Desde já, os autores vêm por este meio agradecer a vossas excelências os comentários efectuados ao artigo submetido para revisão, salientando a pertinência das mesmas. De seguida, passaremos à realização das alterações sugeridas por vossas excelências.

**Revisor A Comentário 1**

Foi efectuada uma revisão clara e didática a partir de um caso clínico de uma patologia pouco identificada no nosso País, ficando sem se saber se a sua raridade nas notificações é real ou é apenas o resultado do não diagnóstico por não se pensar nela habitualmente. De qualquer forma, esta revisão vem em excelente altura para alertar os colegas da existência desta entidade nosológica de alta mortalidade, mas tratável se diagnosticada em tempo útil.

Chamo a atenção dos autores para "gralhas" ortográficas ou de tradução, das quais a mais grave (e repetida ao longo do texto e até no Resumo) é a tradução de "anti-botulinum toxin" por "toxina anti-botulínica". Não é - a tradução correcta é "anti-toxina botulínica" - o que como é óbvio muda completamente o significado.

Resposta:

Efectivamente, trata-se de um erro de tradução da expressão ‘*anti botulinum toxin*’ que foi mantido ao longo do artigo. Assim, os autores procedem à revisão do mesmo, substituindo a expressão ‘*toxina anti-botulínica*’ por ‘*anti-toxina botulínica*’.

Os autores procederam à substituição desta expressão no resumo, apresentação do caso clínico e na discussão, tal como está especificado a seguir.

‘*Resumo:*

*O tratamento com soro* ***anti-toxina botulínica*** *é o único eficaz. Os autores apresentam o caso de uma doente de 64 anos, com quadro de vómitos e vertigem, com evolução para diplopia, disfagia e parésia muscular flácida, simétrica e descendente, com instalação após ingestão de conserva alimentar de fabrico caseiro. Do estudo etiológico salienta-se Electroneuromiograma com lesão pré sináptica compatível com hipótese de botulismo. Melhoria progressiva dos défices após administração de soro* ***anti-toxina botulínica.***

*Caso Clínico:*

*Neste contexto é colocada a hipótese de botulismo sendo-lhe administrado soro* ***anti-toxina botulínica*** *com melhoria progressiva da sintomatologia apresentada. Não houve necessidade de VMI durante o internamento na UCI.*

*Discussão/Conclusões:*

*O tratamento com soro* ***anti-toxina botulínica*** *é o único tratamento específico para esta doença. Permite evitar a progressão da paralisia, diminuição da duração da mesma e a dependência de VMI.*

*Apresentamos o caso de uma doente com diagnóstico provável de botulismo. Apesar da pesquisa de toxina botulínica ter sido negativa, a história clínica, a sintomatologia da doente, a boa resposta ao tratamento com soro* ***anti-toxina botulínica*** *e a lesão pré sináptica evidenciada no Electroneuromiograma corroboram esta hipótese de diagnóstico. Salienta-se que, apesar de introdução tardia de soro* ***anti-toxina botulínica****, a doente teve evolução favorável após a administração da mesma.’*

**Revisor A Comentário 2**

Também penso que seria importante lembrar que o botulismo e a sua toxina são um dos mais importantes agentes de bioterrorismo (com inclusive ataques documentados) e está classificado como Agente categoria A pelo CDC, como bem explicado em "Emergency Preparedness and Response" Update August 17, 2017, em <http://emergency.cdc.gov/agentlist-category.asp>, e também em

<http://emergency.cdc.gov/bioterrorism/factsheets.asp>

Resposta:

