación derivarían de los equipos, utillaje, contaminaciones cruzadas, etc., durante el procesado posterior (SCVMPH, 2002). El número de esporas en las muestras de miel asociadas a casos de enfermedad oscilaría entre 5 y 80 esporas/g.

En Europa, uno de los primeros casos de botulismo infantil atribuido al consumo de miel fue descrito por Fenicia et al. (1993). En este caso, se aisló la misma cepa de *C. botulinum* tipo B tanto de las heces del lactante de nueve semanas de edad como de las muestras de miel procedentes del envase que había consumido. La información recogida puso de manifiesto que la miel se había administrado al lactante con la única finalidad de calmarle y paliar su llanto. En este sentido, una encuesta realizada en Italia a 270 mujeres, reveló que un 25% proporcionaban miel a los lactantes sin ser conscientes del riesgo que tal práctica conllevaba (Aureli et al., 2002).

Castell y Nieto (1999) describen un caso similar en España asociado al consumo de miel, en un niño de 2 meses de edad. Entre los antecedentes epidemiológicos se encontró que el niño estaba siendo alimentado con lactancia materna además de con una fórmula láctea, manifestando la madre que en ocasiones le impregnaba el chupete con pequeñas cantidades de miel. En los análisis de heces y suero se detectó toxina botulínica tipo B. Los resultados de los análisis de la leche adaptada del envase consumido por el niño dieron negativo, pero en las muestras de miel se encontraron esporas de *C. botulinum* tipo B. En este caso se pudo demostrar en la miel la presencia de esporas de *C. botulinum* productoras del mismo tipo de toxina que la encontrada en las heces del lactante. Los autores consideran que en España es probable que haya casos sin diagnosticar debido al espectro clínico variable que presenta la enfermedad y, por tanto, a la dificultad de su diagnóstico.

En un estudio posterior, Nevas et al. (2002), en Finlandia, analizaron 190 muestras de miel para detectar la presencia de esporas de *C. botulinum* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados mostraron la presencia de esporas de *C. botulinum* en 8 (7%) de las 114 muestras de miel finlandesas analizadas y en 12 (16%) de las 76 muestras de mieles importadas procedentes de 16 países. El número de esporas en las muestras varió entre 18 y 140 esporas/kg. El gen que codificaba por la neurotoxina A se detectó en 14 muestras y el de la neurotoxina B en 2. En otro estudio, estos mismos autores analizaron 294 muestras de miel producidas en Dinamarca, Noruega y Suecia mediante una técnica de PCR múltiple. El porcentaje de muestras positivas varió en función del origen. En las mieles procedentes de Dinamarca, los aislamientos resultaron mayores con un 26% de muestras positivas, seguidas de las de Noruega con un 10% y Suecia con un 2%. Las esporas de *C. botulinum* tipo B fueron las más frecuentemente identificadas. La mayor presencia de muestras positivas en las mieles procedentes de Dinamarca se relacionó en este estudio con el elevado número de explotaciones porcinas existentes en este país. Un estudio previo realizado por Dahlenborg et al. (2001), puso de manifiesto una prevalencia de esporas de *C. botulinum* del 62% en muestras fecales de cerdos sacrificados en el matadero. Dinamarca destaca por su elevada producción porcina con más de 13 millones de animales en un área de tan sólo 43.094 km². El empleo habitual de los purines como fertilizantes puede contribuir a una amplia diseminación de esporas en el suelo y agua, de forma que las abejas entrarían fácilmente en contacto con ellas, lo que explicaría, según los autores del estudio, la mayor presencia de muestras positivas en las mieles procedentes de Dinamarca. La presencia de esporas de *C. botulinum* en la miel sería un reflejo de la contaminación existente en el medio ambiente. Un análisis de suelos realizado en Dinamarca y Suecia puso de manifiesto la presencia de esporas de *C. botulinum* en un 30% de las muestras de suelos analizadas (Huss, 1980).

Nevas et al. (2006) realizaron un estudio para identificar la posible presencia de esporas de *C. botulinum* en colmenas e instalaciones de procesado de miel. Analizaron 1.168 muestras procedentes de 100 colmenas y equipamientos durante el periodo 2001-2003. Se registraron datos concernientes a los métodos de procesado y condiciones ambientales del entorno. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto la habitual presencia de esporas de *C. botulinum* a lo largo de toda la cadena de producción, siendo *C. botulinum* tipo B el más frecuentemente identificado. El número aproximado de esporas en las muestras positivas osciló entre 60 y 1.200 esporas/kg, con una media de 180 esporas.

