



ANO 2002

GOVERNADOR DO ESTADO DE SÃO PAULO
GERALDO ALCKIMIN

SECRETÁRIO DE ESTADO DA SAÚDE
JOSÉ DA SILVA GUEDES

COORDENADOR DOS INSTITUTOS DE PESQUISA - CIP
JOSÉ DA ROCHA CARVALHEIRO

DIRETOR TÉCNICO DO CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA "PROF. ALEXANDRE VRANJAC" -
SES/SP
JOSÉ CÁSSIO DE MORAES

DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR

Equipe técnica:

Maria Bernadete de Paula Eduardo - CVE/SES-SP - Coordenação e Redação

Maria Lúcia Rocha de Mello – CVE/SES-SP - Revisão geral

Elizabeth Marie Katsuya – CVE/SES-SP

Joceley Casemiro Campos - CVE/SES-SP

COLABORADORES

Célia Elisa Guarnieri - IIER/SES-SP

Dilma Gelli - IAL/SES-SP

Elza S. Badolato - IAL/SES-SP

Neus Pascuet - IAL/SES-SP

Myoko Jakabi - IAL/SES-SP

Sonia Gil Costa - CVS/SES-SP

SUMÁRIO

	Pg.
Apresentação	4
1. Introdução	5
2. Descrição da doença e modo de transmissão	5
3. Agente etiológico e toxina	8
3.1. O <i>Clostridium botulinum</i>	8
3.2. A toxina botulínica	9
4. Período de incubação	10
5. Diagnóstico da doença humana e conduta médica	10
5.1. Anamnese	10
5.2. Exames laboratoriais e complementares no paciente	11
5.3. Exames laboratoriais nos alimentos suspeitos	12
5.4. Diagnóstico diferencial	12
5.5. Os cuidados com familiares e comunicantes	13
6. Tratamento	13
6.1. Tratamento específico	14
6.2. Tratamento geral	15
7. Complicações	15
8. Frequência da doença	16
9. Conduta epidemiológica	17
10. Conduta sanitária	18
11. Conduta laboratorial	19
11.1. Biossegurança	19
11.2. Coleta de Material	20
11.3. Transporte do material	21
11.4. Exame do material para detecção da toxina botulínica	22
11.5. Cultura e isolamento do <i>C. botulinum</i>	25
12. Alimentos associados	28
13. Conduta educativa	29
14. O serviço de emergência	30
15. Bibliografia consultada	31
16. Anexos – formulários, instruções gerais e fluxos, e tabelas	32

Apresentação

Este manual tem o objetivo de sistematizar o conhecimento que se tem sobre a doença do Botulismo e fornecer orientações técnicas para médicos clínicos, epidemiologistas, laboratoristas e outros profissionais das áreas de vigilância à saúde. Neste documento são apresentados os conceitos básicos da doença, condutas e ações que devem ser tomadas para a assistência aos casos e para a realização das investigações laboratorial, epidemiológica e sanitária.

Trata-se, além disso, de documento básico do Centro de Referência do Botulismo do Estado de São Paulo, com sistematização do fluxo de informações e operação deste órgão que tem o objetivo de melhorar a qualidade do diagnóstico clínico e laboratorial no atendimento aos casos de Botulismo, contribuir para a melhoria dos procedimentos nas investigações epidemiológicas, ser um centro de pesquisa e estudo da doença, fomentar a educação sanitária, tanto do consumidor em geral quanto dos fabricantes de alimentos, sobre os perigos da doença, cuidados no processamento dos alimentos de risco e formas de prevenção.

Para a confecção deste manual foi feita uma extensa revisão da literatura existente, por um grupo de trabalho composto por representantes do Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE, do Centro de Vigilância Sanitária - CVS, do Instituto Adolfo Lutz - IAL e do Instituto de Infectologia Emílio Ribas -IIER.

Nossos agradecimentos especiais ao Dr. Eric Mintz e Dr. Jeremy Sobel, do Centro de Controle e Prevenção de Doenças - CDC/Atlanta/USA, que nos enviaram material técnico de referência para a elaboração deste documento, bem como, participaram das discussões dos casos ocorridos no Estado de São Paulo, nos anos de 1998, 1999, 2000 e 2001, com sugestões e orientações, acompanhando o processo de organização deste programa de controle do Botulismo.

Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac"

1. Introdução

O botulismo é uma doença resultante da ação de uma potente toxina produzida por uma bactéria denominada *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*). De ocorrência súbita, caracteriza-se por manifestações neurológicas seletivas, de evolução dramática e elevada letalidade. É adquirida mais comumente, em nosso meio, pela ingestão de alimentos contaminados, tais como embutidos e conservas caseiras em latas ou vidros.

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

O termo botulismo vem da palavra latina "botulus" que significa salsicha, responsável pelos surtos epidêmicos devido a salsichas de origem caseira que propiciaram a primeira descrição e reconhecimento da doença na Europa, mais exatamente na Alemanha do século XVIII. Entretanto, as conservas vegetais, mais que os produtos animais, têm sido os veículos mais comuns da doença.

O botulismo é doença grave que deve ser considerada uma emergência médica e de saúde pública e a suspeita de um caso deve desencadear uma comunicação rápida e efetiva entre clínicos e autoridades de saúde pública. Para minimizar o risco de morte e seqüelas é essencial que o diagnóstico seja feito rapidamente e que o tratamento seja instituído precocemente. A pronta investigação epidemiológica é básica para prevenir outros casos da doença em decorrência da ingestão de uma fonte alimentar comum e que pode estar ainda disponível para consumo.

Por esse motivo foi criado o Centro de Referência do Botulismo no estado de São Paulo, sediado na Central de Vigilância Epidemiológica/Disque - CVE (atendimento 24 horas), com o apoio técnico da Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar, do Centro de Vigilância Epidemiológica, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, para oferecer orientações técnicas rápidas aos médicos no atendimento aos casos, aos serviços de diagnóstico laboratorial, às vigilâncias epidemiológicas e sanitárias, bem como disponibilizar o soro antibotulínico para o Estado de São Paulo e outros Estados do Brasil.

2. Descrição da doença e modo de transmissão

O quadro clínico do botulismo seja qual for sua forma de transmissão, é caracterizado por sinais e sintomas neurológicos resultantes do bloqueio das junções colinérgicas autonômicas e motoras voluntárias, induzido pela ação da toxina.

O botulismo pode iniciar-se com vômitos e diarreia, mais comumente com constipação, debilidade, vertigem, sobrevindo logo em seguida, alterações da visão, tais como visão turva, dupla, e fotofobia; secura da boca; flacidez de pálpebras, modificações da voz como rouquidão, voz cochichada, afonia, ou fonação lenta; distúrbios da deglutição, flacidez muscular generalizada, acentuando-se na face, pescoço (cabeça pendente) e membros; dificuldade de movimentos, agitação psicomotora e outras alterações relacionadas com os nervos cranianos.

Na verdade os sintomas de dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia que precedem ou acompanham os sinais e sintomas neurológicos do botulismo podem ser devidos à ingestão concomitante de outra bactéria ou toxina contida no mesmo alimento.

Quando a doença é leve, os sintomas neurológicos gradualmente se resolvem e o paciente pode até nem procurar assistência médica.

Entretanto, nos casos severos, os sintomas iniciais evoluem até a fraqueza muscular periférica, envolvendo os músculos respiratórios, podendo até provocar a falência respiratória e morte, se um suporte adequado não for providenciado.

A recuperação é devida à regeneração das conexões neuromusculares. O suporte ventilatório é necessário, por um período de 2 a 8 semanas, embora alguns pacientes requeiram tal suporte por mais de 7 meses, até o retorno à normalidade.

As mortes podem ocorrer em 5 a 10% dos casos de botulismo alimentar e são devidas à dificuldade de se reconhecer a doença ou então, a complicações hospitalares como, infecção pulmonar secundária ou sistêmica, ou da manipulação ventilatória mecânica de longa duração.

São descritos os seguintes modos de transmissão e formas de botulismo:

- O **botulismo por ingestão de alimentos** com a toxina pré-formada. É a forma mais comum, com os sinais e sintomas neurológicos típicos, descritos anteriormente. É responsável por surtos esporádicos, decorrentes do consumo de alimentos inadequadamente processados contendo a toxina e consumidos sem cocção prévia.
- O **botulismo por ferimento** é uma doença rara, com patogenia e quadro clínico idênticos aos da intoxicação alimentar com a multiplicação do *C. botulinum* e produção da toxina *in vivo*, em um ferimento contaminado. Esses são locais ideais para a produção da toxina.

Os achados neurológicos são os mesmos do botulismo alimentar; entretanto, sintomas gastrointestinais não ocorrem. A síndrome foi descrita, pela primeira vez, nos EUA, em 1943, e, até a década de 80, os casos registrados eram de pacientes com fraturas, esmagamento de membros ou ferimentos profundos, em áreas pouco vascularizadas. Desde 1980, nos EUA, os casos registrados de botulismo por ferimento

foram em pessoas usuárias de drogas ilícitas, associado ao local de punctura da agulha ou a lesões nasais ou sinusais devido à aspiração crônica de cocaína.

- O **botulismo infantil**, também conhecido como botulismo de lactentes (associado à Síndrome de Morte Súbita do Recém-Nascido), em crianças muito jovens devido à absorção de toxina produzida no intestino da criança. A ausência da microbiota de proteção permite a germinação de esporos de *C. botulinum* e a produção de toxina na luz intestinal.

Em virtude de crianças pequenas não conseguirem se queixar ou manifestar os efeitos precoces do botulismo, a disfunção neurológica parece ser insidiosa. As principais manifestações são dificuldade de alimentação e diminuição da sucção, incapacidade para chorar, fraqueza muscular do pescoço e periférica, até evoluir para falência respiratória. A constipação tem sido um sintoma comum em crianças com botulismo e, em alguns casos, precede o início dos sinais e sintomas neurológicos. Outros sinais como perda da expressão facial, paralisia muscular extra-ocular, dilatação das pupilas e depressão dos reflexos profundos, têm sido registrados mais freqüentemente com o tipo B do que com o tipo A de botulismo infantil. O tratamento com agentes antimicrobianos aminoglicosídeos pode agravar a fraqueza muscular no botulismo infantil e tem sido associado com o aumento da necessidade de suporte ventilatório. Pouco mais de 2% dos casos registrados de botulismo infantil resultam em morte.

