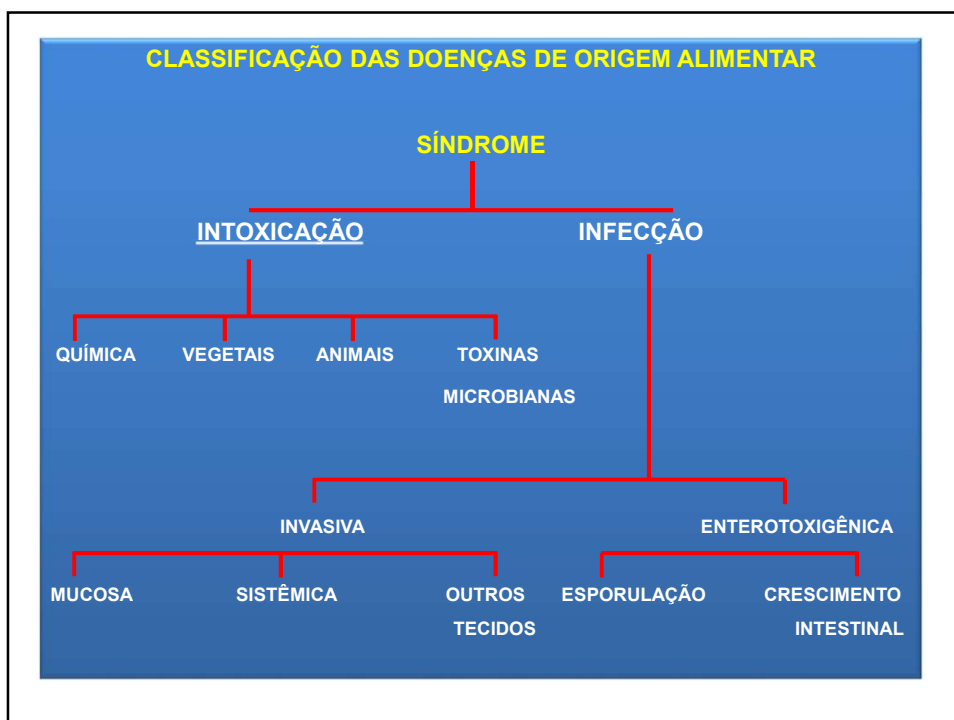
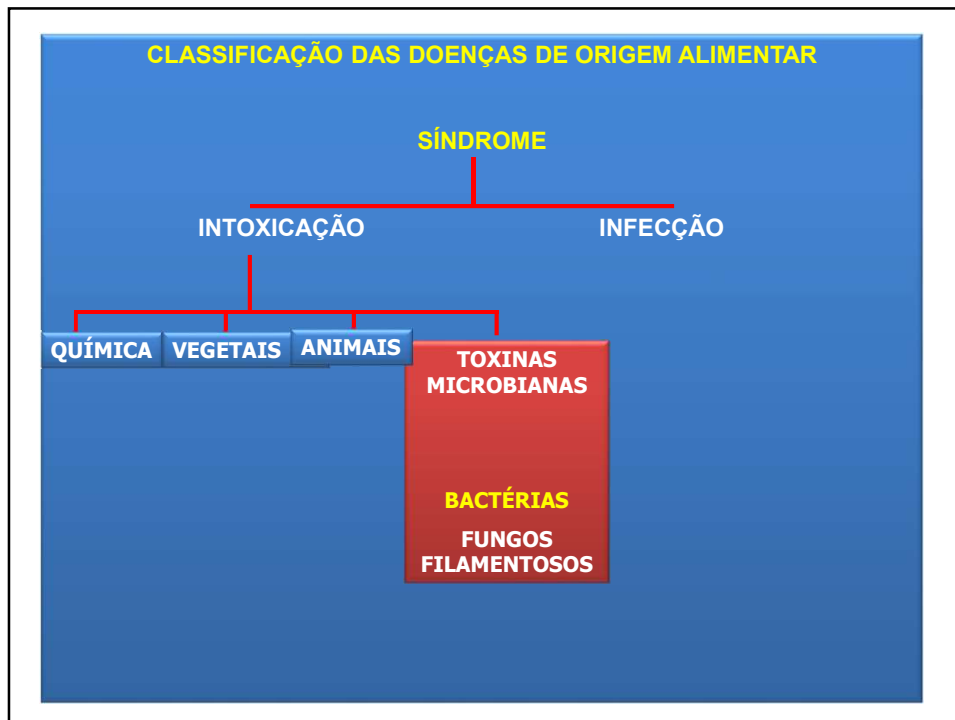
 **Universidade de São Paulo**
Brasil