Otros estudios realizados en los que se analizaron muestras de miel adquiridas en establecimientos minoristas, detectaron esporas de *C. botulinum* en mieles de Estados Unidos (10%), Japón (7,5%), Italia (6,5%) y Turquía (12,5%) (SCVMPH, 2002) (Küplülü et al., 2006). Hay que tener presente que no es factible aplicar un tratamiento térmico suficiente para destruir las esporas de *C. botulinum* presentes en la miel sin modificar las características organolépticas del producto final (Nevas et al., 2006).

Las fuentes de exposición de los niños menores de 1 año a la miel son diversas y están muy relacionadas con las costumbres de cada país e incluso de cada región. Las vías más frecuentes consistirían en añadir miel a los alimentos infantiles, untar miel en el pezón de la madre antes de cada toma, en los labios del bebé o en el chupete para reducir la ansiedad o el llanto (SCVMPH, 2002). Como ya se ha señalado, son numerosas las instituciones que como la FDA y la OMS (Organización Mundial de la Salud) recomiendan que se evite el consumo de miel en menores de 1 año.

Preparados deshidratados para lactantes

Además de la miel, otro de los alimentos que se han analizado como posible fuente de exposición a las esporas de *C. botulinum* son los preparados deshidratados para lactantes. En principio, no puede excluirse la presencia de esporas de *C. botulinum* en la leche recién obtenida, aunque su presencia probablemente es baja. Asimismo, las esporas pueden incorporarse en el procesado posterior y sobrevivir a los tratamientos térmicos aplicados (Lindström et al., 2010).

Aunque estudios previos realizados en muestras de preparados deshidratados para lactantes no habían puesto de manifiesto la presencia de esporas de *C. botulinum* (Kauter et al., 1982) (Hauschild et al., 1988), la notificación en 2001, en el Reino Unido, de un caso de botulismo infantil en un niño de 5 meses de edad asociado a este tipo de productos despertó la alarma y la necesidad de determinar la presencia de esporas. En el Reino Unido, dada la baja frecuencia de presentación de botulismo infantil, se llevaron a cabo dos estudios independientes para esclarecer el origen de las esporas de *C. botulinum*. Los resultados publicados por Johnson et al. (2005) pusieron de manifiesto que el caso notificado se habría originado por una cepa de *C. botulinum* tipo B aislada tanto de las heces del lactante como de las muestras del preparado deshidratado que había ingerido el niño. También se analizaron muestras de cinco preparados del mismo lote sin abrir. Para la caracterización de las cepas se emplearon técnicas microbiológicas de cultivo con caracterización fenotípica, tipificación de la neurotoxina y electroforesis de campos pulsantes (PFGE). Los patrones de bandas obtenidos mediante PFGE de la cepa aislada de heces y del preparado que había ingerido el lactante resultaron similares, mientras que el patrón obtenido de una cepa aislada del único preparado no abierto en el que se confirmó la presencia de esporas resultó diferente. Estos autores concluyeron que no era posible establecer con certeza si el origen de las esporas en el preparado ingerido por el lactante provenía del propio preparado, o bien de una contaminación del producto una vez abierto el envase. No se realizaron estudios de toma de muestras del entorno del lactante, si bien el domicilio estaba próximo a un edificio en construcción, de forma que el movimiento de tierras y el subsiguiente polvo generado podrían haber liberado las esporas. Asimismo, estos investigadores señalaron que si la contaminación del lote hubiese sido elevada, dado que éste estaba compuesto por 122.388 unidades fabricadas en octubre de 1998 y consumidas por unos 30.000 lactantes durante tres años, lo esperable es que se hubiesen registrado más casos de botulismo infantil, lo que no aconteció.

El otro estudio de laboratorio relacionado con este caso fue desarrollado por Brett et al. (2005). Estos investigadores confirmaron la presencia de neurotoxina de *C. botulinum* tipo B en las heces del lactante. Asimismo, identificaron en nueve aislamientos de heces de *C. botulinum* tipo B dos perfiles diferenciables, mediante el análisis del polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP). De los análisis de muestras tomadas en el domicilio del paciente, aislaron *C. botulinum* tipo A de un envase abierto de *pudding* de arroz deshidratado con frutas y *C. botulinum* tipo B de un envase también abierto del preparado deshidratado para lactantes que había ingerido el niño. De los diez aislamientos obtenidos de *C. botulinum* tipo B se obtuvieron cuatro perfiles diferentes mediante la técnica de AFLP, de los que dos resultaron similares a los obtenidos en los aislamientos de heces. En los análisis de 14 muestras procedentes de envases sin abrir del mismo lote del preparado sospechoso, sólo se identificó *C. botulinum* en las muestras de un envase y con un perfil diferente. Los análisis practicados en diez

envases sin abrir del *pudding* de arroz deshidratado con frutas del mismo lote resultaron negativos. Los autores concluyeron que se pueden encontrar múltiples cepas de *C. botulinum* tanto en los alimentos como en el tracto intestinal de los afectados.