- O **botulismo de criança ou adulto de colonização intestinal** é representado por aqueles casos nos quais nenhum veículo alimentar pode ser identificado, não há nenhuma evidência de botulismo por fermento e ocorre em crianças maiores de 1 ano de idade e adultos.

Casos isolados de botulismo, em que investigações extensas não encontram um alimento específico como a causa da doença, têm sido registrados nos EUA, desde 1978, como de origem indeterminada. Investigações cuidadosas têm demonstrado que alguns desses casos foram devido à colonização do trato gastrointestinal por *C. botulinum* ou *C. baratii* com produção de toxina *in vivo*, com patogênese análoga à do botulismo infantil. A evidência para o diagnóstico de botulismo de colonização intestinal é fornecida pela demonstração de excreção prolongada de toxina e do *C. botulinum* nas fezes, bem como, pela demonstração da presença de seus esporos. Sabe-se que em muitos casos de botulismo com forte suspeita de colonização intestinal, os pacientes tinham história de cirurgia gastrointestinal prévia ou de doença inflamatória do intestino, o que poderia ter predisposto à colonização entérica. Nenhum outro fator de risco específico foi identificado.

Há ainda a descrição de quadros de intoxicação por via conjuntival, através de aerossóis ou líquidos, por acidentes em laboratório, em que a toxina alcança imediatamente a corrente sanguínea, desenvolvendo o quadro típico. Também por via respiratória, através da inalação da toxina, que acaba por atingir a corrente sanguínea, e alcançar o sistema nervoso e demais órgãos, exercendo a sua ação patogênica com o mesmo quadro descrito.

3. Agente etiológico e toxina

3.1. O *Clostridium botulinum*

O *Clostridium botulinum* é um bacilo Gram positivo, produtor de esporos, encontrado com frequência no solo, em legumes, verduras, frutas, fezes humanas e animais. São bastonetes retos ou levemente curvos, móveis, anaeróbicos, com 0,5 a 2,0 μm de largura, por 1,6 a 22,0 μm de comprimento, com esporos ovais e sub-terminais. Para produzirem a toxina necessitam de pH básico ou próximo do neutro.

São descritos 7 tipos de *Clostridium botulinum* (de A à G) que se distinguem pelas características antigênicas da neurotoxina que produzem, embora tenham ação farmacológica similar. Os tipos A, B, E, e, raramente o F, causam doença em humanos. Nestes, o tipo E está associado ao consumo de pescados e frutos do mar, em conservas ou defumados. Os tipos C e D são causa da doença em pássaros e em mamíferos. Alguns casos do tipo F foram atribuídos ao *C. baratii* ou *C. butyricum*. O tipo G, identificado em 1970, não foi ainda confirmado como causa de doença em humanos ou animais. Características epidemiológicas importantes e algumas características clínicas distinguem os tipos de botulismo que causam a doença humana.

O envenenamento alimentar, em humanos, está diretamente relacionado à produção de esporos resistentes ao calor, que sobrevivem a métodos de preservação que normalmente matariam organismos não esporulados. A resistência dos esporos ao calor varia de um tipo para outro e mesmo de cepa para cepa, dentro de cada tipo, embora algumas cepas não sobrevivam a 80 ° C, esporos de algumas cepas requerem temperaturas acima do ponto de fervura para a sua destruição. A resistência térmica do esporo é maior em pH próximo ao neutro e em baixo conteúdo de sal do meio em que os esporos estão suspensos.

Em muitos casos é impraticável ou mesmo indesejável tratar o produto de maneira a eliminar todos os esporos do *C. botulinum*. Dessa forma, a maioria dos métodos de controle visa a inibição do crescimento e da produção da toxina. Os principais fatores limitantes do crescimento do *C. botulinum* nos alimentos são: 1) temperatura; 2) pH; 3) atividade de água (a_w); 4) potencial de óxido redução; 5) conservantes de alimentos, 6) competição de microrganismos. Todos esses fatores estão interrelacionados e a mudança de qualquer um deles influencia os demais. Isto quer dizer que a interação de fatores pode ter um efeito negativo ou positivo na inibição do *C. botulinum*. Em geral as cepas proteolíticas se desenvolvem otimamente a 40 ° C, com limite inferior de 10 ° C

e superior de 50 ° C. Cepas não proteolíticas, incluindo o tipo E, podem continuar a se desenvolver mesmo a 3,3 ° C. O pH mínimo para as cepas proteolíticas é de 4,6 a 4,8; para as cepas não proteolíticas o limite de pH é 5,0. Entretanto, algumas proteínas alimentares como as da soja e da carne podem ter um efeito protetor sobre o *C. botulinum* em pH menor ou igual a 4,6. Além disso, certas preparações alimentares podem conter zonas de baixa acidez nas quais o pH pode ser alto o suficiente para permitir a produção da toxina. A baixa atividade de água (a_w) inibe o desenvolvimento do *C. botulinum*. O mínimo de 0,94 de a_w é necessário para o desenvolvimento e a produção da toxina. A atividade de água pode ser limitada pela desidratação como também pela adição de cloreto de sódio. O mínimo de a_w de 0,94 corresponde a uma solução de NaCl de aproximadamente 10%. O alto potencial de oxidação-redução (Eh) é usualmente devido à presença de O_2 . O ótimo Eh para a multiplicação do *C. botulinum* é baixo (-350 mV) mas a produção da toxina tem sido observada em Eh de + 250 mV. Por causa dessa faixa, o desenvolvimento do *C. botulinum* pode ocorrer mesmo em produtos que tenham um nível mais alto de oxigênio. Em adição, a embalagem a vácuo, usada para abaixar o Eh com a finalidade de preservar os alimentos, aumenta as condições anaeróbicas, podendo favorecer a produção da toxina. Nitritos, ácido sórbico, parabenos, antioxidantes fenólicos, polifosfatos e ascorbatos, usados na preservação de alimentos, inibem o desenvolvimento do *C. botulinum* e limitam a produção de toxina. Bactérias como *Lactobacillus*, *Pediococcus* e o *Lactococcus* têm se mostrado capazes de produzir ácido lático e, assim, inibir o *C. botulinum*.

3.2. A toxina botulínica

É uma exotoxina potente (mais que a tetânica), de ação neurotrópica (ação nas terminações nervosas), e a única que tem a característica de ser letal por ingestão, comportando-se como um verdadeiro veneno biológico. É letal na dose de 1/100 a 1/120 ng. Ao contrário do esporo, a toxina é termolábil, sendo destruída à temperatura de 65 a 80° C por 30 minutos ou a 100 ° C por 5 minutos.

A estrutura e o mecanismo de ação de cada uma das 7 neurotoxinas são similares. Cada cepa toxigênica produz um polipeptídeo de 150kDa que é ativado por proteases que se segue à lise bacteriana. A toxina ativa consiste de uma cadeia pesada (H, 100 kDa) e uma cadeia leve (L, 50 kDa). A cadeia pesada consiste de um sítio amino-terminal de 50 kDa (H_N) e um carboxi-terminal de 50 kDa (H_C). A intoxicação das células neuronais ocorre em 4 etapas: 1) ligação do H_C aos receptores da membrana neuronal polisialogangliosídeo (e provavelmente outra proteína); 2) interiorização da toxina ativa em compartimentos do endosoma; 3) translocação da membrana facilitada pelo H_N ; e 4) quebra enzimática das proteínas alvo pela cadeia L impedindo a liberação do neurotransmissor acetilcolina dos terminais sinápticos dos neurônios motores no músculo. A cadeia L de cada tipo de neurotoxina é uma zinco-endopeptidase que mostrou quebrar o sítio

específico da toxina pelo menos em uma das 3 proteínas (VAMP, SNAP-25 ou syntaxin). Embora suas funções específicas sejam desconhecidas, estas 3 proteínas são membros de um grupo de proteínas (proteínas SNARE), essenciais para alojar e fundir as vesículas sinápticas com a membrana pré-sináptica. O exato mecanismo da liberação do neurotransmissor não é conhecido, mas na maioria das vezes, provavelmente, envolva uma fusão do poro ou uma completa fusão da membrana. A quebra de uma das proteínas SNARE pela neurotoxina botulínica inibe a liberação da acetilcolina de um terminal sináptico.

4. Período de incubação

Os sintomas aparecem após 2 horas, até cerca de 5 dias, com período médio de 12 a 36 horas, dependendo da quantidade de toxina.

O período de incubação para o botulismo alimentar, em geral é, de 6 horas a 10 dias (mais longo). Contudo, o tempo entre a ingestão da toxina e o início dos sintomas pode variar entre 18 a 36 horas. Quanto mais toxina ingerida, mais curto o tempo entre a ingestão e aparecimento da doença. Quanto menor o tempo de aparecimento dos sintomas, maior a gravidade e a letalidade.

5. Diagnóstico da doença humana e conduta médica

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

Provavelmente, muitos casos de botulismo não chegam a ser diagnosticados. Nos quadros muito característicos e, principalmente, na ocorrência de surtos com grande número de casos, não é difícil fazer o diagnóstico. Em alguns surtos pode-se observar falhas de diagnóstico nos primeiros casos, que são associados somente retrospectivamente, quando se faz a subsequente ligação a outros semelhantes, e após o alerta da saúde pública para o referido surto.