De acordo com os dados citados nas referencias acima mencionadas, constatamos que o *Clostridium botulinum e* a sua toxina são considerados pelo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) de Atlanta um importante agente biológico potencialmente usado em bioterrorismo. De acordo com este organismo, o *Clostridium botulinum* é considerado um agente categoria A (juntamente com agentes como o *Bacillus anthracis*, a *Yersinia pestis*, a *Variola major*, a *Francisella tularensis* e os vírus das febre hemorrágicas), ou seja, encontra-se entre os agentes que representam risco elevado para a Segurança Nacional dado poderem ser facilmente disseminados, causar elevada taxa de mortalidade, causar pânico na sociedade ou necessitar de medidas especiais de controlo de saúde pública para os quais o sistema pode não estar preparado (por exemplo pela baixa disponibilidade de soro anti-toxina botulínica disponível). Estima-se que uma grama desta toxina libertada de modo intencional via aerossol, poderia ser responsável pela morte de cerca de um milhão de pessoas. Devido a estas características, a toxina botulínica foi estudada no século XX em programas de armas biológicas de vários países nomeadamente Japão, Rússia e Estados Unidos da América. No entanto, em 1972 a Convenção Internacional de Armas Biológicas e Toxinas, proibiu a produção da mesma, mas admite-se que ela continua a ser produzida em alguns países. Inclusivé, estão documentadas acções criminosas utilizando esta toxina em bases militares do Japão nos anos de 1990 e 1995 por parte de grupos terroristas.

Assim, os autores, optaram por introduzir no manuscrito um parágrafo referente a este assunto, bem como actualizar a bibliografia utilizada.

‘*Introdução:* ***Salienta-se que o Clostridium botulinum e a sua toxina são considerados pelo Centers for Disease Control and Prevention de Atlanta um importante agente biológico potencialmente usado em bioterrorismo. De acordo com este organismo, este microorganismo é considerado um agente categoria A, ou seja, agente que representa risco elevado para a Segurança Nacional dado poder ser facilmente disseminado, causar elevada taxa de mortalidade, pânico na sociedade ou necessitar de medidas especiais de controlo de Saúde Pública para os quais o sistema pode não estar preparado, estando inclusivé documentadas acções criminosas utilizando esta toxina em bases militares japonesas.7,8***’

**Revisor A Comentário 3**

Finalmente, penso que também se poderia efectuar o paralelo entre o Clostridium botulinicum, a sua toxina e a doença que provoca - botulismo, com o Clostridium tetani, a sua toxina e o tétano.

Resposta:

De facto, constata-se que o Clostridium, sendo um agente ubiquitário apresenta diversas espécies potencialmente responsáveis por doença grave e muitas vezes fatais. Destas, os autores optam por salientar o *Clostridium difficile*, agente constante na normal flora intestinal do organismo humano, mas responsável por diversos surtos de doença grave particularmente em ambiente hospitalar. Associadamente, salientamos também o *Clostridium tetani* como agente presente no meio ambiente, com elevada capacidade de sobrevivência e causador de doença rara mas na quase totalidade dos casos descritos, invariavelmente fatal.

Deste modo, os autores introduzem um apontamento neste tópico ao manuscrito submetido.

‘*Discussão/Conclusões:*

*Salientamos ainda o facto do Clostridium ser um microorganismo ubiquitário, com diversas espécies potencialmente causadoras de doença grave, particularmente pela produção de toxina como é o caso de Clostridium botulinum e Clostridium tetani, este último, um agente com elevada capacidade de sobrevivência e causador de doença rara mas quase sempre invariavelmente fatal.’*

**Revisor B Comentário 1**

Os autores descrevem um caso clínico de botulismo de origem alimentar, tentando integrar os dados obtidos com a epidemiologia atual desta doença de origem alimentar em Portugal. O artigo versa um tema relevante para a prática clinica, sendo um exemplo prático de um caso de botulismo, eventualmente associado ao consumo de conservas de fabrico caseiro, permitindo alertar os profissionais de saúde (médicos e outros) para a ocorrência desta doença grave em Portugal.

O artigo está escrito de forma clara e os dados descritos são relevantes para o melhor conhecimento dos casos de botulismo de origem alimentar em Portugal. No entanto, apresento alguns comentários e/ou sugestões aos autores:

Comentários major:

- Descrição do Caso: Uma vez que os autores apontam o consumo de conservas caseiras como estando na origem do caso descrito sugeria que fossem incluídos todas as metodologias efetuadas e os dados obtidos para avaliação da ingestão alimentar do paciente e do agregado familiar, assim como se foram efetuadas colheitas de amostras dos alimentos e efetuada a pesquisa de toxinas botulínicas. Caso não tenha sido efetuada a análise microbiológica do alimento (o que daria mais evidência ao caso clínico) sugeria que fosse colocada uma frase nas conclusões sobre este aspeto.

