

АНАЛИЗ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ КАК ИСТОЧНИКОВ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ КОНТАМИНАЦИИ СПОРАМИ *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* МЕДА

Парамонов Сергей Геннадьевич

Кандидат биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
sergei.paranonov@pharminnotech.com

ANALYSIS OF ENVIRONMENTAL FACTORS AS SOURCES OF ENVIRONMENTAL RISKS OF CONTAMINATION OF HONEY WITH *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* SPORES

S. Paramonov

Summary. It was revealed that most sources of environmental risks of contamination of honey with *Clostridium botulinum* spores are caused by human economic activities. The risks of contamination of honey with *Clostridium botulinum* spores vary depending on the honey collection area and depend directly or indirectly on a number of environmental factors associated with human agricultural activities in the honey collection area:

- certain types of livestock farming and the use of manure as organic fertilizers;
- use of certain types of pesticides;
- areas of soil not covered with vegetation.

Natural factors include the risk of outbreaks of *C. botulinum* associated with rising air temperatures.

The third group of factors are veterinary and hygienic aspects of the beekeeper's work.

Keywords: *Clostridium botulinum*, environmental risks, honey contamination, agricultural impact on the environment.

Аннотация. Выявлено, что большинство источников экологических рисков контаминации спорами *Clostridium botulinum* меда обусловлены хозяйственной деятельностью человека. Риски контаминации спорами *Clostridium botulinum* меда различаются в зависимости от района сбора меда и прямо или косвенно зависят от ряда факторов окружающей среды, связанных с сельскохозяйственной деятельностью человека в районе сбора меда:

- отдельные виды животноводческой деятельности и использование навоза в качестве органических удобрений;
- применение некоторых видов пестицидов;
- не покрытые растительностью участки почвы.

Среди природных факторов можно выделить риск вспышек распространения *C. botulinum*, связанный с повышением температуры воздуха.

Третья группа факторов ветеринарно-гигиенические аспекты работы пчеловода.

Ключевые слова: *Clostridium botulinum*, экологические риски, контаминация меда, сельскохозяйственное воздействие на окружающую среду.

Введение

Ботулизм можно разделить, в зависимости от пути заражения, на шесть форм. Заболевание может быть естественным образом вызвано приемом предварительно образованного токсина с пищей (пищевой ботулизм), инфицированием раны *Clostridium botulinum*, что приводит к выработке токсина *in situ* (раневой ботулизм), колонизации кишечного тракта младенцев (детский ботулизм) и колонизации кишечного тракта взрослых или детей старше 1 года (кишечная токсемия, ботулизм) [21].

В отношении меда, как источника заражения, имеются сообщения о детском ботулизме [14], [23], [24], [44], [45], а также спорные сообщения о колонизации кишечного тракта взрослых [27]. Описан случай раневого заражения младенца при наружном применении меда [28].

Детский ботулизм, вызываемый *Clostridium botulinum* — редкое заболевание, связанное с особенностями микрофлоры ребенка возрастом до 1 года

(по некоторым данным до 6 месяцев). Тем не менее, заболевание тяжелое, и каждый его случай отдельно регистрируется. С 1976 года было зарегистрировано более 1500 случаев младенческого ботулизма в более чем 15 странах мира [31]. Установленные случаи детского ботулизма связаны с заражением из различных объектов окружающей среды, таких как: пыль, домашние животные, загрязненные продукты питания, в частности мед. Наличие спор *C. Botulinum* в меде, по-видимому, следствие не только нарушения технологии получения, но и экологических факторов, связанных с хозяйственной деятельностью человека [2], [6], [17].

Пчелы (*Apis mellifera*) собирают нектар в радиусе до 4–5 км от пасеки, соответственно факторы окружающей среды в районе сбора прямо или косвенно влияют на риск загрязнения меда.