5.1. Anamnese

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

Em adultos, o botulismo deve ser sempre suspeitado em face de uma história de manifestações gastrointestinais de início agudo, com queixa de boca seca, dificuldades visuais como visão dupla ou turva, e outras disfunções dos nervos cranianos como disartria e disfagia. Em crianças, deve ser suspeitado na presença de dificuldade de alimentação, diminuição da sucção, dificuldade de chorar, fraqueza muscular de pescoço e músculos periféricos e de angústia respiratória. A demonstração de comprometimento de nervos cranianos bilateralmente e a progressão neurológica dos sinais e sintomas, evoluindo com fraqueza muscular periférica descendente e comprometimento ventilatório, aumenta a suspeita.

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

5.2. Exames laboratoriais e complementares no paciente

Deve ser feita a investigação da toxina no sangue do paciente, cuja coleta deve ser o mais precoce possível e antes da administração do soro (antitoxina) específico. A coleta tardia do sangue pode impedir a sua detecção, pois esta vai sendo rapidamente absorvida pelos tecidos. Em geral, após 8 dias do início da doença, a toxina não é mais encontrada.

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

Estudos laboratoriais de rotina não são úteis na confirmação da suspeita clínica de botulismo e serão normais se nenhuma complicação secundária ocorrer. O exame de líquido cérebro espinhal, em geral, é normal, mas pode ajudar a diferenciar o botulismo de Síndrome de Guillain-Barré, embora uma leve elevação do nível de proteína no liquor possa ser ocasionalmente encontrada no botulismo e estar inicialmente normal na Síndrome de Guillain-Barré. Um teste de anticolinesterase normal (teste de tensilon) pode ajudar a diferenciar botulismo de miastenia gravis.

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

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

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

A administração de antitoxina é a única terapia específica para o botulismo e evidências sugerem que é efetiva somente quando dada precocemente no curso da disfunção neurológica. Dessa forma, o diagnóstico não pode aguardar os resultados dos estudos que podem demorar e serem confirmatórios em apenas alguns casos. O diagnóstico deveria ser feito com base na história do caso e nos achados clínicos.

5.3. Exames laboratoriais nos alimentos suspeitos

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

5.4. Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial deve ser feito com as demais intoxicações e infecções de origem alimentar a seguir:

a. **Bacterianas** - salmonelas, enterotoxina estafilocócica, enterococos fecais, que evoluem sem sintomatologia neurológica e com manifestações gastroentéricas muito agudas. Exceção para a bactéria *Campylobacter* que pode ser responsabilizada por quadros de paralisia flácida simulando a Síndrome de Guillain-Barré. A coprocultura e hemocultura (quando indicada), são de grande valor, nas doenças de origem bacteriana.

b. **Virais** - enterovírus e, particularmente, o vírus da poliomielite causam síndromes infecciosas, com paralisias periféricas, sintomatologia e sinais meníngeos e alterações de líquido. Testes virológicos são de valor.

c. **De origem vegetal** - devem ser buscadas as intoxicações denominadas micetismo nervoso, micetismo coleriforme, favismo, síndrome de Kwok ou do "restaurante chinês".

d. **De origem animal** – toxinas de moluscos e peixes tropicais, ciguatera poisoning (barracuda), triquinelose.

e. **De origem química** - monóxido de carbono, carbonato de bário, pesticidas clorados e organofosforados e outros inseticidas, raticidas, reações medicamentosas (por antibióticos tais como a neomicina, estreptomicina, kanamicina ou gentamicina) etc..

f. **Outros quadros neurológicos e/ou psiquiátricos** - Síndrome de Guillain-Barré, meningoencefalites, polineurites, acidente vascular cerebral, miastenia gravis, traumatismo craniano, neurastenia, araneísmo, hipopotassemia, intoxicação por atropina ou beladona, intoxicação por álcool/embriaguez, envenenamento por curare.

No botulismo infantil, as hipóteses diagnósticas a seguir devem ser consideradas: septicemia, meningite, distúrbio hidroeletrólítico, encefalopatia metabólica, Síndrome de Reye, Doença de Werdnig-Hoffman, miopatia congênita e doença de Leigh.

5.5. Os cuidados com os familiares e comunicantes

São extremamente importantes para prevenir ou detectar precocemente o surgimento de mais casos de botulismo. Deve-se identificar indivíduos com ingestão comum de alimentos e orientá-los quanto ao aparecimento de sinais e sintomas e a procurar urgentemente os cuidados médicos ao primeiro sinal; como ação preventiva, o hospital em que se encontra internado o paciente, deve examiná-los à procura de manifestações neurológicas, aproveitando os horários de visita ou agendando consultas. Quando oportuno, recomenda-se provocar o vômito, lavagem gástrica ou indução da evacuação intestinal aos que partilharam da mesma comida, para eliminação rápida do alimento.

O uso da antitoxina profilática em pessoas que ingeriram o mesmo alimento não é rotineiramente recomendado, devido ao risco de reações de hipersensibilidade. Essa medida deve ser muito criteriosa.

6. Tratamento

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

1) administração da antitoxina botulínica, na tentativa de prevenir a progressão neurológica da doença, nos casos moderados e de progressão lenta, ou para encurtar a duração da falência das funções ou dificuldade respiratória, nos casos severos e de progressão rápida;

2) monitorização cuidadosa da capacidade vital respiratória e suporte respiratório efetivo, para aqueles com insuficiência ventilatória (o monitoramento da capacidade vital respiratória deve ser iniciado tão logo o diagnóstico é estabelecido);

3) cuidado intensivo e metuculoso apropriado para uma doença paralítica de longa duração.

6.1. Tratamento específico

1) a **soroterapia** específica é feita com soro (heterólogo) antitotulínico, específico para o tipo imunológico ou polivalente (anti-A, B, E, e F). Essa terapia será mais efetiva se instituída precocemente. A antitoxina eqüina atua contra a toxina circulante e neutraliza somente moléculas ainda não fixadas às terminações nervosas. Por este motivo, nos casos tardios a antitoxina poderá não ser mais eficaz. Teste dermatológico de sensibilidade deve ser realizado antes da administração do soro antitotulínico. A administração de uma ampola de 10 ml de antitoxina botulínica trivalente, por via intravenosa, resulta em níveis séricos de anticorpos do tipo A, B, e E suficientes para a neutralização da toxina circulante nos pacientes com botulismo. Depois de realizado o teste de sensibilidade, a administração de apenas 1 frasco de 10 ml de antitoxina deve ser feita por via intravenosa (o CDC não recomenda o uso da antitoxina intramuscular), e não necessita ser repetida, ao contrário do que recomendam as bulas dos produtos disponíveis no mercado, uma vez que a circulação de antitoxina tem uma meia vida de 5 a 8 dias. Entretanto, é necessário verificar a procedência do soro e a quantidade dos anticorpos. Este tratamento não é sem risco, sendo que estudos mostram que aproximadamente 9% das pessoas tratadas experimentam reações de hipersensibilidade. Daí a importância de que seja feito o diagnóstico diferencial com outras síndromes neurológicas e que os médicos reconheçam o botulismo precocemente em seu curso.

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

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

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

2) a **antitoxina botulínica humana** denominada "imunoglobulina botulínica" está em fase de desenvolvimento e ensaios clínicos sobre sua eficácia, estão ainda em andamento na Califórnia/EUA.

3) a **anatoxinoterapia** - alguns autores preconizam o uso de anatoxina (vacina) botulínica simultaneamente à antitoxina. Esta medida, no entanto, não faz parte das recomendações padronizadas internacionalmente.

6.2. Tratamento geral

1) **Medidas para eliminar a toxina do aparelho digestivo:** quando oportuno, lavagem do estômago e clisteres devem ser feitos. Observa-se que os doentes que tiveram o quadro inicial com vômitos e diarreia têm melhor prognóstico.

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

3) **Ação no mecanismo fisiopatogênico da doença** - medicamentos usados para neutralizar o bloqueio muscular têm resultados controversos. A administração de indutores da liberação de serotonina tem efeito antitóxico no botulismo, sendo os mais usados a reserpina e a clorpromazina.

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

7. Complicações

O botulismo é uma doença com alta letalidade e que exige a internação em unidades de terapia intensiva, freqüentemente, por tempo prolongado. A internação prolongada, a baixa imunidade do paciente, decorrente da doença e dos tratamentos realizados, e os procedimentos invasivos deixam-no mais suscetível às infecções hospitalares, além das possíveis complicações decorrentes de paradas cardiorrespiratórias que possam ocorrer. Após a alta hospitalar o doente

necessitará de acompanhamento médico e fisioterápico para garantir ou reaprender funções básicas como respirar, andar, falar, escrever, etc..

8. Freqüência da doença

A incidência da doença é baixa, porém, com alta letalidade se não tratada adequada e precocemente. Em todos os países do mundo, são conhecidos casos esporádicos ou em grupos de pessoas, relacionados à ingestão de alimento preparado ou conservado em condições que permitam a produção da toxina pelo bacilo. Alguns casos de botulismo podem estar subnotificados devido às dificuldades diagnósticas.

No Brasil, não há dados sistematizados sobre a incidência, formas de botulismo, tipos de toxinas, mortalidade e distribuição geográfica, até porque as doenças transmitidas por alimentos são uma preocupação muito recente. Os sistemas de vigilância epidemiológica registravam apenas as doenças de veiculação hídrica como febre tifóide, cólera, poliomielite, hepatite A, ou surtos genéricos de doenças diarréicas, sendo que um levantamento da ocorrência do botulismo teria que ser feito recorrendo-se à literatura e descrição de casos.

No Estado de São Paulo, desde 1997, há o relato de 4 casos confirmados: o **primeiro caso**, em fevereiro de 1997, em que o produto consumido foi uma conserva de palmito em vidro, de marca nacional, de um único frasco, tendo sido detectada a toxina botulínica tipo A, no sangue do paciente e no alimento consumido, e neste, o pH encontrado foi de 5,3.

