



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

NAYARA OLIVEIRA DE MEDEIROS

**SUCESSO TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DE BOTULISMO TIPO C EM
GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) – RELATO DE CASO**

MOSSORÓ

2019

NAYARA OLIVEIRA DE MEDEIROS

**SUCESSO TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DE BOTULISMO TIPO C EM
GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) – RELATO DE CASO**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semiárido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas

Co-orientador: M.V. Fabiano Rocha Prazeres Júnior

MOSSORÓ

2019

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

O488s Medeiros, Nayara Oliveira de.

SUCESSO TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DE BOTULISMO
TIPO C EM GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) ?
RELATO DE CASO / Nayara Oliveira de Medeiros. -
2019.

30 f. : il.

Orientador: Carlos Iberê Alves Freitas .
Coorientador: Fabiano Rocha Prazeres Júnior .
Monografia (graduação) - Universidade Federal

Rural do Semi-árido, Curso de Medicina
Veterinária, 2019.

1. *Clostridium botulinum*. 2. toxina. 3.
ciprofloxacina. 4. terapia. 5. aves. I. Alves
Freitas , Carlos Iberê , orient. II. Rocha
Prazeres Júnior , Fabiano , co-orient. III.
Título.

NAYARA OLIVEIRA DE MEDEIROS

**SUCESSO TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DE BOTULISMO TIPO C EM
GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) – RELATO DE CASO**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semiárido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Defendida em: 14/08/2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas (UFERSA)
Presidente



M.V. Fabiano Rocha Prazeres Júnior
Membro Examinador



M.V. Giulia Costa Oliveira de Medeiros Santana
Membro Examinador

Antônio Marcelo de Medeiros

Paçoquinha, Debra e Laika

(In Memoriam).

*“Birds flying high you know how I feel
Sun in the sky you know how I feel
Breeze driftin' on by you know how I feel
It's a new dawn
It's a new day
It's a new life
For me
And I'm feeling good.”*

Nina Simone

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao universo, a natureza e a todas as forças que nos regem, seja ela qual for, por me ajudar a chegar até aqui, principalmente nas dificuldades enfrentadas durante os 5 anos de graduação.

Agradeço especialmente a minha mãe Neuma, meu irmão Maikon, minha tia Lourdes e o meu pai Antônio - que partiu ano passado e não pode realizar seu sonho de me ver formada - , por todo suor, lágrimas, o apoio e intensivos durante todos esses anos, precisaram abrir mão de muita para eu está aqui hoje. Também aos depois familiares que de certa forma contribuíram do jeito que podiam.

Agradeço aos meus animais de pelos e penas, o real motivo pela escolha do curso, muitos passaram pela minha vida e viraram poeira de estrelas, mas sempre deixavam algo de positivo. Em especial a Poçoquinha, Debra, Safena, Li'l e a Sally, por me fazerem companhia e serem um incentivo durante a graduação, as noites eram menos solitárias com vocês.

Agradeço a família formada durante a graduação e que levarei para toda a minha vida, são eles Amanda, Arickson, Carol, Laressa, Maira e Ruan, sem eles eu não passaria do primeiro semestre. Me ajudaram no pior momento da minha vida... são tantas coisas para agradecer, amo vocês.

Agradeço aos meus amigos de Natal, em especial Josimário, Johnny, Gustavo, Paolla, Alexandre, Juliana, Jéssica e Wesley, por me aturarem a vida toda, pelas visitas, farras, besteiras e papos cabeça.

Agradeço a UFERSA, aos professores que compõe a equipe, em especial a Michelly, Eraldo e a Carlos Iberê, por serem compreensivos, dedicados, competentes, me acrescentando valores, são uma inspiração para qualquer aluno. Pela oportunidade de ter conhecido pessoas incríveis na graduação que levarei no fundo do coração, em especial, Glícia, Marina, Adrielly, Aksa, Cibelle e especialmente Priscilla, que sempre está me ajudando quando mais preciso.

Agradeço a minha segunda casa, vulgo, setor de Animais Silvestres do HOVET/UFERSA, a toda a equipe de residentes, estagiários e animais que por lá passaram,

por todas as oportunidades de aprendizado e incentivos, sempre serei grata pelos anos que pude contribuir com o setor.

Agradeço a banca examinadora, Carlos Iberê, Fabiano Rocha, e Giulia Santana, primeiramente pela compreensão, pela disponibilidade de tempo e por terem aceito o desafio muito obrigada.

RESUMO

O botulismo é uma enfermidade decorrente da absorção de neurotoxinas oriundas do *Clostridium botulinum*. Pode afetar mamíferos e aves silvestres e domésticas resultando em quadros de prostração e paralisia flácida, geralmente levando os acometidos a óbito por parada cardiorrespiratória. As toxinas podem ser diferenciadas em 8 sorotipos com denominações correspondentes à sequência alfabética de A a H. Em aves, foram registrados os Tipos C, D e E, sendo o primeiro de maior incidência nestes animais. O diagnóstico é realizado com base no histórico e sinais clínicos característicos. No entanto, apenas confirmado mediante a identificação laboratorial da toxina através da técnica de soroneutralização em camundongos. No presente relato de caso, a toxina botulínica do Tipo C foi identificada em amostras de sangue e objetivou-se descrever os procedimentos clínicos utilizados em duas galinhas com botulismo.