В нашей работе мы рассмотрим возможные экологические риски, влияющие на вероятность загрязнения спорами *C. botulinum* меда. Мед не является средой для развития *C. botulinum*, но споры в нем длительное время

могут сохраняться, так как этот продукт обычно не подвергается термообработке [1], [37].

Результаты и обсуждение

Обзор исследований загрязнения меда спорами C. botulinum

В Испании [13] *C. botulinum* типа А выявлен в двух пробах (1,1 %), в образцах меда из Казахстана 0,5 % [25]. Распространенность *C. botulinum* показала значительные различия между образцами из Дании, Норвегии и Швеции, пропорции положительных результатов составили соответственно 26 %, 10 % и 2 % [36]. Положительные пробы в финских и импортных образцах в Финляндии составили 8 (7 %) и 12 (16 %) соответственно [26]. До 25 % медовых продуктов в США содержат споры *Clostridium botulinum* [9], [16]. В Бразилии (Сан-Паулу) — 3 % (3/100) [40].

В Японии о выявлении *C. botulinum* сообщалось дважды: 8,5 % исследованных образцов [33], 30,6 % (11/36) [34], что описывается как эксцесс. Из 100 проверенных образцов меда Ирана (рынки города Шираз) в 2 % были обнаружены споры (выделяется положительный тип В) [29]. В Турции *C. botulinum* был обнаружен в одной (0,5 %) проанализированной пробе (доставленной из Черноморского региона Турции), а тип токсина был определен как тип А [20]. В другом исследовании в Анкаре споры *C. botulinum* были выделены в 12,5 % образцов (6/48) [38]. В исследовании на юге Украины выявлено 8,3 % [3]. Польский мед представлен тремя исследованиями: уровень загрязнения 8,6 % (6/70) образцов из двух районов Польши [18], 2,1 % (5/240) исследованных образцов меда из 16 воеводств [19], в 21,6 % (22/102) образцов с небольших пасек [49]. В литовском меде в 60 % (30/50) образцов встречаются споры *C. botulinum* [48].

Таким образом, отдельные исследования в разных странах показывают загрязнение *C. botulinum* от 0,5 % до 60 %.

Следует указать, что точность обнаружения спор *C. botulinum* в меде возросла в связи с совершенствованием методик. С другой стороны, ограниченное количество исследованного меда, а также малое количество и неравномерное распределение спор в меде могут быть причиной ложноотрицательных результатов [26].

Пути попадания спор C. botulinum в мед

Мы выделили несколько путей повышенного риска попадания спор *C. botulinum* в мед:

- через растения — источники нектара и пыльцы, на которых работали пчелы;
- через источники воды, используемые пчелами;

- напрямую из почвы с пылью от соседствующих экосистем;
- факторы технологии работы с пчелами на пасеке и отбора меда.

Факторы, связанные с медоносами и агротехникой их выращивания

В исследовании на юге Украины выявлено 8,3 % образцов, загрязненных спорами — 2 (гречишный мед), 1 (мед с кормовых культур) и 1 (подсолнечниковый мед) [3]. В Казахстане *C. botulinum* выделен из гречишного меда [25]. В Литве: в 9 (42,9 %) из 21 пробы полифлорного меда, в 9 (69,2 %) из 13 проб липового меда, в 5 (83,3 %) из 6 проб медвяной росы, в 3 (75 %) из 4 проб падевого меда, в 1 (33,3 %) из 3 проб рапсового меда, в 2 (100 %) из 2 проб гречишного меда и в одном (100 %) образце верескового меда [48]. В Турции, в Анкаре, споры *C. botulinum* были обнаружены в 6 пробах (4 цветочного меда, 1 падевого меда, 1 сотового цветочного меда) [38].

Споры *C. botulinum* наблюдаются на цветках липы (*Tilia* spp.) [4].

Таким образом, в тех исследованиях, где указывается ботаническое происхождение меда, споры *C. botulinum* часто встречались в гречишном меде. Однако для обозначения повышенного риска для этого вида меда данных недостаточно. Вероятно, наблюдаемая контаминация связана сагротехникой выращивания данных медоносов.