Con estos antecedentes, Barash et al. (2010) realizaron un interesante estudio durante dos años para determinar la posible presencia de *C. botulinum* y de otros clostridios en los preparados deshidratados ingeridos por niños hospitalizados por botulismo infantil. Asimismo, analizaron muestras adquiridas en establecimientos comerciales. De las 39 muestras analizadas, en 12 (31%) se aislaron esporas de clostridios, pero en ninguna de las muestras se identificaron esporas de *C. botulinum*, *C. baratii* o *C. butyricum*. Entre las especies identificadas se encontraban *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi/haemolyticum* y *C. sporogenes*. El número más probable de esporas en las muestras positivas osciló entre 1,1 y 23 esporas/100 g. *C. sporogenes* resultó ser la especie aislada con mayor frecuencia. La mayor parte de las muestras investigadas contenían, además, esporas pertenecientes a distintas especies del género *Bacillus*. Aunque no se aislaron esporas de *C. botulinum*, la presencia de otras esporas de *Clostridium* y de *Bacillus* con similar hábitat pone de manifiesto la posibilidad de que este tipo de preparados pueda contener también esporas de *C. botulinum*.

Los preparados deshidratados para lactantes no son productos estériles y de hecho en algunas ocasiones se han vinculado a cuadros de toxiinfecciones alimentarias en los que los microorganismos identificados han sido *Salmonella* spp. y *Cronobacter sakazakii* (Baker, 2002). En Estados Unidos, la FDA considera que en los preparados deshidratados para lactantes no son necesarios controles adicionales a los establecidos para *Salmonella* spp. y *Cronobacter sakazakii* (FDA, 2006). Esta opinión deriva de la decisión adoptada por la FAO/OMS (2006), que concluye que estos dos microorganismos son los que con mayor frecuencia se han vinculado con enfermedades en lactantes asociadas a la ingesta de este tipo de preparados.

En Europa, el Reglamento (CE) Nº 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, (UE, 2007) establece criterios de seguridad alimentaria en los preparados deshidratados para lactantes, siendo el criterio establecido la ausencia de *Salmonella* en 25 g y la ausencia de *Cronobacter sakazakii* en 10 g de muestra. Este mismo Reglamento introduce en los criterios de higiene del proceso, el control al final del proceso de fabricación de esporas de presunto *Bacillus cereus* con un valor m de 50 ufc/g y un valor M de 500 ufc/g. Cuando los resultados sean insatisfactorios, la normativa establece mejoras en la higiene de la producción, prevención de la recontaminación y mejoras en la selección de las materias primas. Aunque la normativa actual no recoge ningún control de esporas de *C. botulinum* en los preparados deshidratados para lactantes, podría ser conveniente que las industrias elaboradoras adoptaran medidas preventivas que garantizaran la ausencia de esporas de esta bacteria en el producto final.

Especies vegetales para infusiones

La presencia de esporas de *C. botulinum* en especies vegetales que se utilizan en infusiones puede provenir del aire, agua o suelo donde se cultivaron, así como de contaminaciones cruzadas durante el procesado posterior y/o preparación final para su consumo. El tratamiento térmico aplicado a la infusión no es suficiente para garantizar su destrucción.

En varios países de Centro y Sudamérica, al igual que en países del área mediterránea como España o Italia, es una práctica relativamente habitual preparar infusiones con especies vegetales recolectadas por el propio usuario o comerciales, para tratar los cólicos intestinales de niños, principalmente lactantes, o simplemente como bebida (Satorres et al., 1999) (Fenicia y Anniballi, 2009).

Satorres et al. (1999) publicaron un estudio en el que analizaron 100 muestras de diferentes especies vegetales con el objetivo de detectar la presencia de esporas de *C. botulinum*. De las 100 muestras, sólo cuatro (4%) contenían esporas de *C. botulinum* tipo A. Los aislamientos se realizaron en poleo criollo (*Lippia turbinata*), hierba del pollo (*Alternanthera pungens*), anís (*Pimpinella anisum*) y sen (*Senna acutifolia*), si bien el número de muestras de cada especie botánica fue pequeño y en el trabajo no se especificaba si las esporas se encontraban en una, varias o en todas las muestras correspondientes a una misma planta.