O **segundo caso**, em outubro de 1998, em que o produto consumido foi novamente uma conserva de palmito em vidro, de marca boliviana, de um único frasco, tendo sido detectada a toxina botulínica tipo A no sangue do paciente e no alimento, e um pH de 4,2 (porém, o produto quando foi analisado, apresentava-se em estado de putrefação, o que pode ter influenciado esse resultado - sabe-se que, depois de aberto o produto, pode ocorrer o desenvolvimento de outras bactérias e leveduras que acidificam o meio, mudando, portanto, o real pH anterior).

O **terceiro caso**, em março de 1999, com história de ingestão de conserva de palmito de marca boliviana, proveniente da mesma região e endereço de fabricação da marca responsável pelo caso anterior. Nesse, foi detectada a presença da toxina tipo A no sangue do paciente, mas por ausência de sobras alimentares do palmito consumido, não foi possível estabelecer a relação direta. Entretanto, todos os demais alimentos de risco ou medicamentos (cápsula de proteína animal manipulada e fórmulas para emagrecimento) por ele consumidos foram analisados com resultados negativos. Da mesma forma foram negativas as pesquisas em 3 frascos de palmito da mesma marca em questão, encontrados em sua casa, mas ainda não abertos. Num desses frascos o pH medido foi 4,6.

O **quarto caso**, ocorrido em fevereiro de 2001, a investigação epidemiológica não conseguiu identificar nenhum alimento envolvido, em virtude da notificação tardia, quando as condições clínicas do paciente não o permitiam colaborar, prejudicando irremediavelmente as ações da Vigilância Sanitária. Amostras de sangue, fezes e lavado gástrico foram colhidas 7 dias após o início dos sintomas. Foi detectada a toxina botulínica no soro e nas fezes do paciente, embora a quantidade de material tenha sido insuficiente para a identificação do tipo de toxina.

Nos três primeiros casos, a inspeção sanitária encontrou irregularidades graves como a ausência de número de lote, ou lotes fictícios, várias datas de validade em rótulos sobrepostos, pH em desacordo, etc.. Os produtos foram apreendidos e proibida a importação sem a prévia inspeção dos técnicos da Vigilância Sanitária Brasileira (ver a nova legislação que regulamenta a fabricação de conservas de palmito em <http://www.anvisa.gov.br>).

Na ocorrência do terceiro caso, a Vigilância Sanitária Nacional determinou a rotulagem de todos os produtos nacionais e estrangeiros, na prateleira e na fábrica, com a seguinte advertência para o consumidor: "Para sua segurança, ferva este produto, por 15 minutos, antes de ser consumido", pois, todo o palmito passou a ser considerado suspeito, até a implantação das novas normas de fabricação e da realização do Programa Nacional de Inspeção das Fábricas de Palmito.

9. Conduta epidemiológica

1) **Notificação do caso** - a ocorrência de um único caso de botulismo de origem alimentar representa uma emergência de saúde pública, pois pode ser o prenúncio de um grande surto, devido à possibilidade de haver outros casos resultantes da ingestão de uma fonte única de alimentos contaminados, os quais podem ainda estar disponíveis para o consumo,

O médico ao se deparar com quadros neurológicos abruptos, em pacientes geralmente saudáveis, e com história de ingestão de alimentos suspeitos (conservas em latas ou vidros, embutidos, ou compotas) deve discutir o caso imediatamente com o Serviço de Vigilância Epidemiológica local/municipal, regional ou estadual. As autoridades de saúde pública do estado devem contatar imediatamente a Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE - Centro de Referência do Botulismo, no Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, cujos profissionais estão preparados para orientar sobre todos os aspectos técnicos e operacionais relativos à doença, pelo telefone 0800 55 54 66, atendendo ininterruptamente.

Se um produto comercial é suspeito de veicular o botulismo, a Vigilância Sanitária deverá ser comunicada imediatamente e iniciar as investigações sanitárias.

2) A **investigação epidemiológica** é iniciada com a notificação do caso e deve ser imediatamente desencadeada pela equipe de Vigilância Epidemiológica, cumprindo os seguintes passos: a) levantamento da *história do caso e de sua internação*, obtendo-se esses dados dos médicos que realizaram o atendimento ao doente, bem como, de seus familiares. A investigação

epidemiológica de um caso suspeito de botulismo inclui uma pesquisa imediata para levantar as possíveis causas do botulismo, a identificação de exposições alimentares suspeitas, bem como a confirmação do diagnóstico. Se um número maior de pessoas foi afetado, deve ser realizada uma rápida investigação epidemiológica para assegurar a identificação da fonte e controle do surto. Testes laboratoriais diagnósticos do paciente e dos alimentos devem ser realizados. b) obtenção de *dados importantes* buscando estabelecer o início preciso da doença, sinais e sintomas, resultados dos exames neurológicos, alimentos consumidos dentro de um período mínimo de 5 dias, relacionando-os por ordem cronológica do consumo em relação ao início dos sintomas, procurando estabelecer o consumo comum entre o paciente e demais familiares ou outras pessoas, o que todos comeram, o que só o paciente comeu, o quanto foi ingerido de cada alimento, para buscar a responsabilização do alimento suspeito. c) *acionar imediatamente a Vigilância Sanitária* para coletar na casa, em restaurantes ou outro estabelecimento, dependendo da história do alimento consumido, amostras dos alimentos ingeridos para a análise laboratorial de detecção da toxina. É muito importante que se consiga recolher exatamente os alimentos que foram consumidos pelo paciente, mas se não for possível, recolher exemplares da mesma marca da que foi ingerida.

3) **Vigilância e acompanhamento** dos familiares e comensais para detecção precoce de novos casos de botulismo; orientações aos familiares ou pessoas próximas que consumiram o alimento para procurarem o serviço médico frente a sinais e sintomas suspeitos.

4) **Preenchimento da Ficha Individual de Notificação e Investigação de Botulismo** e envio dos dados, conforme fluxo estabelecido (ver anexos).

10. Conduta sanitária

Quando a Vigilância Sanitária ou o Laboratório forem os primeiros a ter conhecimento do caso através dos médicos ou familiares ou outros meios, devem acionar imediatamente a Vigilância Epidemiológica para que inicie a investigação epidemiológica, atuando de maneira integrada e conjunta.

A Vigilância Sanitária deve: 1) dar início à **coleta de alimentos** na casa do paciente ou estabelecimento onde foi feita a ingestão do alimento suspeito, para encaminhamento ao laboratório de análise. É importante recuperar informações como a marca do produto, local onde foi comprado, data de validade, quando foi aberto, onde estava armazenado e todas as demais informações a partir da descrição detalhada do rótulo, como nome e endereço do fabricante, distribuidor, número de lote, data de fabricação, etc. 2) realizar a **inspeção sanitária** nos locais de fabricação dos alimentos suspeitos para verificação das condições higiênico-sanitárias, controles e técnicas de processamento, HACCP, GMP, origem da matéria-prima, verificação de lotes, datas de fabricação e validade, número de registro no Ministério da Saúde, número de registro no IBAMA (quando for o caso), etc.. Recolher amostras dos produtos para a análise laboratorial de pH,

microbiológica e outras, e tomar as medidas sanitárias perante as infrações por ventura já detectadas.

11. Conduta laboratorial

11.1. Biossegurança

1) Vacina - toxóide botulínico: as toxinas botulínicas são extremamente venenosas para os seres humanos. Como já descrito anteriormente, quantidades mínimas adquiridas por ingestão, inalação ou por absorção através do olho ou em um corte na pele podem causar intoxicação profunda e morte. Portanto, todo material suspeito de conter toxina botulínica precisa ser manipulado com cuidado, e os testes de laboratório somente devem ser realizados por pessoal experiente, previamente imunizado com toxóide botulínico (a vacina - toxóide botulínico - é fornecida pelo CDC/Atlanta/USA estando prevista sua produção pelo Instituto Butantan). Esta vacina é um toxóide polivalente, destinado ao pessoal de laboratório que trabalha regularmente com toxinas botulínicas para testes laboratoriais.

2) Equipamentos de Proteção: aventais de laboratório, luvas cirúrgicas, máscaras para proteção da face ou bancadas com escudo de material plástico leve e transparente devem ser usados na manipulação de espécimes suspeitos. Pipetadores seguros são preconizados para transferência de líquidos. Uma cabina de segurança biológica (BSC) deve ser usada na preparação de extratos de tecidos e alimentos sólidos, para prevenir a liberação de aerossóis dentro do laboratório. Todos os recipientes para os espécimes contendo toxina botulínica, tubos de cultura, frascos, etc., durante o armazenamento ou incubação, devem ser à prova de vazamentos e inquebráveis, para prevenir derramamentos acidentais. Se estes ocorrerem, a toxina deve ser neutralizada pelo uso de solução alcalina concentrada, tal como hidróxido de sódio 0,1M. O *C. botulinum* é inativado por água sanitária, na diluição de 1:10. A solução desinfetante apropriada deve estar em contato com a toxina ou com o organismo por 15 a 20 minutos para assegurar sua inativação. Se o material for suspeito de conter ambos, a toxina e o organismo, o derramamento deve ser tratado seqüencialmente com água sanitária e hidróxido de sódio.

Na ocorrência de um incidente laboratorial com possíveis exposições humanas, os primeiros passos a serem tomados são: 1) avaliar a probabilidade de que tenha realmente ocorrido uma exposição; 2) avaliar a quantidade e tipo sorológico da toxina envolvida; 3) avaliar o estado imunitário da pessoa envolvida; 4) determinar qual foi a fonte do material; 5) verificar a forma como ocorreu a contaminação - por ingestão, se injetado ou inalado, e em que quantidade; 6) avaliar a procedência do material: se for proveniente de um espécime clínico, a quantidade seria provavelmente pequena, desprezível, sendo maior o risco de se contrair hepatite ou HIV, ou se o

material era de uma cultura ou de um produto com toxina concentrada; 7) se a exposição ocorreu durante a injeção dos camundongos, o acompanhamento do teste em camundongos poderá indicar se o acidente envolveu uma amostra tóxica ou não, e pode indicar o tipo de toxina, se os testes de neutralização foram feitos. Se a cultura ou toxina foi de um outro tipo que não A, B, ou E, a terapêutica antitoxina seria inútil. Se a pessoa que se acidentou estava no período de validade da imunização deve muito provavelmente ter proteção contra as toxinas dos tipos A, B, C, D e E.