Факторы, связанные с агротехникой выращивания медоносов: пестициды и удобрения

Ряд исследований указывает, что отдельные виды пестицидов, например на основе глифосата, изменяют микробиом кишечника пчел, увеличивая ряд патогенных микроорганизмов [5]; [12]; [30]. Напротив, аминотетрациклин, метаболит глифосата, не изменяет кишечный микробиом медоносных пчел, подвергшихся воздействию [5]. В совокупности эти исследования показывают, что сам глифосат, а не последующие его метаболиты, ответственны за изменения в микробиоме кишечника пчел [7].

У домашней птицы патогенные бактерии, такие как *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium perfringens* и *Clostridium botulinum*, обладают высокой устойчивостью к глифосату, в то время как полезные бактерии, такие как *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium* Teenis и *Lactobacillus* sp., являются умеренно и высоко восприимчивыми [8].

Кроме того, токсичность глифосата для наиболее распространенных видов *Enterococcus* spp. может быть значимым предрасполагающим фактором, который связан с увеличением числа заболеваний, опосредованных

C. botulinum, за счет подавления антагонистического действия этих бактерий на клостридии [42].

Таким образом, применение отдельных видов пестицидов на основе глифосата и их воздействие на почвенную микрофлору может влиять на количество спор *C. botulinum* в почве, источниках воды, в пыли и на микробиом кишечника пчел.

С другой стороны, источником повышенного количества спор могут служить органические удобрения [35], [50].

Факторы, повышающие риск попадания спор C. botulinum через источники воды

Пчелам необходима вода с растворенными в ней минеральными солями, особенно в весенний период выкармливания расплода. При недостатке солей в естественных водоемах пчелы могут предпочитать воду из загрязненных стоками животноводческих ферм и прочих мест опорожнения скота. Таким образом, расположение рядом с пасекой животноводческих хозяйств и их ветеринарно-санитарная обстановка прямо связаны с риском попадания *C. botulinum* в мед [35]. Скандинавские данные о распространенности *C. botulinum* в образцах фекалий забитых свиней показали, что 62 % свиней являются переносчиками возбудителя [11].

Показана корреляция встречаемости спор в меде с почвой, покрытой мхом, который, вероятно, для пчел является источником воды, в то время как с почвой покрытой прочими видами растительности такой корреляции не наблюдалось [35].

Встречаемость спор в водных объектах, в свою очередь, зависит от факторов среды: температуры, загрязнения коммунальными стоками и стоками с животноводческих ферм. Вспышки заболеваний ботулизмом у диких птиц в водно-болотных угодьях коррелировали со средней температурой почвы выше 26°C, а также с загрязнением водоемов коммунальными стоками [47]. С другой стороны статистика вспышек ботулизма в Китае указывает на более частые вспышки в северной (14,8 %) части страны, нежели в южной (2,5 %) [15].

Факторы, повышающие риск попадания спор C. botulinum с пылью

Попадание спор ботулизма с пылью является самостоятельной причиной детского ботулизма [46]. По данным исследований, где выявлялись источники младенческого ботулизма, наибольшее число случаев приходилось на пыль почвенную и домашнюю [10], [22], [43]. Также в отдельных исследованиях, при отсутствии спор в фекалиях, *C. botulinum* наблюдались в пыли скотоводческих хозяйств [41]. Частицы навоза, используемого в качестве удобрения, могут входить в состав пыли [11], [36], [31], [39], которая поступает в улей на поверх-

ности тела пчел и оседает на восковых ячейках. Контаминацию спорами меда [31] связывают с запылением района сбора. Выявлена корреляция встречаемости спор *C. botulinum* с открытыми участками почвы и гравия (дорог) рядом с пасеками [35], [36], что указывает на пыль как на важный источник спор в меде.