**FBA 0435 – Enfermidades
Microbianas de Origem Alimentar**

Clostridium

Prof. Uelinton Pinto
Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental
uelintonpinto@usp.br





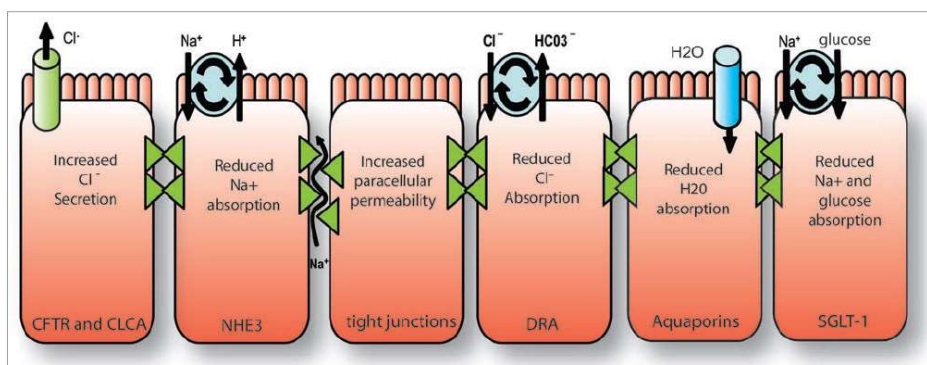
Enfermidades transmitidas por alimentos

- Infecção
 - Ingestão dos micro-organismos e multiplicação no ser humano
 - Febre
 - Período de incubação
 - horas a dias
- Intoxicação
 - Toxina pré-formada no alimento
 - Ausência de febre
 - Período de incubação
 - Minutos a horas, algumas vezes dias
- Toxinfecção
 - Ingestão de grande quantidade de células vivas
 - Esporulação no Trato Intestinal com liberação da toxina
 - Período de incubação - 8-16 h

Exotoxinas – Mecanismos de ação

- Danos na membrana
- Inibição da síntese protéica
- Ativação de mensageiros de vias secundárias
- **Desbalanço de eletrólitos**
- **Inibição da liberação de neurotransmissores**
- Ativação da resposta imune do hospedeiro

Mecanismos gerais que causam diarréia

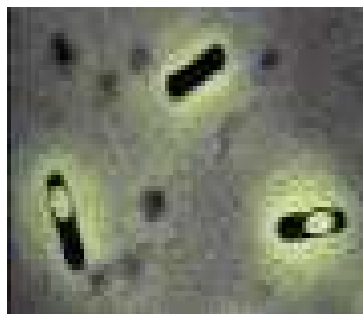
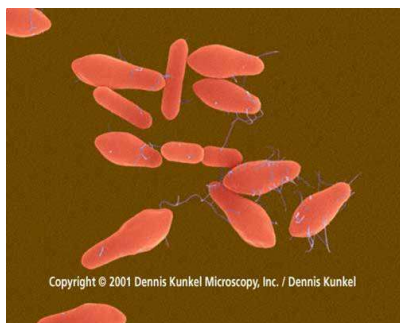


Aumento da secreção ou diminuição da absorção de fluidos e eletrólitos.

CFTR e CLCA são canais de Cl^- , NHE₃ estão envolvidos na troca H^+ e Na^+ . Alterações nas junções apertadas criam um caminho para o fluxo de íons e água.

SGLT-1 transporta glicose e sódio e é a base para re-hidratação oral pelo uso de glicose para aumentar a absorção de sódio.