Resposta:

De facto foi realizado inquérito epidemiológico à doente para apurar eventual consumo de alimentos potencialmente contaminados com toxina de *Clostridium botulinum*, apurando-se como fonte provável de contaminação a ingestão de uma omelete confeccionada com conserva de cogumelos caseiros congelados. A doente residia sozinha pelo que não havia risco de infecção concomitante no agregado familiar. Apesar deste facto, foi realizado inquérito epidemiológico aos contactos próximos (irmã, sobrinha e vizinha) e avaliação clínica dos mesmos para exclusão de doença. Infelizmente, não nos foi possível realizar análise microbiológica do alimento suspeito dado o mesmo já não se encontrar disponível.

Assim, os autores, clarificaram este ponto da seguinte forma.

‘*Caso Clínico:*

*Neste momento é feita revisão da história clínica,* ***com inquérito epidemiológico à doente que residia sozinha e aos contactos próximos (irmã, sobrinha e vizinha)****, apurando-se ingestão de omelete confeccionada com conserva de cogumelos caseiros congelados cerca de uma semana antes do presente internamento.*

*Do restante estudo etiológico realizado realça-se Electroneuromiograma e Potenciais Evocados dos membros superiores que evidenciaram lesão pré sináptica da junção neuromuscular compatível com hipótese de botulismo. A pesquisa de toxina botulínica no sangue e nas fezes foi negativa.* ***Não foi possível realizar análise microbiológica do alimento suspeito dado o mesmo já não se encontrar disponível.***

*Discussão/Conclusões:*

*Salienta-se que, apesar de introdução tardia de soro anti-toxina botulínica, a doente teve evolução favorável após a administração da mesma.* ***A possibilidade de realizar análise microbiológica do alimento suspeito teria trazido um importante contributo no diagnóstico definitivo desta patologia, mas, tal não foi possível.*** *Com este caso pretendemos salientar a importância da suspeição clínica em fase precoce de uma patologia potencialmente fatal, com manifestações típicas e bem caracterizadas mas cujo diagnóstico é muitas vezes negligenciado dada a baixa incidência da mesma no nosso país.*’

**Revisor B Comentário 2**

Comentários major:

- Descrição do Caso: Quando for referida a “pesquisa de toxina botulínica” nas amostras (sangue, fezes, alimento) deve ser incluída a metodologia utilizada e as toxinas pesquisadas.

Resposta:

De acordo com informações do Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge para onde foram enviadas as amostras, as toxinas pesquisadas foram as toxinas A, B, E e F após inoculação de soro em ratinhos.

Assim os autores introduziram esta informação no manuscrito.

‘*Caso Clínico:*

*A pesquisa de toxina botulínica* ***(A, B, E e F por inoculação em ratinho)*** *no sangue e nas fezes foi negativa.*’

**Revisor B Comentário 3**

Comentários major:

- Descrição do Caso: Incluir para que toxinas tinha atividade o soro anti toxina botulínica descrito no tratamento aplicado ao paciente.

Resposta:

De acordo com as informações do fabricante (Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH) o soro utilizado possuía actividade contra as toxinas A, B e E.

Assim, os autores complementaram o manuscrito com esta informação.

‘*Neste momento é feita revisão da história clínica, com inquérito epidemiológico à doente que residia sozinha e aos contactos próximos (irmã, sobrinha e vizinha), apurando-se ingestão de omelete confeccionada com conserva de cogumelos caseiros congelados cerca de uma semana antes do presente internamento. É colocada a hipótese de botulismo sendo-lhe administrado* ***soro anti toxina botulínica (com actividade contra as toxinas A, B e E)*** *com melhoria progressiva da sintomatologia apresentada. Não houve necessidade de Ventilação Mecânica Invasiva durante o internamento na Unidade de Cuidados Intensivos*’.