Факторы технологии работы с пчелами на пасеке и отбора меда

Отдельно следует упомянуть о ветеринарных и гигиенических мероприятиях, влияющих на количество спор *C. botulinum* на пасеке и при отборе меда. Ученые указывают на культуру получения меда пчеловодами и гигиену на пасеке, как на предполагаемую причину высокой встречаемости спор *C. botulinum* в пробах литовского меда [48]. Высокое количество пчелиного подмора, находящегося в анаэробных условиях, увеличивает количество спор *C. botulinum* [32], что является результатом применения общественных поилок со стоячей водой, где на дне скапливаются утонувшие пчелы. Nevas M, Lindström M и др. [35] определили гигиенические факторы, коррелирующие с наличием спор *C. botulinum* в меде: наличие старых сот, из которых откачивается мед, мытье рук и смена рабочей обуви. Восковые ячейки являются местом накопления спор, поступающих в улей с пылью, занесенной пчелами. Своевременная замена старых, потемневших сот снижает риск контаминации спорами *C. botulinum*. Также снижается риск при регулярном мытье рук и смене обуви, с уличной на рабочую, в процессе откачки меда. В то же время исследование не выявило корреляции с породой пчел и с их заболеваниями на пасеке.

Выводы

Риски контаминации спорами *Clostridium botulinum* меда различаются в зависимости от района сбора меда, зависят от факторов окружающей среды, связанных с хозяйственной деятельностью человека:

- отдельные виды животноводческой деятельности и использование навоза в качестве органических удобрений;
- применение некоторых видов пестицидов и их влияние на почвенную микрофлору;
- не покрытые растительностью участки почвы, способствующие повышенному запылению.

Среди природных факторов можно выделить риск вспышек *C. botulinum*, связанный с повышением температуры воздуха и естественным природным содержанием данных микроорганизмов в окружающей среде.