Em qualquer caso, recomenda-se que a pessoa exposta seja observada por um período de 2 a 4 dias, e que esteja consciente dos sintomas precoces de botulismo: visão dupla ou turva, boca seca, dificuldade da fala, rouquidão, fraqueza muscular periférica. O aparecimento de algum desses sintomas é condição suficiente para hospitalização imediata e tratamento do caso como botulismo. Verifica-se que, mesmo nos casos severos de botulismo, com o suporte adequado tem-se obtido sucesso com ou sem administração de antitoxina.

11.2. Coleta de Material

Os materiais adequados para detecção de toxina botulínica e do *C. botulinum* em surtos alimentares incluem soro, fezes, vômitos, conteúdo gástrico dos pacientes e as sobras de alimentos suspeitos consumidos. Em infecções de ferimentos, são ideais o soro, fezes, exsudato, tecido desbridado, ou swabs de ferimentos de pacientes. No botulismo infantil, devem ser coletadas amostras de fezes e de soro do paciente, e, muitas vezes, exames de espécimes ambientais para *C. botulinum* podem servir como dados adicionais que ajudam a estabelecer a provável fonte do organismo. Todos os espécimes, exceto aqueles de feridas, devem ser refrigerados, de preferência não congelados, e examinados o mais rapidamente possível depois da coleta. A coleta também deve ser feita o mais rápido possível e, de preferência, antes da administração do soro antibotulínico.

Todos os materiais coletados devem ser encaminhados, devidamente embalados e identificados, para o Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz - Av. Dr. Arnaldo, 353, Setor de Triagem da Bromatologia e Química (há necessidade de se estabelecer um contato prévio com a Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE - Centro de Referência do Botulismo).

1) coleta de soro e material de lavado gástrico

O ideal é que se colem 15 ml a 20 ml de sangue total em frasco sem anticoagulante e que dele se obtenham 10 ml de soro, no próprio local de coleta. Esta quantidade permitirá a realização de todas as etapas necessárias à identificação da toxina botulínica envolvida e a eventual repetição de algumas delas. Como em algumas circunstâncias não é possível obter todo

esse volume, especialmente em crianças, um mínimo de 5 ml de soro deve ser coletado para que se consiga a confirmação do diagnóstico.

2) coleta de material de ferimentos

Espécimes de ferimento devem ser colocadas em dispositivos de transporte anaeróbico tais como tubos Port-A-Cult ou frascos (BioQuest Div., Becton, Dickison & Co, Cockeysville, Maryland) e enviados para o laboratório, sem refrigeração, para tentar o isolamento do *C. botulinum*.

3) coleta de fezes

Devem ser coletadas de 25 a 50 g de fezes. Entretanto, a evidência confirmatória de botulismo tem sido obtida de quantidades menores e *C. botulinum* tem sido isolado de fezes cujo paciente recebeu o tratamento com antitoxina. É possível confirmar o botulismo, em crianças, com pequenas quantidades de fezes (tamanho de ervilha). Se, devido à constipação, houver necessidade de se fazer um enema, utilizar quantidade mínima de fluido (preferível água estéril não bacteriostática) para se obter o espécime sem promover grande diluição. Se qualquer medicação que possa interferir com os ensaios da toxina ou da cultura de fezes tiver sido administrada ao paciente, o laboratório deve ser informado. Por exemplo, demonstrou-se que drogas anticolinesterásicas, dadas oralmente a pacientes com miastenia gravis, podem interferir com os ensaios no camundongo para detecção da toxina botulínica a partir de extratos de fezes.

4) coleta do alimento:

As sobras de alimentos suspeitos podem ser analisadas. Os alimentos devem ser deixados em suas embalagens originais se possível, ou colocados em um recipiente inquebrável, estéril e todos rotulados cuidadosamente. Recipientes vazios ou com pequenos restos de alimento suspeito podem ser examinados. As amostras devem ser mantidas e transportadas sob refrigeração.

Todo o material, além da identificação específica do produto, deverá ser acompanhado de formulário/receituário contendo dados de identificação do paciente, local de atendimento e endereço completo (incluindo telefone, médico para contato), suspeita diagnóstica, etc.

11.3. Transporte do Material

É comum que os materiais tenham que percorrer grandes distâncias até chegar ao laboratório, o que requer cuidados adicionais quanto à preservação da qualidade e da

biossegurança. Além de serem colocados em recipientes estéreis, à prova de vazamento, sob refrigeração, quando indicado, devem ser devidamente embalados, endereçados e etiquetados com os seguintes dizeres: **"EMERGÊNCIA MÉDICA, PERIGO BIOLÓGICO E REFRIGERAR NA CHEGADA"**. Os materiais devem ser embarcados o mais rápido possível.

Ressalte-se que caixas ou recipientes de papelão não são adequados para espécimes de fezes. As principais linhas de avião têm um serviço especial de embalagem para expedir esses materiais.

A Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE - Centro de Referência do Botulismo deverá ser informada da hora do embarque e da previsão de horário e local de chegada do material para providenciar a recepção deste pelo Laboratório.

Durante todo o transporte os materiais devem ser mantidos sob refrigeração, empacotando-os em recipiente com gelo seco ou reciclável, protegido para o embarque. Vale ressaltar que o congelamento não afeta a capacidade de se detectar a toxina botulínica em espécimes, mas pode comprometer a detecção do *C. botulinum*.

Todos os pacotes devem conter o nome do médico assistente e da autoridade sanitária local/estadual responsável, e respectivos números de telefones para contato.

11.4. Exame do material para detecção da toxina botulínica

1) Protocolo do Bioensaio em Camundongo

a. Camundongos - resultados satisfatórios são obtidos utilizando-se camundongos de 15 a 20 g, de descendência branca ICR.

b. Antitoxinas - antitoxinas monovalentes (tipos A, B, C, D, E e F), distribuídas pelo CDC, contém aproximadamente 10 U.I. por ml, quando reconstituídas.

c. Injeção no camundongo: soro ou extrato, puro ou misturado com antitoxina é injetado intraperitonealmente, usando uma seringa com graduação de 25 e agulha de 5/8 polegadas. Usar pelo menos 2 camundongos por amostra e para os testes de inativação específica.

d. Observação dos camundongos - Observar os camundongos com frequência nas primeiras 12 horas e, após, diariamente por um período de 4 dias quanto aos sinais da doença ou morte. Embora a intoxicação botulínica comumente cause a morte do camundongo dentro de 6 a 24 horas, mortes tardias são ocasionalmente observadas.

e. Interpretação dos resultados - se o material em teste contiver toxina em quantidade suficiente, todos os camundongos injetados morrerão, exceto aqueles que receberam amostras neutralizadas pela antitoxina específica para a toxina botulínica envolvida e os injetados com extratos aquecidos, em função da inativação da toxina pelo calor (desnaturação da toxina por fervura em banho-maria por 10 minutos).

Nota: Em camundongos, sinais de botulismo podem começar com eriçamento do pêlo, acompanhado, em seqüência, por dificuldade de respiração, fraqueza de membros, paralisia total e morte por falência respiratória. O intervalo de tempo entre o primeiro sinal de doença e a morte varia com a quantidade de toxina que o camundongo recebeu. A morte sem sinais típicos não é uma evidência adequada de que a toxina botulínica estava presente no material injetado. Observar que o animal desenvolve um acinturamento típico - cintura de vespa - por paralisia do diafragma, em contração.

2) Identificação da toxina botulínica no soro

a. Colocar 1 ml de soro do paciente em 6 tubos e acrescentar, nos últimos 5 tubos, 0,25 ml de antitoxina apropriada, como indicado na Tabela 1 (ver anexos).

b. Homogeneizar a antitoxina com o soro, por rotação dos tubos. Tentar evitar a formação de espuma que pode inativar a toxina.

c. Incubar os tubos com a mistura soro e antitoxina, entre 30 a 37° C, por 30 minutos.

d. Injetar no peritônio de 2 camundongos 0,4 ml do soro não tratado (tubo 1) e de cada 1 dos outros 5 tubos injetar em 2 camundongos 0,5 ml da mistura soro e antitoxina.

e. Marcar cada grupo de camundongos com tinta em um padrão distinto, para identificá-los.

f. Observar os camundongos quanto a sinais sugestivos de botulismo e morte. Se a toxina botulínica estiver presente em concentração suficiente, todos os camundongos morrerão dentro de 96 horas, exceto aqueles que receberam a mistura de soro contendo a antitoxina correspondente ao tipo da toxina presente na amostra.

g. Um teste de toxina que é negativo usando 0,4 ml de soro do paciente pode ser positivo quando se inocula 0,8 ml. Volumes superiores a 0,8 ml não são recomendados pois o soro normal pode, algumas vezes, matar os camundongos. Quando a morte ocorrer com 0,8 ml, a neutralização deve ser processada adicionando 1/8 do volume de antitoxina (isto é, 2 ml de soro mais 0,25 ml de antitoxina), incubando por 30 a 60 minutos, entre 30 a 37° C, e injetando 0,9 ml por camundongo.

h. Se a quantidade de soro do paciente não é suficiente para um teste completo de neutralização da toxina, a prioridade deve ser demonstrar a toxina por observação dos sinais de botulismo em camundongo depois da injeção intraperitoneal de soro não tratado (0,4 ou 0,8 ml). Se a toxina é demonstrada, o seu tipo poderia ser determinado pela complementação do teste da antitoxina tipo específica, sempre que possível. A exata antitoxina (anti-A, B, E, etc.) para se empregar na realização do teste de neutralização dependerá da quantidade do soro disponível do paciente.