Bianco et al. (2008) llevaron a cabo el análisis de 200 muestras de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) con la finalidad de detectar la presencia de esporas de *C. botulinum*. El 7,5% de las muestras contenían esporas. Los resultados pusieron de manifiesto una mayor presencia de esporas en las muestras adquiridas al peso que en las envasadas. El nivel de presencia de esporas en las muestras positivas oscilaba entre 0,3-0,4 esporas/g de manzanilla. En el estudio se identificaron los tipos A, B y F en el 53,3%, 6,7% y 13,3% de las muestras positivas respectivamente, mientras que en el 6,7% se aislaron una mezcla de los tipos A y F. En el 20% restante no fue posible la tipificación. Los autores concluyeron que aunque el número de esporas en las muestras era inferior al que se considera podría ser necesario para originar la enfermedad, las infusiones no deberían ser ingeridas por niños menores de 1 año dado que éstas se suelen preparar con varios gramos de la planta, al tiempo que pueden administrarse varias veces al día y en días sucesivos. Como la presencia de esporas en las plantas parece ser consecuencia directa de su existencia en el suelo, estos mismos autores, en un trabajo previo, analizaron 2.009 muestras de suelo procedentes de cinco regiones de Argentina y encontraron esporas de *C. botulinum* en un 23,5% de las muestras (Lúquez et al., 2005).

También se ha investigado la presencia de esporas de *C. botulinum* en tila (*Tilia* spp.), planta igualmente empleada en la preparación de infusiones para su administración a lactantes. Se analizaron 100 muestras procedentes de la recolección directa de las flores en el propio árbol y otras 100 de preparados comerciales, envasados en bolsas para infusión. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que un 3% de las muestras de las flores recolectadas contenían un valor medio de 30 esporas/100 g. *C. botulinum* tipo A se identificó en dos muestras y *C. botulinum* tipo B en una. Por el contrario, en ninguno de los preparados comerciales se aislaron esporas de *C. botulinum* (Bianco et al., 2009).

En España, López Laso et al. (2008) analizaron un caso de botulismo infantil que se presentó en el año 2007 en Córdoba en un lactante de 40 días alimentado con una fórmula de inicio y que también había ingerido una infusión de manzanilla e hinojo (*Foeniculum vulgare*). El hecho de que dos meses más tarde se detectara un segundo caso en Huelva en otro lactante que también había consumido el mismo tipo de infusión despertó sospechas en cuanto a la posibilidad de que la exposición a las esporas de *C. botulinum* tuviera ese origen. Sin embargo, no se aislaron esporas de *C. botulinum* en ninguna de las muestras procedentes de los envases de la fórmula de inicio y de la infusión ingeridas

por el lactante. En los análisis de heces se detectó la neurotoxina tipo B así como las esporas de *C. botulinum* tipo B.

Dado que los métodos de procesado no pueden garantizar la ausencia de esporas de *C. botulinum* en algunas infusiones de especies vegetales, se recomienda evitar su consumo en niños menores de 12 meses. La inclusión de esta información en el etiquetado de los productos podría contribuir a disminuir la incidencia de la enfermedad.

Presencia de *Clostridium botulinum* en el polvo

Las esporas de *C. botulinum* presentes en el polvo pueden también contaminar los alimentos que se administran al lactante. Asimismo, las esporas pueden ser inhaladas directamente por el niño y pasar al tracto intestinal, o bien acceder al lactante por vía oral cuando el niño gatea y entra en contacto con objetos contaminados o se introduce las manos sucias de polvo en la boca.

Nevas et al. (2005) demostraron en un niño de 11 semanas fallecido de forma súbita, en lo que se confirmó posteriormente como un caso de botulismo infantil, que el origen de las esporas de *C. botulinum* era el polvo del hogar. Los resultados negativos obtenidos en el preparado para lactantes que ingería el niño y descartada la miel como fuente de exposición a las esporas, los investigadores tomaron muestras de tierra de las plantas de la vivienda así como del polvo de la bolsa de la aspiradora doméstica. Mediante una técnica de PCR se confirmó, en el polvo extraído de la aspiradora, la presencia de esporas de *C. botulinum* tipo B que resultaron similares a las aisladas del contenido intestinal del niño mediante las técnicas de electroforesis en campos pulsantes (PFGE) y amplificación con cebadores arbitrarios (RAPD). En ambas cepas se confirmó la producción de la neurotoxina B mediante el bioensayo en ratón. El resto de muestras tomadas en la vivienda resultaron negativas.