Третья группа факторов — ветеринарно-гигиенические аспекты работы пчеловода: подмор пчел и старые соты повышают загрязнение меда *C. botulinum*, а также несоблюдение гигиены при откачивании меда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ana Ruby Correa-Mosquera, Marta Cecilia Quicazán, Carlos Mario Zuluaga-Domínguez, Shelf-life prediction of pot-honey subjected to thermal treatments based on quality attributes at accelerated storage conditions// *Food Control* /T. 142. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109237>.
2. Arnon SS, Midura TF, Damus K, Thompson B, Wood RM, Chin J. Honey and other environmental risk factors for infant botulism// *J Pediatr*. 1979. Feb;94(2):331–337. doi: 10.1016/s0022-3476(79)80863-x. PMID: 368301
3. Berhilevych O., Kasianchuk V., Kukhtyn M., Dimitrijevič L., & Marenkova T. The study correlation between physicochemical properties, botanical origin and microbial contamination of honey from the south of Ukraine. // *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. №13(1). 2019 C.863–869. <https://doi.org/10.5219/1179>
4. Bianco MI, Lúquez C, De Jong LI, Fernández RA. Linden flower (*Tilia* spp.) as potential vehicle of *Clostridium botulinum* spores in the transmission of infant botulism// *Rev Argent Microbiol*. Oct-Dec;41(4) 2009 C. 232–238.
5. Blot N, Veillat L, Rouzé R, Delatte H. Glyphosate, but not its metabolite AMPA, alters the honeybee gut microbiota.// *PLoS One*. Apr 16;14(4):e0215466. 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0215466
6. Chin J, Arnon SS, Midura TF. Food and environmental aspects of infant botulism in California//. *Rev Infect Dis*. Jul-Aug;1(4): 1979. 693-700. doi: 10.1093/clindis/1.4.693. PMID: 399377.
7. Chiu K, Warner G, Nowak RA, Flaws JA, Mei W. The Impact of Environmental Chemicals on the Gut Microbiome. // *Toxicol Sci*. Aug 1;176(2) 2020. C. 253–284. doi: 10.1093/toxsci/kfaa065.
8. Claus SP, Guillou H, Ellero-Simatos S. The gut microbiota: a major player in the toxicity of environmental pollutants? // *NPJ Biofilms Microbiomes*. May 4;2:16003. 2016. doi: 10.1038/npjbiofilms.2016.3.
9. Cox N, Hinkle R. Infant botulism // *Am Fam Physician*. Apr 1;65(7):1388-92. 2002
10. Dabritz HA, Hill KK, Barash JR, Ticknor LO, Helma CH, Dover N, Payne JR, Arnon SS. Molecular epidemiology of infant botulism in California and elsewhere, 1976–2010 // *J Infect Dis*. Dec 1;210(11):1711-22. 2014 C. 1711-1733 doi: 10.1093/infdis/jiu331
11. Dahlenborg, Maria & Borch, Elisabeth & Rådström, Peter. Development of a Combined Selection and Enrichment PCR Procedure for *Clostridium botulinum* Types B, E, and F and Its Use To Determine Prevalence in Fecal Samples from Slaughtered Pigs// *Applied and environmental microbiology*. 2001. DOI: 10.1128/AEM.67.10.4781-4788.2001.
12. Dai P, Yan Z, Ma S, Yang Y, Wang Q, Hou C, Wu Y, Liu Y, Diao Q. The Herbicide Glyphosate Negatively Affects Midgut Bacterial Communities and Survival of Honey Bee during Larvae Reared in Vitro // *J Agric Food Chem*. Jul 25;66(29): 2018. C. 7786-7793. doi: 10.1021/acs.jafc.8b02212. Epub 2018 Jul 11.
13. de Centorbi OP, Satorres SE, Alcaraz LE, Centorbi HJ, Fernández R. Detección de esporas de *Clostridium botulinum* en mieles [Detection of *Clostridium botulinum* spores in honey]. // *Rev Argent Microbiol*. Jul-Sep;29(3):. Spanish. 1997. C.147–198