Palavras-chave: *Clostridium botulinum*, toxina, ciprofloxacina, terapia, aves.

ABSTRACT

Botulism is a disease caused by the absorption of neurotoxins from *Clostridium botulinum*. It may affect wild and domestic mammals and birds resulting in prostration and flaccid paralysis, usually leading to death due to cardiorespiratory arrest. Toxins can be differentiated into 8 serotypes with names corresponding to the alphabetical sequence from A to H. In birds, Types C, D and E were registered, being the first one of highest incidence in these animals. The diagnosis is made based on the history and characteristic clinical signs. However, it is only confirmed by laboratory identification of the toxin through seroneutralization in mouse technique. In the present case report, Type C botulinum toxin was identified in blood samples and the objective was to describe the clinical procedures used in two botulism chickens.

Keywords: *Clostridium botulinum*, toxin, ciprofloxacin, therapy, birds

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Micrografia de luz ilustrativa mostrando <i>C. botulinum</i> (setas em verde) e a forma esporulada (setas em azul). Ampliação: 400x a 35mm.....	16
Figura 2	–	A) Ação normal do neurotransmissor de acetilcolina na fenda sináptica; B) Neurotransmissão sobre ação da toxina botulínica, interferindo na liberação de acetilcolina	18
Figura 3	–	Galinha com paralisia flácida dos membros pélvicos, pescoço e asas.....	23
Figura 4	–	Ave apresentando pescoço estendido e apoiado no chão, quadro conhecido como “ <i>limberneck</i> ”	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Soroneutralização em camundongos para detecção da toxina botulínica, evidenciando o Tipo C.....	24
----------	---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 BOTULISMO EM AVES.....	14
2.2 ETIOLOGIA.....	14
2.3 EPIDEMIOLOGIA.....	16
2.4 PATOGENIA.....	17
2.5 SINAIS CLÍNICOS.....	17
2.6 DIAGNÓSTICO.....	18
2.7 TRATAMENTO.....	19
2.8 PREVENÇÃO E CONTROLE	20
3 RELATO DE CASO.....	22
4 RESULTADO EDIRCURSSÃO.....	24
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
6 REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

O botulismo é resultado de uma intoxicação provocada pela ingestão de neurotoxinas produzidas do *Clostridium botulinum* (BRADA et al., 1971), um bacilo gram-positivo, anaeróbio, existente em qualquer ambiente (DEDERNES, 2008; ALVES, 2013). Este pode esporular e se multiplicar desde que haja condição ambiental e de anaerobiose adequadas, tais como restos de alimento, material em decomposição, carcaças, lagos e poços parados (TOKEDA et al., 2006; MACHADO et al., 2010).

As toxinas produzidas pelo *C. botulinum* são as mais potentes de origem microbiológica relatadas (ALMEIDA et al., 2000; TOKEDA et al., 2005; LOBATO et al., 2009). São relatadas 8 tipos de toxinas, sendo classificadas de A a H (DOVER et al., 2014; OLINDA et al., 2015). O Tipo C é o agente mais comum nas aves, havendo também relatos de ocorrência dos Tipos A, D e E nesses animais. Pode acometer todos as aves, com exceção dos urubus, pois apresentam resistência a toxina devido a algumas substâncias no sangue. (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). O Tipo E acomete principalmente aves migratórias aquáticas que se alimentam de peixes (DEDERNES, 2008; ALVES et al., 2013).

Em virtude da alta letalidade e mortalidade nas aves silvestres e domésticas, o botulismo é uma das doenças de grande importância da avicultura (ALVES et al., 2013; OLINDA et al., 2015). É caracterizada por causar paralisia flácida, resultando na morte por parada cardiorrespiratória e acometendo, além das aves, os mamíferos (LOBATO et al., 2013; OLINDA et al., 2015).

O diagnóstico presuntivo é baseado na associação do histórico e sinais clínicos clássicos. Todavia, é confirmado apenas através da confirmação laboratorial, por meio da técnica de soroneutralização em camundongos para detecção da toxina botulínica (LOBATO et al., 2013; OLINDA et al., 2015).

O tratamento em aves é baseado na terapia de suporte (LOBATO et al., 2009). Não existem vacinas em aves contra botulismo no mercado brasileiro, assim, o controle é realizado através de medidas que impeçam o contato dos animais sadios com potenciais fontes de contaminação (ALVES et al., 2013).