**Revisor B Comentário 4**

Comentários major:

- As referências bibliográficas devem ser mais atuais (nomeadamente incluir artigo de revisão recente sobre botulismo) e devem incluir um dos Relatórios recentes da EFSA (European Food Safety Authority) sobre doenças de origem alimentar, incluindo os dados mais recentes sobre o número de casos e surtos de botulismo registados na Europa, incluindo Portugal (exemplo: EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016;14(12):4634, 231 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4634). Os dados são apresentados na globalidade, mas também por país, pelo que é possível conhecer os dados enviados por Portugal e quais as fontes alimentares mais frequentemente implicadas nesta doença na Europa. Sugeria também consultarem os dados publicados pelo INSA sobre botulismo em Portugal (exemplo: Investigação laboratorial de surtos de toxinfeções alimentares, 2015;

<http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/4130/3/observacoesNEspecia8-2016_artigo9.pdf>)

Resposta:

Revendo a literatura, os autores optaram por acrescentar ao manuscrito alguns artigos mais recentes como os artigos (Desta, S, Melaku, M. Abdela, N., ‘Botulinum Toxin and Its Biological Significance: A Review’, Austin J Vet Sci & Anim Husb 3(1): id1021 (2016) e Carrillo-Marquez, M., ‘Botulism’, Pediatrics in Review, May 2016, Volume 37, Issue 5), bem como dados Europeus e Nacionais relativos a esta doença.

No que toca aos dados Europeus, constata-se que em 2015 houve 24 surtos de infecção por toxina de *Clostridium botulinum* que envolveram 60 doentes dos quais 43 com necessidade de hospitalização. Apesar do número de notificações ter vindo a diminuir ao longos doa anos, o número de surtos aumentou e o número de doentes a necessitarem de hospitalização também. Na maioria dos surtos os doentes constituíam um agregado familiar, sendo os alimentos mais frequentemente implicados os alimentos fumados e os enlatados. A toxina mais frequentemente encontrada foi a toxina do tipo B.

No que diz respeito aos dados Nacionais, em 2015 houve registo de 4 surtos de infecção por toxina de *Clostridium botulinum* com afecção de 8 doentes, tendo sido possível a identificação do alimento contaminante em 2 dos surtos (presunto e alheira).

Assim, os autores introduziram um pequeno apontamento relativo aos dados Nacionais e Europeus e actualizaram a Bibliografia utilizada.

‘*Discussão/Conclusões:*

*Botulismo alimentar é uma doença rara na Europa e no nosso país* ***(60 casos registados na União Europeia, dos quais 8 em Portugal em 2015)11,12****, resultando da ingestão de alimentos contaminados com toxina botulínica. No entanto, o regresso a tradições antigas, tem levado ao aumento de casos registados, revelando-se as conservas caseiras e o fumeiro* ***(de acordo com dados Nacionais, os alimentos mais frequentemente implicados são o presunto e a alheira)12*** *a principal fonte de contaminação.1,3,5,10 Na maioria dos casos, não há alteração das características dos alimentos contaminados.3*

*Bibliografia:*

*1 - Sobel J. Botulism. Food Safety. CID 2005:41 (15 October). 1167.*

*2 - Espelund M, Klaveness D. Botulism outbreaks in natural environments - an uptodate. Frontiers in Microbiology. June 2014. Volume 5. Article 287.*

*3 - Cereser N, Costa M, Júnior O, Silva D, Sperotto V. Botulismo de origem alimentar. Ciência Rural. Santa Maria, v.38,n.1,p.280-287, jan-fev, 2008.*

*4 - International Programme on Chemical Safety Poisons Information Monograph 858 Bacteria. World Health Organization, February 2002.*

*5 - Brola W, Fudala M, Gacek S., Gruenpeter P. Food-borne botulism: still actual topic. BMJ Case Rep. 2013. doi:10.1136/bcr-2012-007799.*

*6 - Almasqué I. Relembrar o botulismo. Medicina Interna. Vol.5, N.1, 1998*

***7 - Emergency Preparedness and Response" Update August 17, 2017***

***8 -*** [***http://emergency.cdc.gov/bioterrorism/factsheets.asp***](http://emergency.cdc.gov/bioterrorism/factsheets.asp)

***9 - Desta, S, Melaku, M. Abdela, N. Botulinum Toxin and Its Biological Significance: A Review. Austin J Vet Sci & Anim Husb 3(1): id1021 (2016)***

***10 - Carrillo-Marquez, M. Botulism. Pediatrics in Review, May 2016, Volume 37***

***11 - The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016;14(12):4634***

***12 - Viegas, S. et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2015. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2015*’**

**Revisor B Comentário 5**

Comentários major:

- Conclusões: Caso não tenha sido efetuada a análise microbiológica do alimento (o que daria mais evidência ao caso clínico) sugeria que fosse colocada uma frase nas conclusões sobre este aspeto. Adicionalmente, sugeria um comentário da opinião dos autores relativamente à falta de registos/dados nacionais de botulismo, o que também leva ao desconhecimento desta doença.