Los movimientos de tierra, como los producidos en zonas donde se construyen viviendas, carreteras, etc., contribuyen a la dispersión de las esporas que pueden fácilmente acceder a viviendas próximas. Las prácticas agrícolas y ganaderas que implican trabajos con tierra, o habitar en zonas ventosas, se consideran también factores de riesgo en cuanto a que facilitan una mayor exposición a las esporas. En otros países, la mayoría de los casos se presentan en ciudades y probablemente puedan estar relacionados con el polvo generado por obras de rehabilitación de inmuebles (Fenicia y Anniballi, 2009).

Caracterización del riesgo

El botulismo infantil se presenta en niños con edades comprendidas entre 1 y 52 semanas, que ingieren esporas de *C. botulinum*. De todos los posibles alimentos que se han tratado de vincular con el botulismo infantil (miel, jarabe de maíz, preparados deshidratados para lactantes, cereales e infusiones de especies vegetales), la miel es el que aparece con mayor frecuencia como responsable de los casos en los que se logra identificar la fuente. Por tanto, se considera que el riesgo de padecer la enfermedad podría calificarse en términos generales de bajo si en los niños menores de 12 meses se evita la ingestión de miel, así como de infusiones de especies vegetales.

Para disminuir aún más el riesgo, es conveniente minimizar la exposición de los lactantes al polvo en los domicilios en los que residen tanto en zonas rurales donde se llevan a cabo actividades agrícolas y

ganaderas, como en áreas urbanas con abundantes zonas en construcción que impliquen movimientos de tierra, o cuando se realicen obras de rehabilitación en los inmuebles.

Conclusiones del Comité Científico

1. La edad es el único factor de predisposición reconocido en el botulismo infantil. La mayor parte de los casos que se registran se producen en niños con edades comprendidas entre 1 y 52 semanas, siendo la edad media de presentación las 13 semanas. En el botulismo infantil, la mínima dosis infectiva de esporas de *C. botulinum* que podría desencadenar los síntomas se considera comprendida entre 10 y 100 esporas.
2. La mayor parte de las investigaciones realizadas indican que no es posible establecer una relación directa entre el tipo de alimentación del niño (tipo de lactancia, tiempo de lactancia materna, edad en la que se introducen nuevos alimentos, etc.) y la aparición de la enfermedad.
3. Conviene tener presente que prácticamente toda la información existente sobre el botulismo infantil procede únicamente del estudio de los pacientes ingresados, lo que puede sesgar los resultados obtenidos. De hecho, la incidencia percibida actualmente es más un reflejo de la capacidad del personal sanitario de detectar la enfermedad que de la frecuencia real de la misma.
4. La contaminación de los suelos y sedimentos acuáticos con esporas de *C. botulinum* determina su presencia potencial en alimentos no sometidos a tratamientos térmicos que garanticen su destrucción. De todos los posibles alimentos que se han tratado de vincular con el botulismo infantil, la miel es el que con mayor frecuencia aparece como responsable en los casos en los que se logra identificar la fuente. En menor medida, las infusiones de algunas especies vegetales han estado también implicadas. No obstante, en la mayoría de las ocasiones no es posible esclarecer el origen de las esporas responsables de la enfermedad. Asimismo, las esporas de *C. botulinum* presentes en el polvo podrían ser inhaladas directamente por el niño y pasar al tracto intestinal, o bien acceder al lactante por vía oral cuando el niño gatea o entra en contacto con objetos contaminados.
5. Dado que los métodos de procesado no pueden garantizar la ausencia de esporas de *C. botulinum* en la miel ni en algunas infusiones de especies vegetales, este Comité Científico recomienda evitar su consumo en niños menores de 12 meses. La inclusión de esta información en el etiquetado de los productos podría contribuir a disminuir la incidencia de la enfermedad. Asimismo, es importante evitar prácticas consistentes en untar miel en el pezón de la madre antes de cada toma, en los labios del bebé o en el chupete para reducir la ansiedad o el llanto.
6. Cuando se investiguen casos de botulismo infantil, sería conveniente que el análisis de muestras incluyera además de los alimentos sospechosos, muestras del polvo de la aspiradora doméstica, tierra de macetas, o del polvo del entorno del niño, sobre todo en domicilios ubicados en zonas rurales donde se llevan a cabo actividades agrícolas y ganaderas, así como en áreas urbanas con abundantes zonas en construcción que impliquen movimientos de tierra, o cuando se realicen obras de rehabilitación en los inmuebles.
7. Sería importante reforzar la educación sanitaria respecto a esta enfermedad y especialmente a través del personal sanitario que trabaja en atención primaria para que trasladaran a los padres y cuidadores de los lactantes las recomendaciones mencionadas.