O presente relato tem como objetivo descrever o tratamento clínico de galinhas com botulismo Tipo C, oriundas de uma propriedade rural em Mossoró-RN, atendidas pelo Setor de Animais Silvestres do Hospital Veterinário Dix-Huit Rosado Maia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Botulismo em aves

O termo botulismo vem do latim *botulus* que significa salsicha, registrado inicialmente na Alemanha em 1820, após pessoas consumirem enlatados e molhos de carne e apresentarem quadros de paralisia flácida (LEDERMANN, 2003; LOBATO et al., 2013).

A toxina Tipo C foi descoberta inicialmente por Bengston, nos Estados Unidos, ao isolar o agente em larvas de moscas que resultaram na morte de frangos. No mesmo período, na Austrália, Seddon identificou o *C. botulinum* Tipo C em carcaças que causaram a morte de bovinos, mas ao utilizar a antitoxina isolada do Bengston, não ocorreu neutralização da toxina, logo, por serem diferentes, foram nominadas de *C. botulinum* Tipo C α e *C. botulinum* Tipo C β (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

O primeiro relato de botulismo em aves foi descrito por Dickson, nos Estados Unidos, onde frangos que consumiram restos de comidas contaminadas de uma família e apresentaram os mesmos sintomas de botulismo como, por exemplo, pescoço caído. No mesmo país, em 1930, ocorreu um surto de mortalidade de aves silvestres (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

No Brasil, os primeiros casos de botulismo em galinhas e patos domésticos foram registrados por Brada et al. (1971) no Rio de Janeiro. Atualmente, a doença já foi relatada em ganso, galinhas, perus, patos e frangos (LOBATO et al., 2007; COELHO et al., 2008; LOBATO et al., 2009; MACHADO et al., 2010; ALVES et al., 2013). Olinda e colaboradores (2015) relataram o primeiro surto de botulismo em galinhas, patos e galinhas d'água no nordeste brasileiro.

2.2 Etiologia

Clostridium botulinum é uma bactéria gram-positiva, com formato de bastonete, que se desenvolve em meio anaeróbio, produzindo esporos (EDUARDO et al., 2002; FREAN et al., 2004; CERESER et al. 2008). São necessárias condições adequadas para que o bacilo atinja sua forma liberadora da toxina, além da anaerobiose, o pH pode ser alcalino ou próximo do neutro, com atividade de água de 0,95 a 0,97 e temperatura ótima de 37°C. Os esporos do tipo E são capazes de germinar a partir de 3°C (BRASIL, 2006).

As bactérias possuem extremidades arredondares, medindo 0,5 a 1 μ m de largura e 4 a 6 μ m de comprimento, com flagelos peritríquios para movimentação e quando esporuladas, os

esporos ovais, localiza-se na região subterminal, dando formato de colher (Figura 1). A toxina é liberando quando ocorre autólise bacteriana (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).



Figura 1: Micrografia de luz ilustrativa mostrando *C. botulinum* (setas em verde) e a forma esporulada (setas em azul). Ampliação: 400x a 35mm. Fonte: Foto adaptada de Michael Abbey/sciencesource.com.

Os esporos do *C. botulinum* são as formas mais resistentes dentre os agentes bacterianos, podendo sobreviver mais de 30 anos no meio aquático (RADOSTITS et al., 2002; CERESER et al. 2008). Resistem ao calor e a dessecação, o que lhes permitem permanecer no solo e disseminar em diversos ambientes por anos, com distribuição mundial. Os esporos do Tipo C são mais resistentes do que os esporos do Tipo E, bem como mais termossensíveis que os esporos do Tipo A e B. Os mesmos são eliminados quando submetidos a temperatura de 100°C por 1 hora e todos os tipos de esporos são destruídos quando esterilizados em autoclave por 20 minutos a 120°C (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

Oito sorotipos são conhecidos (A, B, C, D, E, F, G e H), sendo o Tipo H descoberto e isolado recentemente em um paciente com botulismo infantil, no Departamento de Saúde Pública da Califórnia (DOVER et al., 2014). As toxinas apresentam a mesma função farmacológica, diferenciando-se por meio das características antigênicas produzidas (JOHNSON; BRADSHAW, 2001; JAY, 2005; CERESER et al. 2008). Os Tipos A, B, E e F possuem origem cromossomal e provocam botulismo em humanos, enquanto os Tipos C e D tem origem em bacteriófagos, causando a enfermidade nos animais. O Tipo G apresenta origem

plasmidial (BRÜGGEMANN, 2005; SWAMINATHAN, 2011; LOBATO et al., 2013). Ainda não se sabe ao certo a origem do Tipo H, mas há indícios que assemelhe ao Tipo A (DOVER et al., 2014).

A toxina botulínica difere das outras toxinas por apresentar resistência a ação dos ácidos, pepsinas e tripsinas (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). Entretanto, são sensíveis quando submetidos a temperatura de 100°C por 5 minutos ou 80°C por 30 minutos, quando expostas a temperatura ambiente por 12 horas, a luz solar por 1 a 3 horas ou em água clorada por 20 minutos (PINILLOS et al., 2003; CERESER et al. 2008).