Intoxicação Botulínica



Agente causador: *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum

Características:

Bastonetes

Gram-positivos

Anaeróbio estrito

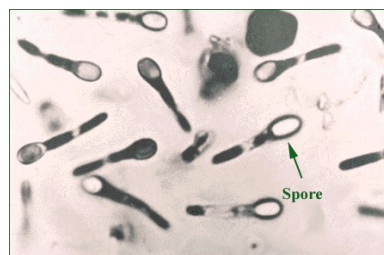
Esporulado

pH de crescimento: 4,5 – 8,5

Aw mínimo para crescimento: ~0,95

➤ **Proteolíticos – hidrolisam proteínas e produzem H₂S**

➤ **Não Proteolíticos**



Fonte: microvet.arizona.edu

Clostridium botulinum

Habitat: Solo, águas profundas e peixes

Toxinas: Neurotoxinas A, B, C, D, E, F e G

Toxinas termosensíveis (10 min a 80 °C, 5 min 100 °C)

Toxina botulínica está entre as substâncias mais tóxicas da natureza - 30 ng podem ser suficientes para matar um indivíduo → BIOTERRORISMO

Fontes e reservatórios

- Solo
 - presente em todo o mundo
 - Tipo A
 - Oeste EUA; China; Brasil, Argentina
 - Tipo B
 - Leste EUA (proteolítica);
 - UK; Europa continental (não proteolítica)
 - Tipo E
 - regiões frias e águas temperadas
 - Tipos C e D
 - regiões mais quentes

Clostridium botulinum

Inicialmente provoca fadiga e fraqueza muscular, tontura, cefaléia, problemas de visão (queda de pálpebra), reflexos alternados da pupila a luz e visão dupla, secura na boca, dificuldade na deglutição e de controle da língua. A musculatura da respiração é progressivamente paralisada, podendo provocar morte em 3 a 5 dias (parada respiratória).

Sintomas: Distúrbio digestivo, náuseas, vômitos, dores de cabeça, fadiga, visão dupla, fotofobia, dificuldade de falar e engolir, paralisia facial progressiva, asfixia.

NÃO HÁ FEBRE E A PESSOA NÃO PERDE CONSCIÊNCIA.

Período de Incubação: 12 a 36 horas

Mortalidade: Pode ocorrer entre 3 e 6 dias

Em 1949: 60%

Atualmente: < 20% → UTI, tratamento de suporte, tratamento específico com soro antitoxinotico

Toxina Botulínica

Termolábil – inativada a 85°C/ 5'

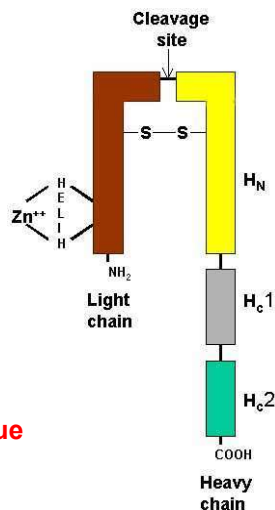
PM 150kDa

Modo de Ação:

Neurotoxina que bloqueia a liberação de Acetilcolina nos terminais nervosos

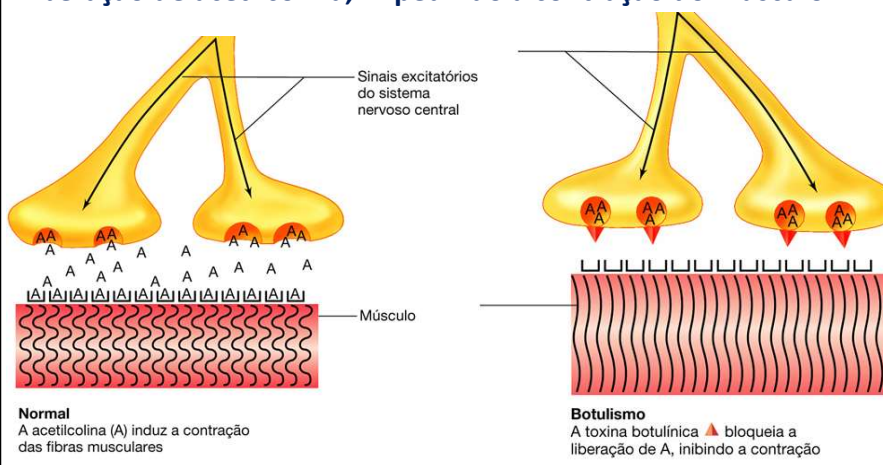
Dano permanente, mas o organismo pode se recuperar fazendo novas terminações nervosas.