14. Fenicia L, Ferrini AM, Aureli P, Pocecco M. A case of infant botulism associated with honey feeding in Italy// *Eur J Epidemiol*. Nov;9(6). 1993. C. 671–674. doi: 10.1007/BF00211445. PMID: 8150073
15. Gao QY, Huang YF, Wu JG, Liu HD, Xia HQ. A review of botulism in China. *Biomed Environ Sci*. Sep;3(3). 1990. C. 326–362
16. Giménez JA, Giménez MA, DasGupta BR. Characterization of the neurotoxin isolated from a *Clostridium baratii* strain implicated in infant botulism. *Infect Immun*. Feb;60(2):518-22. 1992. C. 518–540 doi: 10.1128/iai.60.2.518-522.1992.
17. Grabowski NT, Klein G. Microbiology and foodborne pathogens in honey. *Crit Rev Food Sci Nutr*. Jun 13;57(9). 2017 C.1852-1862. doi: 10.1080/10408398.2015.1029041.
18. Grenda T, Grabczak M, Kwiatek K, Bober A. Prevalence of *C. Botulinum* and *C. Perfringens* Spores in Food Products Available on Polish Market.// *J Vet Res*. Sep 19;61(3). 2017. C. 287–291. doi: 10.1515/jvetres-2017-0038
19. Grenda T, Grabczak M, Sieradzki Z, Kwiatek K, Pohorecka K, Skubida M, Bober A. *Clostridium botulinum* spores in Polish honey samples. // *J Vet Sci*. Sep;19(5). 2018. C.635–642. <https://doi.org/10.4142/jvs.2018.19.5.635>
20. Gücükoğlu, Ali & Saka, Erdem & Uyanik, Tolga & Kanat, Sibel & Çadirci, Zgür & Akpınar, Rahsan. Determination of *C. botulinum* presence in pollen samples collected from different regions of Turkey by Real-Time PCR. 2020. doi:110172. 10.1016/j.lwt.2020.110172.
21. Harris, R.A.; Anniballi, F.; Austin, J.W. Adult Intestinal Toxemia Botulism// *Toxins*. №12. 2020. C. 81. doi.org/10.3390/toxins12020081
22. Istre GR, Compton R, Novotny T, Young JE, Hatheway CL, Hopkins RS. Infant botulism. Three cases in a small town // *Am J Dis Child*. Oct;140(10): 1986. C.1013–1017. doi: 10.1001/archpedi.1986.02140240059027.
23. Jung A, Ottosson J. Infantil botulisme forårsaget af honning [Infantile botulism caused by honey] // *Ugeskr Laeger*. Danish. Jan 8;163(2). 2001. C.169.
24. King LA, Popoff MR, Mazuet C, Espié E, Vaillant V, de Valk H. Le botulisme infantile en France, 1991-2009 [Infant botulism in France, 1991-2009]. // *Arch Pediatr*. Sep;17(9): French. 2010. C 1288–1380. doi: 10.1016/j.arcped.2010.06.010.
25. Maikanov B, Mustafina R, Auteleyeva L, Wiśniewski J, Anusz K, Grenda T, Kwiatek K, Goldsztejn M, Grabczak M. *Clostridium botulinum* and *Clostridium perfringens* Occurrence in Kazakh Honey Samples.// *Toxins (Basel)*. Aug 13;11(8). 2019. C. 472. doi: 10.3390/toxins11080472.
26. Mari Nevas, Sebastian Hielm, Miia Lindstro, Helmut Horn, Kari Koivulehto, Hannu Korkeala High prevalence of *Clostridium botulinum* types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction// *International Journal of Food Microbiology* №72. 2002. C. 45–52
27. Martin B. Dorner. Why foodborne botulism cannot be caused by honey// *Anaerobe*. Volume 77. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102631>.
28. Mohd Tamrin MI. The dilemma of diagnosing wound botulism in an infant: A rare case of paralysis with topical application of honey.// *Int J Infect Dis*. Jun;95. 2020. C.157–159. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.044.
29. Montaseri, Maryam & Hosseinzadeh, Saeid & Shekarforoush, Shahram. Characterization of *Clostridium botulinum* spores and its toxin in honey. // *Iranian Journal of Veterinary Research*. №15. 2014. C. 36–39.