Referencias

- Abe, Y., Negasawa, T., Monma, C. y Oka, A. (2008). Infantile botulism caused by *Clostridium butyricum* type E toxin. *Pediatric Neurology*, 38, pp: 55-57.
- Arnon, S.S., Midura, T.F., Damus, K., Thompson, B., Wood, R.M. y Chin, J. (1979). Honey and other environmental risk factors for infant botulism. *The Journal of Pediatrics*, 94, pp: 331-336.
- Arnon, S.S. (1984). Breast feeding and toxigenic intestinal infections: missing links in crib death? *Reviews of Infectious Diseases*, 6 (1), pp: 193-201.
- Arnon, S.S., Schechter, R., Inglesby, T.V., Henderson, D.A., Barlett, J., Ascher, M.S., Eitzen, E., Fine, A.D., Hauer, J., Layton, M., Lillibridge, S., Osterholm, M.T., O'Toole, T., Parker, G., Perl, T.M., Russell, P.K., Swerdlow, D.L. y Tonat, K. (2001). Botulinum toxin as biological weapon. *Journal of the American Medical Association*, 285, pp: 1059-1070.
- Arnon, S.S. (2004). Infant botulism. En libro: Text book of Pediatric Infectious Diseases, 5th edition. Feignen, R.D., Cherry, J.D. y Kaplan, S.L. Filadelfia, PA. Sanders, pp: 1758-1766.
- Aureli, O., Franciosa, G. y Fenicia, L. (2002). Infant botulism and honey in Europe: a commentary. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 21, pp: 866-868.
- Baker, R.D. (2002). Infant formula safety. *Pediatrics*, 110, pp: 883-835.
- Barash, J.R., Tang, T.W. y Arnon, S.S. (2005). First case of infant botulism caused by *Clostridium baratii* type F in California. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, pp: 4280-4282.
- Barash, J.R., Hsia, J.K. y Arnon, S.S. (2010). Presence of soil-dwelling clostridia in commercial powdered infant formulas. *Journal of Pediatrics*, 156, pp: 402-408.
- Barry, J., Ward, M., Cotter, S., MacDiarmada, J., Hannan, M., Sweeney, B., Grant, K.A. y McKeown, P. (2009). Botulism in injecting drugusers, Dublin, Ireland, November-December 2008. *Eurosurveillance*, 14, pp: 1-3.
- Bianco, M.I., Lúquez, C., de Jong, L.I.T. y Fernández, R.A. (2008). Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. *International Journal of Food Microbiology*, 121, pp: 357-360.
- Bianco, M.I., Lúquez, C., de Jong, L.I.T. y Fernández, R.A. (2009). Linden flower (*Tilia* spp.) as potential vehicle of *Clostridium botulinum* spores in the transmission of infant botulism. *Revista Argentina de Microbiología*, 41, pp: 232-236.
- Böhnel, H., Behrens, S., Loch, P., Lube, K. y Gessler, F. (2001). Is there a link between infant botulism and sudden infant death? Bacteriological results obtained in Central Germany. *European Journal of Pediatrics*, 160, pp: 623-628.
- Brett, M.M., McLaughlin, J., Harris, A., O'Brien, S., Black, N., Forsyth, R.J., Roberts, D. y Bolton, F.J. (2005). A case of infant botulism with a possible link to infant formula milk powder: evidence for the presence of more than one strain of *Clostridium botulinum* in clinical specimens and food. *Journal Medical Microbiology*, 54, pp: 769-776.
- Brook, I. (2007). Infant botulism. *Journal of Perinatology*, 27, pp: 175-180.
- Cárdenas, M.J., Tejera, I., Gil Navarro, M.V. y López-Laso, E. (2007). Botulismo infantil tratado con inmunoglobulina botulínica humana. *Farmacia Hospitalaria*, 31, pp: 379-387.
- Castell, J. y Nieto, A. (1999). Botulismo infantil. *Anales Españoles de Pediatría*, 51, pp: 572-573.
- CDC (2009). Centers for Disease Control and Prevention. 2009 CSTE Botulism Surveillance Summary. Disponible en: http://www.cdc.gov/national-surveillance/PDFs/Botulism_CSTE_2009.pdf [acceso: 10-3-2011].
- Chia, J.K., Clark, J.B., Ryan, C.A. y Pollack, M. (1986). Botulism in an adult associated with food-borne intestinal infection with *Clostridium botulinum*. *New England Journal of Medicine*, 315, pp: 239-241.
- Dahlenborg, M., Borch, E. y Rådström, P. (2001). Development of a combined selection and enrichment PCR procedures for *Clostridium botulinum* types B, E, and F and its use to determine prevalence in fecal samples from slaughtered pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, pp: 4781-4788.
- EFSA (2005). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to *Clostridium* spp. in foodstuffs. *The EFSA Journal*, 199, pp: 1-65.