Demora de 1 a 12 meses para se recuperar porque precisa fazer novas terminações nervosas.



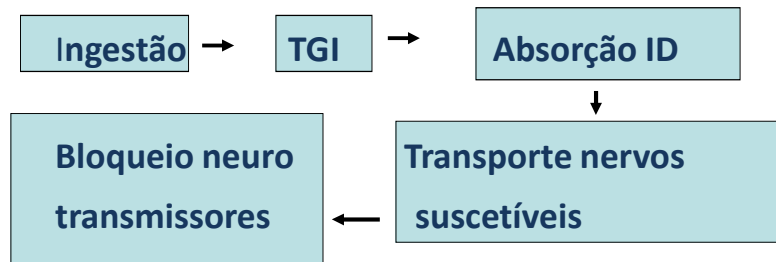
Botulismo

Sintomas: a toxina liga-se às membranas pré-sinápticas nos neurônios motores na junção neuro-muscular, bloqueando a liberação de acetilcolina, impedindo a contração do músculo.



Neurotoxina

- Mecanismo de patogenicidade



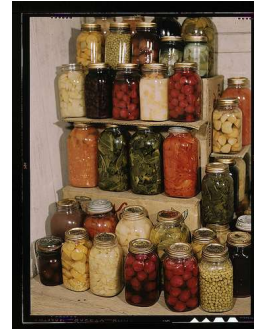
- **5 tipos de botulismo humano**

- Botulismo de origem alimentar
 - Clássico
- Botulismo infantil
- Botulismo de feridas
- Botulismo “oculto”
- Botulismo “inadvertido”

Clostridium botulinum

Alimentos envolvidos:

- **Produtos enlatados de baixa acidez**
- **Conservas caseiras**
 - Vegetais (milho, beterraba, aspargo, cenoura)
 - Embutidos
 - Peixes



Clostridium botulinum

Alimentos envolvidos:

- **Produtos enlatados de baixa acidez**
- **Conservas caseiras**
- **Conservas comercialmente preparadas**
 - Restaurantes
 - Batatas assadas
 - Molho de queijo
 - Oleo de alho

Clostridium botulinum

Alimentos envolvidos:

- **Produtos enlatados de baixa acidez**
- **Conservas caseiras**
- **Conservas comercialmente preparadas**
 - Alimentos procesados
 - com pH >4,6
 - » Suco de cenoura – (USA 2006)
 - » “Nachos to go” – Australia (2007)
 - » “Hot dog chili sauce” – USA (2007)
 - Falha no tratamento térmico
 - Produção parada por meses
 - Recall de grande quantidade de produto



Clostridium botulinum

Alimentos envolvidos:

- **Produtos enlatados de baixa acidez**
- **Conservas caseiras**
- **Conservas comercialmente preparadas**
 - Alimentos procesados
 - com pH >4,6
 - com acidificação inadequada (2007)
 - » Baby food - USA
 - » Azeitonas italianas - recall

Botulismo em São Paulo

– Alimentos:

- Palmito industrializado (3, sendo 2 importados da Bolívia)
- Alimento não identificado consumido em bar ou restaurante (1)
- Conserva industrializada de tofu, importada da China (1 surto, 4 afetados, 1 óbito)
- Tortas de frango com requeijão/ palmito/ ervilha, etc compradas em padarias/ rotisseria (5 surtos, 7 afetados)
- Conserva caseira de peixe (1)
- Conserva caseira de jiló comercializada (4 afetados, 2 óbitos)

http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_estat.html

Consulta 06/03/14

Botulismo Infantil

- ✓ **Crianças menores do que 1 ano de idade**
- ✓ **Ingestão de poucas células ou esporos**
- ✓ **Produção da toxina no organismo humano**

Inicialmente ocorre constipação seguida dos sinais neurológicos – choro fraco, hipoatividade, paralisias bilaterais descendentes seguidos de paralisia respiratória.

Dura de 2 a 6 semanas com instalação progressiva dos sinais e sintomas. Mel pode ter esporos do *Clostridium* e a toxina não é produzida no alimento e sim no interior do organismo da criança.