30. Motta EVS, Raymann K, Moran NA. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. Oct 9;115(41): 2018. C. 10305–10310. doi: 10.1073/pnas.1803880115.
31. Mustafina R., Maikanov B., Wiśniewski J., Tracz M., Anusz K., Grenda T., Kukier E., Goldsztejn M., Kwiatek K. Contamination of honey produced in the Republic of Kazakhstan with *Clostridium botulinum*. // *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. №59. 2015. C. 241–246. doi: 10.1515/bvip-2015-0036
32. Nakano H, Kizaki H, Sakaguchi G. Multiplication of *Clostridium botulinum* in dead honey-bees and bee pupae, a likely source of heavy contamination of honey. // *Int J Food Microbiol*. Feb;21(3). 1994. C. 247–52. doi: 10.1016/0168-1605(94)90031-0.
33. Nakano H, Okabe T, Hashimoto H, Sakaguchi G. Incidence of *Clostridium botulinum* in honey of various origins // *Jpn J Med Sci Biol*. №43. 1990. C.183–195.
34. Nakano H, Sakaguchi G. An unusually heavy contamination of honey products by *Clostridium botulinum* type F and *Bacillus alvei*. // *FEMS Microbiol Lett*. 63. 1991. C.171–177.
35. Nevas M, Lindström M, Hörman A, Keto-Timonen R, Korkeala H. Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. // *Environ Microbiol*. Jun;8(6): 2006. C.1085–1094. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.001000.x.
36. Nevas, M., Lindstrom, M., Hautamaki, K., Puoskari, S., & Korkeala, H. Prevalence and diversity of *Clostridium botulinum* types A, B, E and F in honey produced in the Nordic countries. // *International Journal of Food Microbiology*. 105(2). 2005. C. 145–151. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.04.007.
37. Olaitan PB, Adeleke OE, Ola IO. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes // *Afr Health Sci*. Sep;7(3): 2007. C.159-165. doi: 10.5555/afhs.2007.7.3.159.
38. Özlem Küplülü Muammer, Göncüoğlu Haydar, Özdemir Ahmet Koluman Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey // *Food Control*. Volume 17, Issue 3, March. 2006. C. 222–224 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.004>
39. Park HY, Lee K, Jung SC, Cho YS. Prevalent toxin types of *Clostridium botulinum* in South Korean cattle farms // *Vet Anim Sci*. Feb 21;15:100239. 2022. doi: 10.1016/j.vas.2022.100239.
40. Rall VL, Bombo AJ, Lopes TF, Carvalho LR, Silva MG. Honey consumption in the state of São Paulo: a risk to human health? // *Anaerobe*. Dec;9(6): 2003. C. 299–303. doi: 10.1016/S1075-9964(03)00121-5.
41. Schmid A, Messelhäusser U, Hörmansdorfer S, Sauter-Louis C, Mansfeld R. Occurrence of zoonotic clostridia and *Yersinia* in healthy cattle. // *J Food Prot*. Oct;76(10): 2013. C. 1697–1703. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-151.
42. Shehata AA, Schrödl W, Aldin AA, Hafez HM, Krüger M. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro // *Curr Microbiol*. Apr;66(4). 2013. C. 350–8. doi: 10.1007/s00284-012-0277-2.
43. Smith LD. *Clostridium botulinum*: characteristics and occurrence // *Rev Infect Dis*. Jul-Aug;1(4). 1979. C.637–641. doi: 10.1093/clinids/1.4.637
44. Tanzi MG, Gabay MP. Association between honey consumption and infant botulism. *Pharmacotherapy*. Nov;22(11): 2002. C.1479–83. doi: 10.1592/phco.22.16.1479.33696.
45. van der Vorst MM, Jamal W, Rotimi VO, Moosa A. Infant botulism due to consumption of contaminated commercially prepared honey. First report from the Arabian Gulf States // *Med Princ Pract*.;15(6). 2006 C. 456–8. doi: 10.1159/000095494.
46. Van Horn NL, Street M. Infantile Botulism. 2023 Jun 12. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. [Электронный источник] / URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493178/>
47. Vidal D, Anza I, Taggart MA, Pérez-Ramírez E, Crespo E, Hofle U, Mateo R. Environmental factors influencing the prevalence of a *Clostridium botulinum* type C/D mosaic strain in nonpermanent Mediterranean wetlands // *Appl Environ Microbiol*. Jul;79(14). 2013. C. 4264–71. doi: 10.1128/AEM.01191-13.
48. Wojtacka J, Wysok B, Kabašinškienė A, Wiszniewska-Łaszczych A, Gomółka-Pawlicka M, Sztejn J, Malakauskas M, Migowska-Calik A. Prevalence of *Clostridium botulinum* type A, B, E and F isolated from directly sold honey in Lithuania. // *J Agr Sci Tech*. 19. 2017. C.335–343.
49. Wojtacka J, Wysok B, Lipiński Z, Gomółka-Pawlicka M, Rybak-Chmielewska H, Wiszniewska-Łaszczych A. *Clostridium botulinum* spores found in honey from small apiaries in Poland // *J Apic Sci*; 60. 2016. C. 89–100.
50. Zeiller M, Rothballer M, Iwobi AN, Böhnel H, Gessler F, Hartmann A, Schmid M. Systemic colonization of clover (*Trifolium repens*) by *Clostridium botulinum* strain 2301. // *Front Microbiol*. Oct 31;6: 2015. C. 1207. doi: 10.3389/fmicb.2015.01207.