2.3 Epidemiologia

Dentre as espécies de aves, há relatos da enfermidade acometendo frangos, perus, avestruzes, gansos, patos, faisões e aves silvestres, em especial, as aves marinhas migratórias (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006), principalmente pelo Tipo C e mais raramente pelos Tipos A, D e E. Os animais eliminam os sorotipos pelas fezes (RODLOFF e KRÜGER, 2012; LOBATO et al., 2013).

O esporo do *C. botulinum* Tipo C pode ser encontrado no trato gastrointestinal das aves, fazendo parte da microbiota normal desses animais. Os esporos também são facilmente encontrados nas redondezas e nas propriedades rurais que tenham criação avícola, devido à resistência são facilmente disseminados no meio ambiente (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

A transmissão ocorre de forma direta através do consumo de vegetações em decomposição, água, carcaças, invertebrados e larvas de moscas contaminadas (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). Podem ocorrer raramente casos de intoxicação endógenas, quando o *C. botulinum* intestinal produz a toxina ou através de contaminação de feridas pelos esporos (TRAMPEL et al., 2005; TAKEDA et al., 2006; LOBATO et al., 2013).

A ocorrência de surtos após feriados prolongados é comum devido a permanência de animais mortos nos locais de criação ou a algum problema no fornecimento de água resultando em vazamentos, umedecendo o ambiente, tornando o meio propício para germinação dos esporos do *C. botulinum* (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

O período de incubação da doença e sua severidade dependem da quantidade de toxina ingerida e da susceptibilidade das aves (LOBATO et al., 2008; OLINDA et al., 2015), podendo variar de 10 a 12 horas para 1 a 2 dias (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

O aumento da morbidade e da mortalidade dos surtos de botulismo estão relacionados com a alta taxa de ingestão da toxina botulínica pelos animais. Quando a absorção é elevada, os casos de óbitos podem ultrapassar 40%, já nos baixos níveis de intoxicação, a taxa de morbidade e mortalidade são reduzidas com difícil diagnóstico sintomático (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

2.4 Patogenia

O *C. botulinum* esporulado quando ingerido sofre autólise no trato gastrointestinal das aves, liberando a toxina botulínica. Ao ser absorvida, esta será transportada por meio da corrente sanguínea e linfática até os neurônios susceptíveis (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

As neurotoxinas são formadas por cadeias pesadas e leves. A cadeia pesada se liga ao receptor presente na membrana dos neurônios, entrando no citoplasma neuronal por endocitose. A cadeia leve passa pela membrana através de poros para o meio intracelular neuronal, onde clivam proteínas SNARE (Soluble NSF Attachment Receptor), responsáveis pela ancoragem e fusão das vesículas contendo acetilcolina, reduzindo a liberação nas junções neuromusculares, resultando na diminuição da contração muscular ou paralisia flácida muscular (Figura 2) (AOKI et al., 2010; LOBATO et al., 2013).

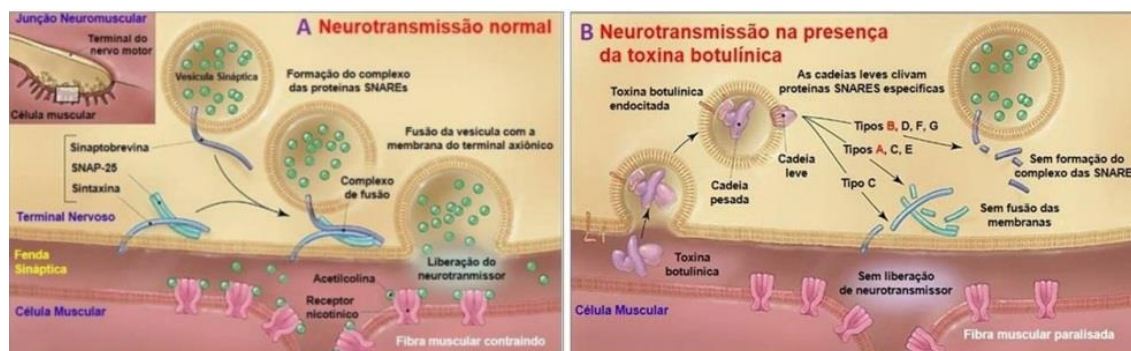


Figura 2: A) Ação normal do neurotransmissor de acetilcolina na fenda sináptica; B) Neurotransmissão sobre ação da toxina botulínica, interferindo na liberação de acetilcolina. Fonte: peb.ufrj.br.

2.5 Sinais Clínicos

A sintomatologia clínica dentre as aves são parecidas, destacando-se os sinais clássicos da enfermidade, como: paralisia flácida dos membros posteriores, asas, pescoço e terceira pálpebra (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). Acredita-se que, nos perus, os sinais decorrentes

da toxina botulínica nas musculaturas das asas e patas são mais intensos (JEFFREY et al., 1994; LOBATO et al., 2009).