3. Identificação da toxina nas fezes

a. Preparo do extrato

1. Pese o material dentro de um recipiente esterilizado;
2. Acrescentar 1ml de solução de gel fosfato tamponada fria (4 ° C) (0,2% gelatina, 0,4% Na₂PO₄; pH 6,4) para cada grama de fezes;
3. Homogeneizar até uma suspensão uniforme ser obtida;
4. Manter em refrigerador (4° C) 6 a 18 horas, para extração da toxina (overnight);
5. Centrifugar a 12.000 x g (2.500 rpm) em uma centrífuga refrigerada (4 ° C) por 20 minutos. Recolher o sobrenadante e repetir a centrifugação, se necessário. O sobrenadante será o extrato a ser utilizado para a realização do teste.

b. Os procedimentos de teste do extrato são os mesmos utilizados para o soro. Em adição, teste uma amostra para labilidade ao calor e uma amostra para ativação com tripsina.

1. Para aquecer a amostra, colocar 1ml de extrato em um tubo, tampar com algodão e colocar em banho-maria fervente por 10 minutos.

2. Para tripsinar a amostra, colocar 1 ml de extrato em um tubo, acrescentar 0,25 ml de solução a 0,5% de tripsina (Difco 1:250), deixar à temperatura ambiente por 30 a 60 minutos (Difco;Detroit; Michigan).

c. O esquema para o teste de extrato está esboçado na Tabela 2 (ver anexos).

d. Se a toxina é demonstrada somente na amostra tripsinizada, repetir o teste de neutralização usando extrato tripsinizado. Acrescentar 1,5 ml de tripsina a 0,5% para cada 6 ml de extrato e incubar 30 a 60 minutos, entre 30 a 37° C.

Distribuir 1,25 ml de extrato tripsinizado em cada um dos 5 tubos, acrescentar 0,25 ml de antitoxina apropriada (monovalente A, B, E ou polivalente [A, B, C, D, E, F]) por tubo, misturar, e incubar novamente, por 30 a 60 minutos, à temperatura ambiente. Inocular 2 camundongos com cada uma das mistura de extrato tripsinizado e antitoxina (0,6 ml por camundongo). A Tabela 3 (ver anexos) mostra detalhes do teste com extratos tripsinizados. A etapa da tripsinização é necessária quando se trata de toxina produzida por cepa proteolítica (tipo E e, mais raramente, tipo B).

e. Outras substâncias tóxicas que não a toxina botulínica podem estar presentes em espécimes de fezes. Diluindo a amostra 2 vezes mais e titulando o extrato, e repetindo o teste de neutralização do extrato, próximo da diluição máxima, pode-se eliminar a interferência e permitir a identificação da toxina botulínica.

f. amostras com concentração muito elevada de toxina podem resultar na morte precoce do animal, não permitindo a observação dos sinais de botulismo. Nestes casos, diluir a amostra/extrato com solução fisiológica e repetir o teste.

4. Identificação da toxina nos alimentos

- a. Registro de toda a informação identificada.
- b. Se os alimentos a serem testados forem enlatados, limpe a tampa da lata com sabão e água, enxague, remova o excesso de água, e limpe a superfície com álcool 70%. Abra a lata em uma cabina biológica segura (BSC).
- c. Registre as condições do alimento (cor escura, putrefato, etc.) e remova uma pequena amostra para determinação de pH. Registre o pH.
- d. Prepare um extrato, conforme descrito para as fezes. A solução de gel fosfato tamponado é acrescentada gradualmente durante a trituração, e se o material estiver bastante seco, a quantidade de diluente pode ser aumentada. A trituração da amostra de alimento deve ser feita dentro de uma BSC.
- e. O teste do extrato deve ser realizado como o descrito para o extrato de fezes (item 11.4 3b, 3d e Tabela 2)

11.5. Cultura e isolamento do *C. botulinum*

1. Culturas de enriquecimento:

- a. Preparação dos meios de cultura: antes da semeadura, a menos que o meio de enriquecimento tenha sido recentemente preparado, aqueça-o em vapor fluente ou em água fervente por 15 minutos. Após o aquecimento, resfriá-lo rapidamente em água gelada sem agitação.
- b. Semear 1 a 2g/ml para 15 ml de caldo de enriquecimento. Inocular em 2 tubos de Cooked Meat Medium (CMM) e em 2 tubos trypticase-peptone-glucose-yeast (TPGY).
- c. Incubar
- d. Leitura das culturas: após 7 dias de incubação, examinar cada cultura quanto à turvação, produção de gás e digestão de partículas de carne. Examiná-las, também, microscopicamente, observando a morfologia, a ocorrência de esporos e a sua localização dentro da célula.

A pesquisa e identificação da toxina podem ser feitas de acordo com os procedimentos descritos anteriormente, após a centrifugação refrigerada da cultura que evidenciar predominância de bastonetes Gram positivos com esporos característicos.

Se a cultura for negativa após 7 dias de incubação, re-incubar por mais 10 dias.

Para obtenção de culturas puras, homogeneizar lentamente e transferir 1 a 2 ml desta cultura para tubo com tampa rosqueável e refrigerar.

2. Preparo de culturas de enriquecimento

- a. Aquecer 2 tubos de meio de carne-glucose-amido (CMGS) em banho-maria por 10 minutos para remover o oxigênio. Resfriar em temperatura ambiente.
- b. Inocular 0,5 - 1,0 ml da suspensão em cada um dos tubos do meio em profundidade, com uma pipeta capilar. Evite introduzir bolhas de ar no meio.
- c. Aquecer um tubo a 80 ° C por 10 minutos, e resfriá-lo em água gelada.
- d. Após a inoculação e o tratamento térmico, incubar ambos os tubos em condições de anaerobiose a 30 ° C por 4 dias.
- e. Após a incubação, remover a porção de cultura, centrifugar e recuperar o fluido sobrenadante para a pesquisa da toxina.
- f. Pesquisar toxina no sobrenadante não tratado, aquecido, e de cultura tripsinizada em camundongos, como mostrado para tubos 1, 2 e 3 na Tabela 2.
- g. Se o caldo de cultura tripsinizada e não tratada indicarem a presença da toxina, realizar testes de neutralização, como mostrado com tubos 4, 5, 6, 7 e 8 na Tabela 2.
- h. Se somente a amostra tripsinizada for tóxica, tripsinizar 6 ml de caldo de cultura e repetir o teste de neutralização, como descrito no item 11.4 3d e Tabela 3.

3. Isolamento de culturas puras

- a- no momento do teste de toxicidade ou 1 a 2 dias antes, semear as culturas de CMGS aquecidas e não aquecidas para as placas de agar de gema de ovo "Modified McClung-Toabe" para obter colônias isoladas. Incubar as placas anaerobicamente por 48 horas a 35° C.
- b- examinar as placas e escolher colônias lipase positiva típicas e inocular em meio CMGS. Escolher várias colônias porque algumas isoladas podem não ser toxigênicas. Incubar as culturas entre 30 e 37° C, por 4 dias.

a. Tratamento com álcool (método alternativo)

Transferir para um tubo com tampa de rosca, 1 a 2 ml de caldo de enriquecimento, contendo algumas células esporuladas e adicionar volume igual de álcool absoluto (etanol), esterilizado por filtração. Incubar a mistura à temperatura ambiente, por 1 hora e homogeneizar a cada 15 minutos. Inocular 0.5 a 1.0ml dessa mistura em CMGS e incubar anaerobicamente, por 48 horas. Repetir o isolamento em Agar gema de ovo. Proceder ao teste de toxicidade e de identificação da toxina em culturas puras, conforme já descrito anteriormente.

b. Tratamento térmico

Outro procedimento alternativo é aquecer 1 a 2 ml do meio de enriquecimento o suficiente para destruir as células vegetativas, mas não os esporos de *C. botulinum*. Para cepas proteolíticas,

aquecer a 80°C, por 10 a 15 minutos; para as cepas não proteolíticas o tratamento térmico não deve ser usado.

c. Semeadura

Semear as culturas dos itens 1 e 2 em agar gema de ovo para obtenção de colônias isoladas.

d. Incubação

Incubar as placas a 35°C, por 48 horas, em anaerobiose.

e. Seleção de colônias típicas

Colônias de *C. botulinum* podem ser convexas ou planas, lisas ou rugosas. No meio de gema de ovo as colônias geralmente exibem superfície iridescente quando examinadas sob luz oblíqua. Esta zona é devida à atividade da lipase e é freqüentemente referida como camada perolífera. Ao lado desta camada, colônias de *C. botulinum* tipo C, D, e E são rodeadas por uma zona de 2 a 4 mm de um precipitado amarelo, causado pela atividade lecitinase. Colônias do tipo A e B geralmente possuem essas zonas de precipitação menores.

Inocular cada colônia de cepas não proteolíticas em tubos contendo o meio TPGY ou PTGYT, e as proteolíticas, no meio CMM. Incubar por 7 dias e pesquisar a presença de toxina como anteriormente descrito.

Semear as culturas produtoras de toxinas em duplicata em agar gema de ovo. Incubar uma placa em aerobiose e outra em anaerobiose, a 35°C por 48 horas. Se colônias típicas de *C. botulinum* se desenvolverem em placas incubadas anaerobicamente, e não nas placas incubadas aerobicamente, a cultura pode estar pura.

f. Estocagem

Mantenha as culturas puras no estado de esporulação sob refrigeração.

Nota: Algumas vezes é difícil isolar *C. botulinum* tipo E de culturas mistas por causa da bacteriocina produzida por outros organismos. Isto pode ser superado pelo uso de um meio contendo tripsina, o qual inativa a bacteriocina. Quando tais dificuldades são encontradas, ou quando já se sabe de antemão tratar-se da cepa do tipo E, o meio tripticase-peptona-glicose – extrato de levedura com tripsina pode ser usado em adição ao CMGS.