- FAO/OMS (2006). Food and Agriculture Organization/World Health Organization meeting. *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula. ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jemra/e_sakazakii_salmonella.pdf.
- Fathalla, W.M., Mohammed, K.A. y Ahmed, E. (2008). Infant botulism type Ba: first culture-confirmed case in the United Arab Emirates. *Pediatric Neurology*, 39, pp: 204-206.
- FDA (2006). Food and Drug Administration. 21CFR Parts 106 and 107. Proposed rule. Disponible en: <http://edocket.access.gpo.gov/2006/pdf/E6-12268.pdf> [acceso: 20-6-11].
- Fenicia, L., Ferrini, A.M., Aureli, P. y Pocecco, M. (1993). A case of infant botulism associated with honey feeding in Italy. *European Journal of Epidemiology*, 9, pp: 671-673.
- Fenicia, L., Da Dalt, L., Anniballi, F., Franciosa, G., Zanconato, S y Aureli, P. (2002). A case of infant botulism due to neurotoxicogenic *Clostridium butyricum* type E associated with *Clostridium difficile* colitis. *European Journal of Clinical Microbiological Infectious Disease*, 21, pp: 736-738.
- Fenicia, L. y Anniballi, F. (2009). Infant botulism. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 45, pp: 134-146.
- Fox, C.K., Keet, C.A. y Strober, J.B. (2005). Recent advances in infant botulism. *Pediatric Neurology*, 32, pp: 149-154.
- Freedman, M., Armstrong, R.M., Killian, J.M. y Boland, D. (1986). Botulism in a patient with jejunoileal bypass. *Annals of Neurology*, 20, pp: 641-643.
- Gimenez, J.A., Gimenez, M.A. y Dasgupta, B.R. (1992). Characterization of the neurotoxin isolated from a *Clostridium baratii* strain implicated in infant botulism. *Infection and Immunity*, 60, pp: 518-522.
- Griffin, P.M., Hatheway, C.L., Rosenbaum, R.B. y Sokolow, R. (1997). Endogenous antibody production to botulinum toxin in an adult with intestinal colonization botulism and underlying Crohn's disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 175, pp: 633-637.
- Hatheway, C.L. (1990). Toxigenic Clostridia. *Clinical Microbiology Reviews*, 3, pp: 66-98.
- Hauschild, A.H.W., Hilsheimer, R., Weiss, K.F. y Burke, R.B. (1988). *Clostridium botulinum* in honey, syrups and dry infant cereals. *Journal of Food Protection*, 51, pp: 892-894.
- Huss, H.H. (1980). Distribution of *Clostridium botulinum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, pp: 764-769.
- Johnson, E.A., Tepp, W.H., Bradshaw, M., Gilbert, R.J., Cook, P.E. y McIntosh, D.G. (2005). Characterization of *Clostridium botulinum* strains associated with an infant botulism case in the United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, pp: 2602-2607.
- Kautter, D.A., Lilly, T., Solomon, H.H. y Lynt, R. (1982). *Clostridium botulinum* spores in infant foods: a survey. *Journal of Food Protection*, 45, pp: 1028-1029.
- Koepke, R., Sobel, J. y Arnon, S. (2008). Global occurrence of infant botulism, 1976-2006. *Pediatrics*, 122, pp: 73-81.
- Küplülü, Ö., Göncüoğlu, M., Özdemir, H. y Koluman, A. (2006). Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey. *Food Control*, 3, pp: 222-224.
- Kuusi, M., Hasseltvedt, V. y Aavitsaland, P. (1999). Botulism in Norway. *Eurosurveillance*, 4, pp: 44.
- Lindström, M., Myllykoski, J., Sivela, S. y Korkeala, H. (2010). *Clostridium botulinum* in cattle and dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, pp: 281-304.
- Lizarraga, M.A., López, Y., Orive, P., Latorre, J., Hermana Tezanos, T. y Rivera, A. (1996). Botulismo infantil: A propósito de un caso. *Anales Españoles de Pediatría*, 44, pp: 399-401.
- López Laso, E., Pérez Navero, J.L., Rumbao Aguirre, J., Mateos González, M.E., Méndez García, M., Cárdenas Aranzana, M.J. e Ibarra de la Rosa, I. (2008). Botulismo del lactante. *Anales de Pediatría*, 68, pp: 499-502.
- Lúquez, C., Bianco, M.I., de Jong, L.I., Sagua, M.D., Arenas, G.N., Ciccarelli, A.S. y Fernández, R.A. (2005). Distribution of botulinum toxin-producing clostridia in soils of Argentina. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, pp: 4137-4139.
- Lúquez, C., Bianco, M.I., Sagua, M.D., Barzola, C.P., de Jong, L.I.T., Degarbo, S.M. y Fernández, R.A. (2007). Relationship between the incidence of infant botulism and the presence of botulinum-toxin producing clostridia in the soil of Argentina from 1982-2005. *Journal of Pediatric Neurology*, 5, pp: 279-286.
- Lúquez, C., Dykes, J.K., Yu, P.A., Raphael, B.H. y Maslanka, S.E. (2010). First report worldwide of an infant botulism case due to *Clostridium botulinum* type E. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, pp: 326-328.