A gravidade do quadro clínico expressado pelos animais depende da quantidade de toxina ingerida (HUMPHREYS, 1976; LOBATO et al., 2008). Nos casos leves, as aves apresentam apenas sonolência, paresia e incoordenação dos membros, podendo se recuperar em torno de 4 dias. Por outro lado, em situações mais graves, os animais manifestam dificuldade de se locomover, preferindo ficar em decúbito e podendo ter quadros de diarreia. As penas ficam arrepiadas e são facilmente removíveis. As asas encontram-se caídas, assim como o pescoço, que se estende para a frente e fica apoiado no chão, quadro conhecido como “c”. Graças à paralisia das pálpebras, os animais aparentam estado comatoso e estarem mortos (BRADA et al., 1971; SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). No entanto, o psiquismo mantém-se sem alteração (LINARES et al., 1994; LOBATO et al., 2009).

Os infectados não apresentam febre, mas a intensa anorexia presente pode induzir um estado comatoso e a morte em algumas horas. (BRADA et al., 1971). Geralmente são encontrados com dificuldade respiratória e ofegantes, e vão a óbito em pouco tempo após devido a parada cardiorrespiratória (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

2.6 Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo é através do histórico e sintomatologia clínica característica, os animais acometidos não apresentarem lesões macroscópicas e microscópicas na necrópsia (LOBATO et al., 2013; OLINDA et al., 2015), todavia, pode-se observar presença de larvas, fezes e material em decomposição no proventrículo e moela dessas aves (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

A intoxicação pode ser confirmada apenas por meio do diagnóstico laboratorial, realizado através da soroneutralização em camundongos. Neste exame, considerado padrão, a toxina pode ser detectada e tipificada (LOBATO et al., 2013; OLINDA et al., 2015). Outros testes para detecção que podem ser utilizados são os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (LINDSTRÖM; KORKEALA, 2006; CHAUDHRY, 2011; LOBATO et al., 2013).

Para a execução do bioensaio em camundongos, uma amostra de sangue do animal suspeito é coletada e incubada em estufa com temperatura de 37°C por 30 minutos. Em seguida, a mesma passa por um processo de centrifugação para separação do soro, que deve ser filtrado

em uma membrana de celulose de 0,45µm, com o objetivo de eliminar os esporos e as bactérias. Posteriormente, separa-se uma porção do soro para ser o controle negativo, que é desnaturada através do aquecimento em banho-maria a 100° C por 10 minutos. A outra parte do soro é neutralizada com antitoxina botulínica Tipo C e incubada sob as mesmas condições do sangue colhido. Depois da preparação do material, injetam-se por via intraperitoneal 0,5 ml do soro normal, do soro desnaturado e do soro neutralizado, em 3 grupos de camundongos, contendo 2 animais em cada, que são observados por 3 a 4 dias (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). Em caso de positividade, os camundongos manifestam sintomatologia característica do botulismo, como fraqueza muscular, pelos eriçados e dispneia em decorrência de contração da musculatura abdominal e intercostal, quadro conhecido como “cintura de vespa” (LINDSTRÖN; KORKEALA, 2006; CHAUDHRY, 2011; LOBATO et al., 2013).

2.7 Tratamento

A terapia específica para aves é ineficiente, visto que a antitoxina não exerce ação nas neurotoxinas já ligadas, atuando apenas nas circulantes, além de estar pouco disponível no mercado nacional. Logo, o tratamento consiste na terapia de suporte (LOBATO et al., 2009).

O tratamento é pouco realizado em criatórios avícolas industriais ou de subsistência, devido ao seu custo, ao elevado número de animais acometidos e à demora na recuperação (ALVES et al., 2013).

. Para evitar a propagação da doença, recomenda-se o isolamento dos enfermos, deixando água e alimentação de qualidade à vontade e de fácil acesso, com o intuito de possibilitar a recuperação de alguns animais. As suplementações vitamínicas e minerais, principalmente de vitamina A, E e D e solenito de sódio também podem ser usadas, além de antimicrobianos, tais como bacitracina, clortetraciclina e estreptomicina para diminuir a mortalidade (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

Em cães, o tratamento de suporte consiste na hidratação parenteral e reposição dos eletrólitos, manejo da disfagia e da retenção urinária, assistência ventilatória e reposicionamento do animal para evitar escaras de decúbito. Em casos onde a ingestão do material contaminado foi recente e o animal apresente retenção fecal, o uso de laxantes e enemas para eliminação das toxinas não absorvidas presentes no trato gastrointestinal é indicado (FARROW et al., 1983; BORS et al., 1988; SILVIO et al., 2008), assim como o uso de antibióticos de com largo espectro de ação para a eliminação dos clostrídios presentes no

trato gastrointestinal (DUTRA et al, 2005; FIORATO et al., 2016), porém a utilização ainda não é bem estabelecida (BRASIL, 2016).