- **Aproximadamente 100 casos são reportados por ano, nos EUA**

- **25% intoxicação alimentar**
- **72% botulismo infantil**
- **3% botulismo de ferida**



No Brasil – entre 1999 e 2011 (MS-SVS)

68 casos confirmados

66 intoxicação alimentar (97%)

1 bolulismo infantil

1 botulismo de ferida



Botulismo de ferida

Quadro sintomatológico semelhante ao botulismo alimentar

Pode haver febre

Não se identifica uma fonte alimentar

Ferimentos ou cicatrizes

Usuário de drogas intravenosas



botulismo "oculto" ("hidden")

- Botulismo de colonização intestinal
- Adultos com sintomas semelhantes ao botulismo infantil
- Pacientes com anormalidades no TGI

Uso Cosmético da Toxina Botulínica

- **Botox** foi aprovado pela FDA para uso cosmético em abril de 2002



Sadick, N. and A.R. Herman (2003). "Comparison of Botulinum Toxins A and B in the Aesthetic Treatment of Facial Rhytides." *Dermatologic Surgery* 29:340-347.

botulismo "inavertido" ("inadvertent")

– Uso terapêutico do "botox"

» Toxina 200x + potente do que o aprovado

FDA: Unapproved use of Botox carries botulism risk

WASHINGTON (AP) — Health officials warned doctors and patients Thursday about potentially deadly risks of using the anti-wrinkle drug Botox and similar drugs for unapproved uses to treat certain types of muscle spasms.

The Food and Drug Administration said Botox and two other injections carry risks of rare botulism symptoms, particularly when given to children to help ease uncontrollable muscle movements.

While Botox is best known for clearing wrinkles by paralyzing facial muscles, the botulinum-based drug also is widely used for muscle-spasm conditions. In rare cases, the toxin can spread beyond the injection site to other parts of the body, paralyzing or weakening the muscles used for breathing and swallowing, a potentially fatal side effect. Signs of botulism can appear just hours after injection and include difficulty swallowing or



- **7 tipos sorológicos**

- A a G

- A, B, E

- causam doenças em humanos

- 98,5% dos casos

- C (C₁, C₂), D e F

- Botulismo animal

- Raramente associados a botulismo humano

- G

- 1 único caso relatado de ligação com doença

- Sonnabend et al., 1981

- Outros gêneros de *Clostridium* também podem produzir neurotoxina botulínica.

- *C. butyricum*: Tipo E (30 casos na Índia em 1998)

Espécie dividida em 4 grupos
baseados em diferenças fisiológicas

Característica	I	II	III	IV
	Importante aliment envasac	Importan alime refriger	III	Importante para aves e outros animais
Neurotoxina	A, B, F	B, E, F	C.	
Temp _{min}	10	3,3	<i>argentinense</i>	
Temp _{ótima}	35-40	18-25	40	37
Resist. Térmica (D ₁₀₀)	25'	0,1'	Interm.	≈ III
[NaCl] inib	10	5	nd	nd
a _w min	0,94	0,97	nd	nd
Proteolítico	+	-	-	?

Fonte: Dodds & Austin, 1997

Tratamento

Neutralizar a toxina com soro antitoxinico (mais efetivo nas primeiras 48 h)

Remoção da toxina do intestino e do estômago

Internação em UTI (Unidade de Terapia Intensiva) e rigoroso monitoramento das funções vitais dos pacientes.

Medidas preventivas

- Destruição do esporo

Tratamento térmico (esterilização)

Irradiação

- Impedir a germinação dos esporos ou proliferação das células vegetativas

pH<4,5

Refrigeração/congelamento

Conservantes (nitritos/nitratos)

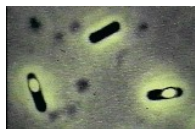
- Inativação da toxina (fervura 15')

→ não dar mel a crianças menores de um ano e pacientes em tratamento prolongado com antibióticos ou drogas imunossupressoras!