Dissolva os ingredientes, ajuste o pH para 7,0 e distribua a razão de 15 ml/tubo. Autoclave por 8 minutos a 121° C. Prepare 1,5% solução de tripsina aquosa (Difco 1:1250) e esterilize por filtração. Antes de usar o meio, retire o oxigênio por aquecimento em banho-maria fervente por 10 minutos, resfrie em água gelada, e acrescente 1 ml de solução de tripsina.

12. Alimentos Associados

Nos últimos anos, os produtos vegetais têm sido identificados como os mais importantes veículos para a toxina botulínica, em vários países. Pescados e mamíferos marinhos também são responsáveis por um grande número de surtos. De modo geral, o botulismo de origem alimentar devido a alimentos industrializados vem sendo controlado, em função da utilização de processos cada vez mais seguros de preparo e envasilhamento na indústria, tais como, o aquecimento em temperatura e tempo suficientes para destruir os esporos. Já as conservas comerciais não esterilizáveis, em latas ou vidros, especialmente de vegetais, podem ser seguras desde que submetidas à acidificação ou outras manipulações adequadas para inibir o desenvolvimento do organismo (por exemplo, a adição de ácido fosfórico para o alho em óleo). Ocasionalmente, alimentos comerciais ainda causam botulismo, quando são preparados inadequadamente, em condições que permitam a produção da toxina.

As pessoas que fazem conservas em casa devem ser orientadas sobre o tempo apropriado, pressão e temperaturas requeridas para destruir os esporos; sobre a necessidade de refrigeração adequada para o armazenamento de alimentos incompletamente processados, e sobre a efetividade da fervura das latas ou vidros para destruir a toxina botulínica. Em conservas caseiras de vegetais, a destruição dos esporos pode ser alcançada através do aumento da pressão durante o cozimento, que permite atingir temperaturas seguras, acima da temperatura de fervura (>100° C). Já a toxina botulínica é termolábil e pode ser inativada pelo aquecimento a 80° C por 10 minutos. Assim, o risco do botulismo por alimentos caseiros, enlatados ou em vidro, pode ser reduzido pelo aquecimento imediatamente antes do consumo.

No Brasil, mais precisamente no Estado de São Paulo, foram diagnosticados nos quatro últimos anos, três casos de botulismo de origem alimentar, nos quais conservas industrializadas de palmito, em vidro, foram os alimentos suspeitos, uma de marca nacional, e as outras duas, de origem boliviana. As ações de vigilância sanitária mostraram muito recentemente uma realidade bastante precária na qual produções clandestinas de palmito, ou "fábricas" em estado precário conseguiam atingir "distribuidores" com marcas legais que colocavam o produto no comércio organizado.

O *C. botulinum* pode estufar a lata ou a tampa sem alterar o odor do produto. Latas comerciais ou feitas em casa, estufadas não devem ser abertas, mas alimentos sem alteração do cheiro não têm a garantia de que estejam inócuos.

Muitos são os alimentos descritos como responsáveis pelo botulismo, tais como embutidos de carnes em geral (salsichas, salames, presuntos, etc.) ou conservas em lata e vidro de doces, hortaliças, legumes (palmitos, aspargos, cogumelos, alcachofra, pimentões, beringelas, alho, picles, etc.), peixes, frutos do mar, e outros, especialmente acondicionados em embalagens a vácuo, sem oxigênio, sem o tratamento devido, que favorecem o desenvolvimento da bactéria e assim, a produção da toxina. Sabe-se que o esporo só é inativado em processo de esterilização

industrial em autoclaves a 121° C, que corresponde ao “cozimento botulínico”. Sabe-se também que o meio ácido pode inibir o desenvolvimento do *C. botulinum*. Assim, os alimentos de natureza ácida impedem a produção da toxina. Contudo, alimentos com pH acima de 4,5, em condições de higiene inadequadas, em anaerobiose, e esterilizados em temperatura abaixo de 121° C, constituem-se em alimentos de risco. As conservas de vegetais tenros (palmitos, alcachofras, pimentões, etc.) que, por suas características não suportam uma esterilização a 121° C, exigem processamento cuidadoso como, lavagem e desinfecção, acidificação adequada, salmoura adequada, tamanho adequado, além das técnicas normais de produção dos alimentos, controle de pontos críticos na produção (HACCP), controle e garantia de qualidade, condições higiênico-sanitárias adequadas dos estabelecimentos, licença e registro na Vigilância Sanitária, etc.

No Brasil, a produção de palmito, em especial, tem sido uma atividade extrativista e clandestina, onde se recolhe o palmito da mata selvagem (atividade proibida em lei pelo IBAMA), às vezes sendo cozido e envasado às margens dos rios, sem qualquer controle de qualidade e critérios para a acidificação, esterilização, controle microbiológico, etc. Como citado anteriormente, esses produtos, de procedência duvidosa, acabavam chegando a distribuidores legais ou mesmo fabricantes e às prateleiras dos supermercados, e comércio de alimentos em geral, aos restaurantes, etc., indo para a mesa do consumidor, que não tem o hábito de ferver esses alimentos antes do consumo.

No caso de produtos de origem animal, a adição de nitrato e nitrito (conservantes), associada ou não ao NaCl (sal), e temperaturas de refrigeração, são controles adequados contra o desenvolvimento da bactéria impedindo, desta forma, a produção da toxina (presunto, mortadelas e similares).

13. Conduta Educativa

1) educação sanitária da população em geral, dos produtores e manipuladores de alimentos quanto à higiene, preparo e conservação de alimentos e informações sobre a doença.

2) recomendações específicas de prevenção para as donas de casa e demais manipuladores de alimentos de que o produto industrializado em conserva quando suspeito seja fervido ou cozido por 15 minutos, antes de ser consumido, uma vez que a toxina é destruída pela ação do calor e que as conservas caseiras que não ofereçam segurança, se forem consumidas, devem ser fervidas por 15 minutos antes do consumo. Os vidros de conserva embaçados, com cheiro diferente do normal, as latas estufadas ou com qualquer outro sinal de deterioração devem ser descartados pois estes são sinais de contaminação por outros microrganismos, também nocivos à saúde. Contudo, pode haver conservas sem nenhuma destas características com a toxina botulínica, pois a mesma, pode não alterar a cor, o sabor e o aspecto do produto. Por isso, quando não houver certeza da qualidade do produto, a prevenção através da fervura prévia, será a

melhor maneira de se evitar o botulismo. Não consumir produtos clandestinos, marcas duvidosas, e sem o registro do Ministério da Saúde.

14. O serviço de emergência

Mediante a suspeita de um caso de botulismo, o médico que realizou o atendimento deve entrar imediatamente em contato com o Serviço de Vigilância Epidemiológica local/municipal ou estadual, que por sua vez deve acionar a Central de Vigilância Epidemiológica/Disque/CVE - Centro de Referência do Botulismo através do telefone 0800 - 55 54 66, para a notificação e as devidas providências para a obtenção do soro antibotulínico e demais orientações necessárias.

A antitoxina botulínica será disponibilizada após a discussão do caso com o Centro, que requererá as informações devidamente preenchidas no formulário apropriado (ver anexos), que deve ser passado ao CR-BOT por fax (0XX-11- 3082-9359 ou 3082-9395). Se houver dificuldades de comunicação rápida do hospital com os serviços de vigilâncias locais ou regionais, ou nos finais de semana, os médicos que atenderem o (s) caso (s) podem acionar o Centro diretamente, o qual fará as comunicações imediatas para desencadear as investigações epidemiológicas e sanitárias, além de dar a retaguarda adequada para o atendimento e tratamento do (s) caso (s).

O Centro de Referência do Botulismo - CR-BOT, sediado na Central de Vigilância Epidemiológica do Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE, conta com a Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar para fornecer consultas técnicas de emergência e suporte para todas as autoridades em saúde pública e em vigilância, bem como, aos médicos assistentes dos casos, em situações de maior complexidade.

15. Bibliografia consultada

1. AOAC. *Bacteriological Analytical Manual*, AOAC, 1992.
2. APHA. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, 1992.
3. Benenson, A. S. (Editor). *Control of Communicable Diseases Manual*, 16th Edition, Washington DC, USA, 1995.
4. CDC/USA. *Botulism in the United States, 1899-1996 - Handbook for Epidemiologists, Clinicians and Laboratory Workers*, Atlanta, 1998 (bibliografia principal para a elaboração do manual).
5. Cecchini, E; Ayala, S. E. G.; Coscina Neto, A. L. & Ferrareto, A. M. C. *Botulismo* In: Veronesi, R. & Focaccia R. *Tratado de Infectologia*. Ed. Atheneu, Vol. 1, São Paulo, 1996, p. 565-574.
6. US FDA/CFSAN. *Clostridium botulinum*. BAD BUG BOOK. <http://www.fda.gov> (procurar em Food e em seguida em Bad Bug Book)
7. Varnam, A. H.; Evans, M.G.. *Foodborne pathogens - an illustrated text*. London: Wolf Publishing, 1991.