Na medicina veterinária, as fluorquinolonas mais utilizadas são o enrofloxacino e o ciprofloxacino. Estas drogas apresentam largo espectro de ação, atuando contra bactérias gram-positivas e negativas e sendo empregadas no combate gastroenterites bacterianas graves. As principais vantagens da utilização do referido grupo é a sua baixa ligação com as proteínas plasmáticas e largo volume de distribuição (GÓRNIK, 2011).

2.8 Prevenção e Controle

Nos animais de produção, a vacinação com toxoides do Tipo C e D contra o botulismo é a principal forma de controle (LOBATO et al., 2007; LOBATO et al., 2007; LOBATO et al., 2013), mas nem sempre apresenta eficácia (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). Em alguns países, estudos em aves comprovam o êxito da vacinação de modo preventivo, diminuindo a mortalidade (MARTINEZ e WOBESER, 1999; ROCKE et al. 2000; ARIMITSU et al. 2004; LOBATO et al. 2009). No mercado nacional, não são encontradas vacinas contra o botulismo destinadas às aves (ALVES et al. 2013). De modo geral, a imunização não é feita nestes animais. Utilizam-se antitoxinas bivalentes de modo profilática, todavia, exercem pouca eficiência quando o animal apresenta os sinais clínicos (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

A associação de medidas de controle, tais como a remoção de carcaças de mamíferos e aves e sua correta eliminação, é necessária para evitar a contaminação e propagação da toxina botulínica pelos animais (LOBATO et al., 2007; LOBATO et al., 2013). Os cadáveres devem ser incinerados ou enterrados em fossas assépticas, evitando assim o contato do agente com as aves sadias (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006).

Na criação de frangos, são fundamentais a troca e a destruição da cama após a troca de cada lote, além da manutenção da limpeza e desinfecção das instalações, no entorno dos galpões e dos equipamentos, utilizando substâncias como a formalina ou hipoclorito de sódio (SCHOCKEN-ITURRINO, 2006). A superlotação dos galpões deve ser evitada, pois o estresse causado acarreta diminuição da imunidade e, conseqüentemente, os animais tornam-se mais susceptíveis a enfermidade (HARBOLA; KUMAR, 1990; PIGATTO et al., 2007)

Cabe ao produtor fornecer água e alimentos de boa qualidade, bem como produzir e armazenar estes insumos de maneira adequada, além de impedir que os animais tenham acesso a áreas com água parada e de qualidade duvidosa (LOBATO et al., 2013), contaminadas com

animais mortos ou em períodos de seca, onde material orgânico em putrefação ficam expostos (GALVIN et al., 1985; LOBATO et al., 2009), bem como em locais de compostagem com lixo e materiais em decomposição (ALVES et al., 2013).

3 RELATO DE CASO

No dia 09 de janeiro de 2019, foram encaminhadas ao Setor de Animais Silvestres do HOVET/UFERSA, duas galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) provenientes de um pequeno plantel no interior de Mossoró, Rio Grande do Norte. Neste plantel havia cerca de 30 aves, divididas em dois grupos: um grupo contendo 22 aves – ao qual fazem parte as duas galinhas citadas acima - criadas soltas e o outro grupo formado por 8 animais criados em recinto fechado. O criador relatou que no dia 03 de janeiro forneceu restos de comida apenas para as aves criadas soltas e, três dias após a ingestão, 20 destas foram a óbito.

A anamnese revelou que os animais do plantel acometido e do plantel vizinho não eram vacinados contra nenhum tipo de patógeno, porém apenas os que tiveram acesso aos restos de comida apresentaram manifestações clínicas da enfermidade.

Durante o exame físico, as aves se apresentavam prostradas, com pálpebras semicerradas, paralisia flácida nos membros pélvicos, com pescoço e asas caídos (Figura 3), quadro conhecido como “limberneck” (Figura 4), penas eriçadas e facilmente retiráveis. As galinhas também apresentavam diarreia fétida e desidratação, mucosas hipocoradas, presença de secreção ocular, secreção mucoide em cavidade oral e temperatura cloacal de 41°C, logo, constatando quadro grave da doença.

Com base no histórico e sinais clínicos apresentados, o diagnóstico presuntivo foi de botulismo e, para confirmação, coletou-se sangue e fezes das aves. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Anaeróbios na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) para pesquisa de toxina botulínica por meio de soroneutralização em camundongos.



Figura 3: Galinha com paralisia flácida dos membros pélvicos, pescoço e asas. **Fonte:** Arquivo pessoal.



Figura 4: Ave apresentando pescoço estendido e apoiado no chão, quadro conhecido como “limberneck”.

Fonte: Arquivo pessoal.