Métodos de detecção

- Detecção baseada nos sintomas clínicos – diferenciação de outros distúrbios é difícil (síndrome de Guillain-Barre).
- In vivo - Teste laboratorial (mouse neutralization test) para a presença da toxina no soro, fezes, secreção gástrica do paciente, alimentos consumidos. Teste de neutralização em camundongo – injeção de soro e observação de sinais de botulismo. Aplicação de antitoxina para confirmar o tipo.
- In vitro - Teste ELISA

Toxinfecção por *Clostridium perfringens*



Muito comum nos EUA

Surtos são grandes, normalmente refeições institucionais

Casos: > 900 mil por ano nos EUA

Entre as bactérias é a segunda maior causadora de DTAs

Causa principal: preparo do alimento com muita antecedência/T°C

Intoxicação por *Clostridium perfringens*

Características:

Bastonetes encapsulados, não móveis

Gram-positivos

Anaeróbio (porém tolera exposição ao ar)

Esporulado

Encapsulados e imóveis

Aw mínima 0,95. para esporular 0,98

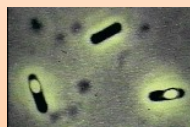
Temperatura de crescimento: 20°C – 50°C (ótima de 37 a 47°C)

Tempo de geração

8-10' em temperatura ótima

Esporulação entre 35 e 40°C

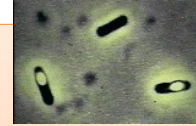
Temperaturas de 70 a 80°C podem induzir a germinação dos esporos



Clostridium perfringens

Resistência térmica do esporo

depende do ambiente
depende de fatores genéticos



Ambiente mais protetor

carne cozida
esporos sobrevivem a fervura por 1h ou +
D100°C varia entre 30 and 124 min

Toxinfecção

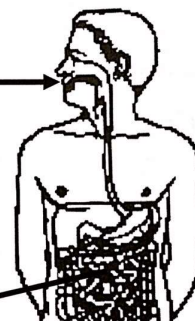
Aquecimento insuficiente → esporo germina → Alimento mantido quente permite crescimento de um alto número de células

“food service germ”

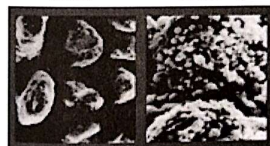
Clostridium perfringens Food Poisoning

Vegetative *cpe*⁺
C. perfringens

Food Source



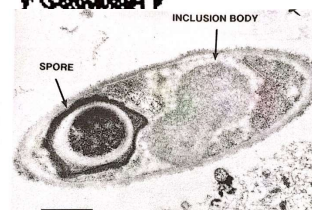
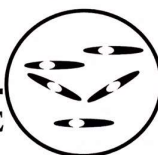
INTESTINAL VILLI
CPE - CPE +



DIARRHEA and CRAMPS

CPE

Sporulation of
C. perfringens



Toxina

- Produção codificada pelo gene *cpe*
 - Cromossomal (maioria dos surtos)
 - Plasmidial
 - Apenas 5% dos isolados possuem o gene
 - Expressão correlacionada com esporulação
 - Normalmente não é produzida em alimentos
 - Termolábil (inativada em temperaturas acima de 60°C)

Toxina - Modo de ação

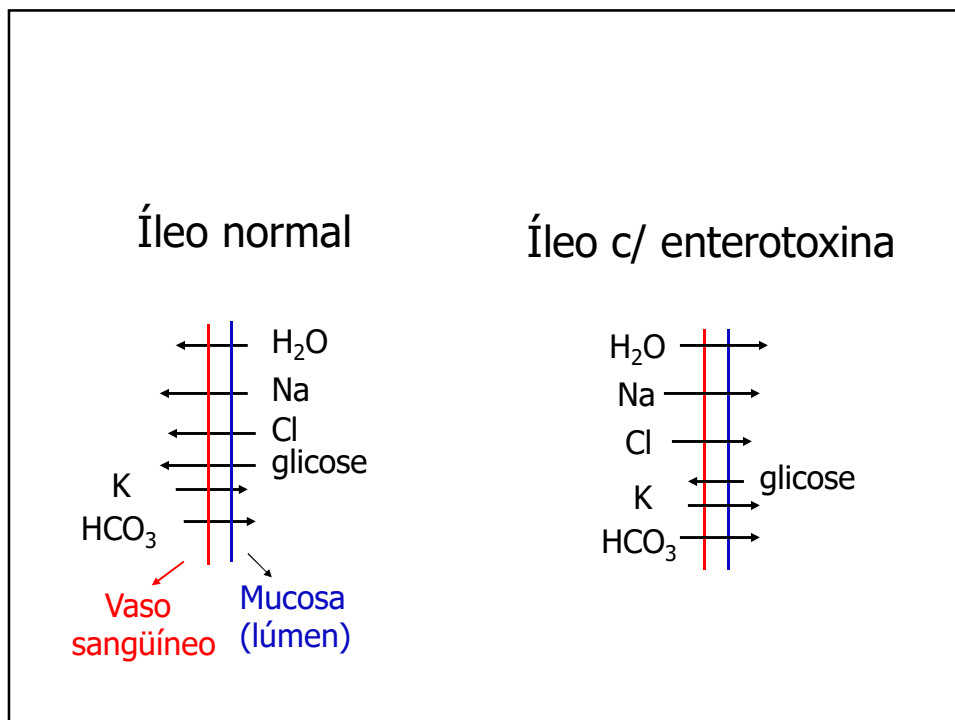
Ligação toxina – extremidade das células epiteliais do intestino delgado (ligação irreversível)