Resposta:

Tal como referido num dos comentários anteriores, o alimento suspeito de fonte de contaminação, não estava disponível para análise o que daria maior evidência ao caso clínico.

No que toca os dados disponíveis a nível nacional, e apesar do botulismo ser uma doença de Declaração Obrigatória, na maioria das vezes, os casos suspeitos ou confirmados não são notificados, baseando-se as estatísticas em dados de análises realizadas em Institutos Nacionais, nomeadamente no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Associámos então à discussão/conclusão o seguinte tópico.

‘*Discussão/Conclusões:*

*Salienta-se que, apesar de introdução tardia de soro anti-toxina botulínica, a doente teve evolução favorável após a administração da mesma.* ***A possibilidade de realizar análise microbiológica do alimento suspeito teria trazido um importante contributo no diagnóstico definitivo desta patologia, mas, tal não foi possível neste caso.*** *Com este caso pretendemos salientar a importância da suspeição clínica em fase precoce de uma patologia potencialmente fatal, com manifestações típicas e bem caracterizadas mas cujo diagnóstico é muitas vezes negligenciado dada a baixa incidência da mesma no nosso país.* ***Na opinião dos autores, apesar do botulismo ser uma doença de Declaração Obrigatória, na maioria das vezes, os casos suspeitos ou confirmados não são notificados, o que faz com que a doença seja ainda menos conhecida do que seria de esperar.*’**

**Revisor B Comentário 6**

Comentários minor:

- Título: sugeria incluir que é um caso clínico, pois como está sugere que seja uma revisão sobre botulismo de origem alimentar.

Resposta:

Os autores concordam com a sugestão do revisor optando por introduzir no título a referencia a caso clínico.

O título passou então a ser o seguinte.

‘*Título - Botulismo alimentar uma doença esquecida -* ***a propósito de um caso clínico***’

**Revisor B Comentário 7**

Comentários minor:

- Introdução: sugeria referir que o botulismo alimentar é a forma mais frequente e que está associado com a ingestão de alimentos contendo uma das toxinas botulínicas, uma vez que o caso clínico parece ter tido esta origem.

Resposta:

Os autores concordam com a sugestão do revisor optando por introduzir na introdução a seguinte referencia.

‘*Introdução -* ***De todas as formas conhecidas, o botulismo alimentar é a forma mais frequente, estando associada à ingestão de alimentos contendo toxina botulínica.*** *Após absorção a toxina é transportada via hematogénia até às terminações nervosas, sem atingimento do Sistema Nervoso Central.*’

**Revisor B Comentário 8**

Comentários minor:

- Clarificar “medicada sintomaticamente”

Resposta:

Os autores introduziram no manuscrito a terapêutica prescrita nesse episódio de alta.

*‘Caso Clínico - Sexo feminino, 64 anos, com História Pessoal de Hipertensão Arterial e Dislipidémia, não medicada. Recorreu pela primeira vez ao Serviço de Urgência (SU) por quadro de vómitos alimentares e vertigens medicada* ***sintomaticamente com beta histina****.*’

**Revisor B Comentário 9**

Comentários minor:

- Clarificar “à admissão encontrava-se hemodinamicamente estável” – foi na 1ª admissão?

Resposta:

Os autores clarificam que esta referencia se refere ao terceiro episódio de vinda ao Serviço de Urgência, episódio do qual resultou internamento e investigação complementar que levou ao diagnóstico de botulismo.

*‘Caso Clínico - À admissão* ***nesta última vinda ao SU*** *encontrava-se hemodinamicamente estável.*’

**Revisor B Comentário 10**

Comentários minor:

- Corrigir “fumeiro principal fonte de contaminação” por “fonte de intoxicação alimentar”

Resposta:

Os autores aceitam a sugestão efectuada e procedem então à alteração do manuscrito.

*‘Discussão/Conclusões - No entanto, o regresso a tradições antigas, tem levado ao aumento de casos registados, revelando-se as conservas caseiras e o fumeiro a* ***principal fonte de intoxicação alimentar.***’