Anexos:
Formulários, Instruções Gerais e Fluxos, e Tabelas



FICHA DE RECEBIMENTO DA NOTIFICAÇÃO DE CASO SUSPEITO DE BOTULISMO OU DE SOLICITAÇÃO DE ORIENTAÇÃO E PROVIDÊNCIAS

NOME DO SERVIÇO SOLICITANTE _____

NOME DO PROFISSIONAL SOLICITANTE _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE _____ FAX _____

NOME DO PACIENTE _____ IDADE _____

ENDEREÇO _____

NOME DO HOSPITAL DE INTERNAÇÃO _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE _____ FAX _____

1. INFORMAÇÕES/SERVIÇOS OU PROVIDÊNCIAS SOLICITADAS

A) NOTIFICAÇÃO DE BOTULISMO []

B) ORIENTAÇÃO TÉCNICA []

B) SOLICITAÇÃO DE ANTITOXINA BOTULÍNICA []

C) ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS PARA EXAMES LABORATORIAIS ESPECÍFICOS :

PACIENTE []:

SANGUE TOTAL []

SORO []

TECIDOS []

LAVADO GÁSTRICO []

FEZES []

ALIMENTOS SUSPEITOS []: _____

2. LABORATÓRIO DE DESTINO DOS EXAMES _____

ENDEREÇO COMPLETO: _____

DATA ____/____/____



SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS
CENEPI/FUNASA/MINISTÉRIO DA SAÚDE
CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA - CVE/SES-SP
CENTRO DE REFERÊNCIA DO BOTULISMO - CR-BOT

FORMULÁRIO 2 - BOTULISMO 1/3

NOME DO SERVIÇO SOLICITANTE _____

NOME DO PROFISSIONAL SOLICITANTE _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE _____ FAX _____

FICHA INDIVIDUAL DE NOTIFICAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DE BOTULISMO

Data ___/___/___

Semana Epidemiológica |___|___|

1. IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Nome do Paciente _____

Data de Nascimento ___/___/___ Idade _____ Sexo _____

Endereço _____ Tel. _____ Ponto de Referência _____

Bairro _____ Município _____ UF _____

Hospital _____

Endereço _____ Tel. _____ FAX _____

Bairro _____ Município _____ UF _____

2. DADOS CLÍNICOS

2.1. SINTOMATOLOGIA CLÍNICA

DATA DO INÍCIO DO PRIMEIROS SINTOMAS ___/___/___ HORA _____

SINAIS E SINTOMAS*

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/>] DIPLOPIA | <input type="checkbox"/>] NÁUSEA |
| <input type="checkbox"/>] VISÃO TURVA | <input type="checkbox"/>] VÔMITO |
| <input type="checkbox"/>] FOTOFOBIA | <input type="checkbox"/>] DIARRÉIA |
| <input type="checkbox"/>] DISFAGIA | <input type="checkbox"/>] CEFALÉIA |
| <input type="checkbox"/>] SECURA DE BOCA | <input type="checkbox"/>] COMA |
| <input type="checkbox"/>] DIFICULDADES DA FALA | <input type="checkbox"/>] OUTROS _____ |
| <input type="checkbox"/>] PARALISIA FACIAL | (ESPECIFICAR) |
| <input type="checkbox"/>] FLACIDEZ DE PÁLPEBRAS | |
| <input type="checkbox"/>] FLACIDEZ DE PESCOÇO | |
| <input type="checkbox"/>] FLACIDEZ DE MEMBROS | |
| <input type="checkbox"/>] CONVULSÕES | |
| <input type="checkbox"/>] AGITAÇÃO PSICOMOTORA | |
| <input type="checkbox"/>] INSUFICIÊNCIA RESPIRATÓRIA | |
| <input type="checkbox"/>] CONSTIPAÇÃO | |

* PREENCHER, SE POSSÍVEL, POR ORDEM DE APARECIMENTO DOS SINAIS E SINTOMAS (1º, 2º, 3º, ETC.).

2.2. EXAMES REALIZADOS - RESULTADOS

ELETRONEUROMIOGRAFIA _____ DATA ___/___/___
PROVAS NEUROLÓGICAS _____ DATA ___/___/___
LÍQUIDO CEREBROESPINAL _____ DATA ___/___/___
OUTROS _____ DATA ___/___/___

3. FONTE DE TRANSMISSÃO**3.1. TRANSMISSÃO ALIMENTAR []:****PRINCIPAL ALIMENTO SUSPEITO** _____[] PRODUÇÃO INDUSTRIAL/COMERCIAL _____
(ESPECIFICAR MARCA, DATA DE VALIDADES, ETC...)

[] PRODUÇÃO CASEIRA _____

DE CONSUMO HABITUAL SIM [] NÃO []**CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS ALTERADAS**
(ODOR, SABOR, PRESENÇA DE GÁS)? SIM [] NÃO []

DATA DE INGESTÃO ____/____/____ HORA DE INGESTÃO _____

TEMPO DE APARECIMENTO ENTRE A INGESTÃO E OS PRIMEIROS SINTOMAS _____

Local de ingestão _____

Endereço _____ Município _____ Ponto de referência _____

REFEIÇÃO SUSPEITA/OUTROS ALIMENTOS SUSPEITOS CONSUMIDOS

NÚMERO DE PESSOAS QUE CONSUMIU O PRINCIPAL PRODUTO SUSPEITO

TOTAL _____

NÚMERO DE PESSOAS COM SINTOMAS _____

OBS: _____**3.2. BOTULISMO INFANTIL []** CAUSAS PROVÁVEIS _____**3.3. BOTULISMO POR FERIMENTOS []** CAUSAS PROVÁVEIS _____**3.4. OUTRAS FORMAS** _____

4. EXAMES LABORATORIAIS ESPECÍFICOS**4.1. Recebeu antitoxina antes da coleta**

SIM []

NÃO []

4.2. Material coletado

Soro [] - Toxina

Data da coleta

_ / _ / _

Resultado

Tipo: _____

Sangue total [] - Toxina

_ / _ / _

Tipo: _____

Fezes [] - Toxina

_ / _ / _

Tipo: _____

Lavado Gástrico [] - Toxina

_ / _ / _

Tipo: _____

Fezes - Isolamento de C. botulinum

_ / _ / _

Tipo: _____

Tecidos - Isolamento de C. botulinum

_ / _ / _

Tipo: _____

Outros [] _____

_ / _ / _

Tipo: _____

(especificar)

Alimentos Resultados _____

LABORATÓRIO QUE FEZ A ANÁLISE _____

5. TRATAMENTO REALIZADO**6. CONCLUSÃO****Caso de Botulismo**

Confirmado []

Forma do Botulismo _____

Tipo de Toxina _____

Se Descartado []

Qual o outro diagnóstico _____

(especificar)

Evolução do caso _____**Se confirmado** laboratorial [] clínico epidemiológico []

Causa/Alimento incriminado _____

7. ACOMPANHAMENTO DO CASO/OBSERVAÇÕES: _____

Data de encerramento do caso ____/____/____

8. INVESTIGADOS POR: _____

UNIDADE DE SAÚDE _____

TEL. _____

MUNICÍPIO/UF _____

DATA DE INVESTIGAÇÃO ____/____/____

INSTRUÇÕES GERAIS E FLUXOS

O **formulário 1** é destinado ao recebimento de notificações de caso suspeito e deve permanecer na unidade de vigilância que recebeu a notificação ou que notificou o CR-BOT. É também o impresso do CR-BOT para anotar o recebimento das notificações e solicitações de orientações e providências.

O **formulário 2** é a **Ficha Individual de Notificação e Investigação de Botulismo**, de cada caso suspeito e investigado e deve ser remetida, pela equipe de Vigilância Epidemiológica que o investigou, por fax (0XX - 11 3082-9359/3082-9395), ou pela Internet, à Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE - Centro de Referência do Botulismo - CR-BOT (site <http://www.cve.saude.sp.gov.br>), no início do caso para informação de dados precoces para discussão clínica e providências, e depois quando encerrado o caso (confirmado ou não) para alimentar o Sistema de Informação e Vigilância do Botulismo.

TABELA 1 - PESQUISA E TIPIFICAÇÃO DA TOXINA BOTULÍNICA NO SORO

Número de Tubos	Volume de Soro (ml)	Volume de Antitoxina* (ml)	Soro Normal ou Tipo de Antitoxina	Volume Aspirado (ml)	Volume injetado no camundongo (ml)
1	1,0	0,0	nenhuma	0,8	0,4
2	1,0	0,25	A	1,0	0,5
3	1,0	0,25	B	1,0	0,5
4	1,0	0,25	E	1,0	0,5
5	1,0	0,25	F	1,0	0,5
6	1,0	0,25	ABCDEF**	1,0	0,5

*Misture a antitoxina com soro e incube 30 a 60 minutos a temperatura ambiente.

** Uma vez que a toxina F é raramente encontrada, a antitoxina trivalente (tipos A, B e E) poderá ser suficiente para confirmar a maioria dos casos de botulismo; e o tubo número 5 (tipo F) pode ser preparado posteriormente se necessário.

TABELA 2 - PESQUISA E TIPIFICAÇÃO DA TOXINA BOTULÍNICA DE EXTRATOS E CULTURA

Número do Tubo	Volume do Extrato/Cultura	Tratamento*	Tipo de Antitoxina	Volume Aspirado (ml)	Volume injetado camundongo
1	1,0	nenhum	nenhuma	0,8	0,5
2	1,0	Aquecer 100 ° C 10 min.	nenhuma	1,0	0,5
3	1,0	0,25 tripsina	nenhuma	1,0	0,5
4	1,0	0,25 antitoxina	A	1,0	0,5
5	1,0	0,25 antitoxina	B	1,0	0,5
6	1,0	0,25 antitoxina	E	1,0	0,5
7	1,0	0,25 antitoxina	F	1,0	0,5
8	1,0	0,25 antitoxina	ABCDEF**	1,0	0,5

* Misture a antitoxina ou tripsina com o espécime e incubar 30 a 60 minutos a temperatura ambiente.

** Como a toxina F é raramente encontrada, um reagente de antitoxina trivalente (tipos A, B, e E) será suficiente para confirmar a maioria dos casos de botulismo, e o tubo número 7 (tipo F) pode ser preparado posteriormente se necessário.

TABELA 3 - TESTE DE NEUTRALIZAÇÃO DE EXTRATOS E CULTURAS TRIPSINIZADAS

Número de Tubos	Volume de material tripsinizado*	Volume de Antitoxina (ml)	Tipo de Antitoxina**	Volume Aspirado (ml)	Volume injetado no camundongo (ml)
1	1,25	0,25	A	1,2	0,6
2	1,25	0,25	B	1,2	0,6
3	1,25	0,25	E	1,2	0,6
4	1,25	0,25	F	1,2	0,6
5	1,25	0,25	ABCDEF	1,2	0,6

* Tripsinização: 6 ml de material de teste + 1,5 ml de tripsina 0,5%; incubar 30 minutos a 37 °C.

**Misturar o material de teste e a antitoxina e incubar 30 minutos a 37 °C.