Internalização



Alteração da permeabilidade da membrana (formação de poros)



Clostridium perfringens

Habitat: amplamente distribuído na natureza, solo água, trato intestinal de homens e animais.

- 5 tipos de toxinas

Tipo	Tox(s) prod(s)	Enterotoxina	enterite necrótica
A*	α	+	-
B	$\alpha, \beta, \varepsilon$	+	-
C \blacklozenge	α, β	+	+
D \blacklozenge	α, ε	+	-
E	α, γ	+	-

*** principal causador de toxi-infecção**

\blacklozenge alguns surtos já relatados

Enterite necrótica é a forma mais grave

Clostridium perfringens

- MECANISMO DE PATOGENICIDADE

Enterotoxina forma-se durante processo de esporulação

Toxinfecção alimentar: ingestão de alimentos contendo grandes quantidades de *C. perfringens* → esporulam no intestino delgado, liberando enterotoxina

Toxina termolábil – destruída a 60°C por 10 minutos

Enterite necrótica ou Pigbel (doença rara)

dor abdominal aguda, diarréia sanguinolenta, vômitos, choque e peritonite (inflamação necrótica do intestino delgado)

Adesão da bactéria às células da parede intestinal

↓
produção de toxina β (estirpe tipo C)
(necrotizante)

↓
necrose

↓
gangrena ID

↓
choque
Morte ←
15-25% de taxa



Clostridium perfringens

Sintomas da gastroenterite: Diarréia, Dor abdominal severa, gases.

Vômito e febre são raros

Duração dos Sintomas: 12 a 24 h (até 2 dias)

Período de Incubação: 8 a 22 horas

**Mortalidade: Baixa < 0,1%
Autolimitada**

Tratamento

Hidratação oral ou venosa dependendo da gravidade do caso.

Antibióticos e outras medidas de suporte nos casos graves com septicemia e enterite necrotizante

Medidas preventivas

→ Treinamento dos manipuladores de alimentos e educação das donas de casa

Alertar sobre?

- Riscos de preparo de alimentos em larga escala
- Temperaturas para o reaquecimento ($T^{\circ}\text{C}$ interna de pelo menos 70°C , preferivelmente $> 75^{\circ}\text{C}$) →
- Riscos de permanência do alimento em temperatura ambiente e do resfriamento lento (estocagem ideal abaixo de 4°C ou acima de 60°C).
- Necessidade de refrigeração imediata das sobras, dentre outros aspectos.

Surtos e recalls

ms.com/2015/01/temperature-abuse-and-clostridium-fear-brings-salami-recall/#.Vub_WPkrKM8

ms.com/2015/01/temperature-abuse-and-clostridium-fear-brings-salami-recall/#.Vub_WPkrKM8

PEÇAS P/ DUCATO, S
Ligue (11) 5012-01416/D55*1*52959 Peças

Food Safety News
Breaking news for everyone's consumption

Home Foodborne Illness Outbreaks Food Recalls Food Politics Events Subscribe About Us Directory

'Temperature Abuse' and Clostridium Fear Brings Salami Recall
From state inspected plant

STYNEWS DESK | JANUARY 31, 2015

About 2,863 p product may b

No illnesses b 14, 2014.

The following

- Approx COOKED

The salami sal Shipment mas Cooperative Interstate Shipment (CIS) program.