- McCroskey, L.M., Hatheway, C.L., Woodruff, B.A., Greenberg, J.A. y Jurgenson, P. (1991). Type F botulism due to neurotoxicogenic *Clostridium baratii* from an unknown source in an adult. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, pp: 2618-2620.
- Midura, T.F. y Arnon, S.S. (1976). Identification of *Clostridium botulinum* and its toxins in faeces. *The Lancet*, 2, pp: 934-936.
- Midura, T.F. (1996). Update: infant botulism. *Clinical Microbiological Reviews*, 9, pp: 119-125.
- Moberg, LL.J. y Sugiyama, H. (1980). The rat as an animal model for infant botulism. *Infection and Immunity*, 29, pp: 819-821.
- Nevas, M., Hielm, S., Lindström, M., Horn, H., Koivulehto, K. y Korkeala, H. (2002). High prevalence of *Clostridium botulinum* types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. *International Journal of Food Microbiology*, 72, pp: 45-52.
- Nevas, M., Lindström, M., Hautamaki, K., Puoskari, S. y Korkeala, H. (2005). Prevalence and diversity of *Clostridium botulinum* types A, B and F in honey produced in the Nordic countries. *International Journal of Food Microbiology*, 105, pp: 145-151.
- Nevas, M., Lindström, M., Hörman, A., Keto-Timonen, R. y Korkeala, H. (2006). Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. *Environmental Microbiology*, 8, pp: 1085-1094.
- Pellizzari, R., Rossetto, O., Schiavo, G. y Montecucco, C. (1999). Tetanus and botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic uses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 354, pp: 259-268.
- Pickett, J., Berg, B., Chaplin, E. y Brunstetter-Shafer, M. (1976). Syndrome of *Clostridium botulinum* in infancy: clinical and electrophysiologic study. *New England Journal of Medicine*, 295, pp: 770-772.
- Satorres, S.E., Alcaráz, L.E., Fernández, R. y Puig de Centorbi, O.N. (1999). Isolation of *Clostridium botulinum* in medicinal plants. *Anaerobe*, 5, pp: 173-175.
- SCVMPH (2002). Scientific Committee for Veterinary Measures relating to Public Health. Opinion of the Scientific Committee on measures relating to public health on honey and microbiological hazards. Adopted on 19-20 June 2002.
- Smith, L.A. (2009). Botulism and vaccines for its prevention. *Vaccine*, 27, pp: D33-D39.
- Sobel, J. (2005). Botulism. *Clinical Infectious Diseases*, 41, pp: 1167-1173.
- Sugiyama, H. y Mills, D.C. (1978). Intraintestinal toxin in infant mice challenged intragastrically with *Clostridium botulinum* spores. *Infection and Immunity*, 21, pp: 59-63.
- Tanzi, M.G. y Gabay, M.P. (2002). Association between honey consumption and infant botulism. *Pharmacotherapy*, 22, pp: 1479-1483.
- UE (2007). Reglamento (CE) N° 1441/2007 de la Comisión de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *DO L 322* de 7 de diciembre de 2007, pp: 12-29.
- Van der Vorst, M.M.J., Jamal, W., Rotimi, V.O. y Moosa, A. (2006). Infant botulism due to consumption of contaminated commercially prepared honey. *Medical Principles and Practice*, 15, pp: 456-458.