As aves permaneceram em internamento, onde foi instituído tratamento de suporte com suplementação de vitaminas, aminoácidos e minerais com Hidrovit®, 1 gota/20mL de água de bebida, a cada 24 horas, durante 5 dias e 1 gota de Glutamax GP®, por via oral, a cada 12 horas, durante 5 dias; fluidoterapia com solução salina (60mL/kg/dia) para reposição e manutenção hídrica; ciprofloxacino, 2mg/kg, por via intramuscular, a cada 24 horas, durante 5 dias.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

De acordo com o quadro 1, o resultado da soroneutralização em camundongos para detecção de toxina botulínica Tipo C foi positivo para ambas as amostras testadas (Ave 1 e Ave 2). O diagnóstico clínico é imprescindível na tomada de decisões rápidas, no entanto a confirmação do botulismo só pode ser feita por meio da detecção da toxina no soro dos animais acometidos através de soroneutralização em camundongos, sendo este teste considerado o “padrão ouro” para o diagnóstico desta enfermidade (LOBATO et al, 2013).

Quadro 1: Soroneutralização em camundongos para detecção da toxina botulínica, evidenciando o Tipo C.

Espécie Clínico	Toxina botulínica Tipo C
Soro (Ave 1)	Positivo
Soro (ave 2)	Positivo

Fonte: Laboratório de anaeróbios da Escola de Veterinária da UFMG.

O período de incubação de três dias, das aves do plantel que morreram, foi semelhante aos descritos na literatura para outras aves domésticas (ALVES et al 2013; MACHADO et al, 2010; OLINDA et al, 2015) com uma taxa de mortalidade em torno de 67% para todo o plantel e de cerca de 91% para as aves criadas soltas.

As galinhas atendidas no hospital, apresentaram período de incubação de 6 dias, tal diferença é visto que os sinais clínicos variam de acordo com a dose da toxina ingerida e tempo decorrido da ingestão desta (DEGERNES, 2008).

O criador optou em não levar as aves mortas para a realização da necropsia, no entanto, sabe-se que as lesões macroscópicas e microscópicas nos animais com botulismo não são dignas de nota (BRADA et al, 1971).

Não existe tratamento específico para o botulismo, sendo feito apenas terapia de suporte (LOBATO et al, 2009). No entanto, já foi relatado tratamento de botulismo em cão doméstico com uso de enrofloxacino (10mg/kg, duas vezes ao dia) (FIORATO et al, 2016) havendo melhora no quadro do animal 6 dias após início da terapia.

Para a eliminação da toxina pré-formada ingerida e redução da população intestinal da bactéria, Ettinger e Feeldman (1997) recomendam para cães, a administração de penicilina (10.000 - 30.000 UI, via oral, BID) ou Metronidazol (5 mg/kg, VO, três vezes ao dia). Porém a

utilização é questionada (Ferreira; Domingues, 2008; Silveira; Marques, 2016), pois ao causar a lise dos *C. botulinum*, resultaria no aumento da disponibilidade da neurotoxina.

As antitoxinas podem ser administradas, porém, além de pouco disponíveis no mercado brasileiro, agem apenas sobre a toxina circulante, não tendo efeito algum na toxina já ligada ao neurônio (LOBATO et al, 2009). Neste relato, as galinhas apresentavam quadro grave de botulismo e após 24 horas do início da terapia com ciprofloxacino, as aves conseguiam ficar em pé sozinhas e apresentavam pequena melhora no estado geral. Ao término dos 5 dias de tratamento, as aves se alimentavam e ingeriam água voluntariamente e não apresentavam nenhuma alteração motora.

Optou-se utilizar ciprofloxacino por ser o metabólito ativo da enrofloxacin, logo, não necessitaria sobrecarregar o fígado para metaboliza-lo, já que os animais estavam bastante debilitados e a concentração inibitória mínima (CIM) da ciprofloxacina para várias microrganismos é mais baixa em comparação com a da enrofloxacin (BARCELLOS et al., 2006).

Acredita-se que os animais tenham ingerido a toxina pré-formada a partir restos de comida em decomposição que foram fornecidos às aves. Semelhante aos relatos anteriores (LOTABO et al., 2008; ALVES et al., 2013; OLINDA et al., 2015), onde não se pode confirmar, apenas supor a fonte da intoxicação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na revisão bibliográfica, pode-se concluir que o botulismo é uma doença potencialmente grave para as aves domésticas e silvestres, devido a fácil disseminação do *Clostridium botulinum* na natureza e à alta mortalidade, sendo de grande importância na avicultura. Em contra partida, ainda há poucos relatos dos surtos ocorrentes no país.

O presente relata chama atenção a importância do diagnóstico presuntivo, a partir dos sinais clássicos apresentados pelos animais, para que o médico veterinário possa tomar decisão rápida e entre logo com uma terapia de suporte, evitando casos de óbitos. Necessitando coleta de material para confirmação laboratorial da enfermidade.

Estudos ainda deverão ser realizados a respeito da eficiência da utilização de antimicrobianas no auxílio do tratamento do botulismo em aves, todavia, no presente estudo, foi comprovado a eficácia do uso de ciprofloxacino no tratamento das galinhas com quadro grave de botulismo.