Under CIS, state-inspected plants can operate as federally inspected facilities, under specific conditions, and ship their product in interstate commerce and internationally.

Sell By dates for the recalled product range from Mar. 16, 2014, to Mar. 29, 2015. The product was shipped to retail locations in Florida, New York, and Massachusetts.

The problem was discovered by the establishment during an internal records review which showed the product had reached an unsafe temperature during the cooling process.

your partner in food safety

More than **25,000** people follow Food Safety News on Twitter.



Surtos e recalls

Food Safety News

Breaking news for everyone's consumption

Home | **Foodborne Illness Outbreaks** | Food Recalls | Food Politics | Events | Subscribe | About Us | Directory

More than 300 Sickened at Missouri Wedding

BY NEWS DESK | MAY 15, 2014

More than 300 people were sickened with Clostridium perfringens from a April 5 wedding in Sullivan, MO, according to the Franklin County Health Department.

Health officials told The Missourian that the cause was gravy that took too long to cool down, allowing the bacteria to grow and emit toxins.


Hours after the wedding, guests were stricken with abdominal cramps and diarrhea.

After food and stool samples tested negative for Norovirus, the state lab sent the samples to the U.S. Centers for Disease Control and Prevention, which confirmed the presence of Clostridium perfringens.

The health department inspected the caterer's facility but found it clean, and no food poisoning resulted from the caterer's other event the same day. Ultimately, the caterer was not penalized but educated about proper cooking processes.

About 750 people attended the event.

© Food Safety News
[More Headlines from Foodborne Illness Investigations »](#)

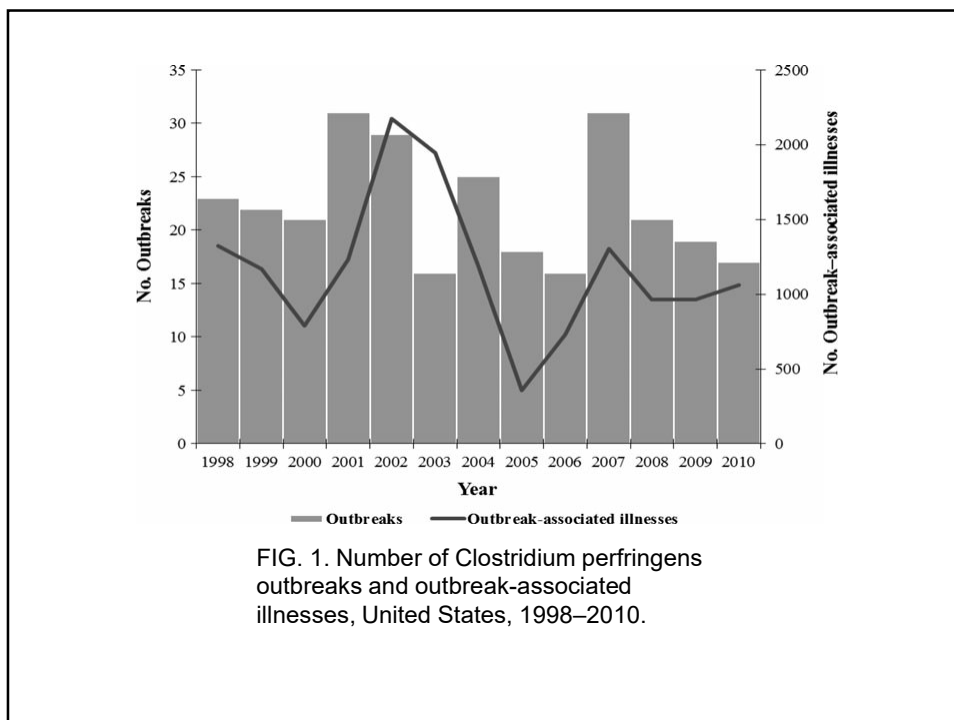


Food Safety Solutions

SEARCH outbreakdatabase.com

Outbreak

Contact Us | Subscribe for Free via Email or RSS | Like Food Safety News on Facebook | Follow Food Safety News on Twitter | Connect with Food Safety News on LinkedIn



Bibliografia

- Doyle et al. **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. 2nd ed., Washington, DC, ASM., 2007.
- Franco, B. D. M.; Landgraf, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2007. 170p.