Deve-se salientar a necessidade dos cuidados com o manejo nos criatórios avícolas, evitando que os animais tenham acesso a potenciais contaminantes, como a ingestão de água estagnada e o consumo de restos de comidas e materiais em decomposição.

6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A.C. et al. Perfil sorológico das amostras de *Clostridium botulinum* tipos C e D utilizadas para produção de imunógenos no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.2, p.91-95, 2000.
- ALVES, G.G. et al. Surto de botulismo tipo C em frangos na cidade de Pancas, Espírito Santo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.1, p.355-358, 2013.
- AOKI, K.R. et al. Mode of action of botulinum neurotoxins: current vaccination strategies and molecular immune recognition. **Critical Reviews™ in Immunology**. V.30, p.167, 2010.
- ARIMITSU, H. et al. Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of *Clostridium botulinum* Type C and D neurotoxins. **Clinical and diagnostic Laboratory Immunology**, v.11, n.3, p.496-502, 2004.
- BARCELLOS, H.H.A. et al. Intoxicação por enrofloxacin em um cão da raça Pinscher Miniatura: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.1, p.39-43, 2006.
- BRADA, W. et al. Botulismo em aves no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série Veterinária, Brasília, v.6, n.4, p.27-32, 1971.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**, 5.ed. Brasília: FUNASA, p.842, 2002.
- BORS, M. et al. Neuromuscular disease in a dog. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v.78, n.4, p.339-345, 1988.
- BRÜGGEMANN H. Genomics of clostridial pathogens: implication of extrachromosomal elements in pathogenicity. **Current Opinion in Microbiology**, v.8, p.601, 2005.
- CERESER, N.D. et al. Botulismo de origem alimentar – Revisão de bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.1, p.280-287, 2008.
- CHAUDHRY, R. Botulism: a diagnostic challenge. **The Indian Journal of Medical Research**, v.134, p.10, 2011.
- COELHO, H.E. et al. Botulismo em aves domésticas - *Gallus gallus domesticus* relato de caso. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v.10, n.2, p.125-128, 2007
- DEGERNES, L.A. Waterfowl toxicology: a review. **The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice**, v.11, n.2, p. 283-300, 2008.

DOVER, N. et al. Molecular characterization of a novel botulinum neurotoxin Type H gene. **Journal of Infectious Diseases**. v.209, p.192-202, 2014.

DUTRA, I.S.; DÖBEREINER, J. Fatos e teorias sobre a “doença da vaca caída”: botulismo. **A Hora Veterinária**, v.14, n.84, p.7-10, 1995.

EDUARDO, M.B.P. et al. Manual das doenças transmitidas por alimentos e água: ***Clostridium botulinum/Botulismo***. São Paulo: Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, 41p, 2002.

ETTINGER, S. J; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, 4. ed., vol. 1, 1997, p. 540.

FARROW, B.R.H. et al. Type C botulism in young dogs. **Australian Veterinary Journal**, Kingston, v.60, n.12, p.374-377, 1983.

FIORATO, C.A. et al. Botulismo em cão atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Maringá – Relato de caso. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.3, n.1, p.70-74, 2016.

FREAN, J. et al. Fatal type A botulism in South Africa, 2002. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.98, p.290-295, 2004.

GALVIN, J.W. et al. An outbreak of botulism in wild water birds in southern Australia. **Journal of Wildlife Diseases**, v.21, n.4, p.347-350, 1985.

GÓRNIK, S.L. Sulfas, quinolonas e outros quimioterápicos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L. **Farmacologia Aplicada À Medicina Veterinária**, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 36. p. 436-439.

HARBOLA, P.C.; KUMAR, A.A. Clostridial infections in animals. **Indian Veterinary Medical Journal**, v.14, p.162, 1990.

HUMPHREYS, P.N. Problems of keeping ornamental waterfowl. **Journal of Small Animal Practice**, v.17, p.607- 616, 1976.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JOHNSON, E.A.; BRADSHAW, M. *Clostridium botulinum* and its neurotoxins: a metabolic and cellular perspective. **Toxicon**, Oxford, v.39, p.1703-1722, 2001.

JEFFREY, J.S. et al. Type C botulism in turkeys: determination of the median toxic dose. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.6, p.93-95, 1994.

LEDERMANN, W.D. The History of *Clostridium botulinum*. **Revista Chilena de infectologia**, v.20, p. 39-41. 2003.

LINARES, J.A. et al. An outbreak of botulism in pheasants and subsequent occurrence in chickens. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.6, p.272-273, 1994.

- LINDSTRÖM, M.; KORKEALA, H. Laboratory diagnostics of botulism. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.2, p.298-314, 2006.
- LOBATO, F.C.F. et al. Clostridioses dos pequenos ruminantes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.102, p. 23-34, 2007.
- LOBATO, F.C.F. et al. Caso de botulismo tipo C em ganso ocorrido em Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.4, p.1179-1180, 2008
- LOBATO, F.C.F. et al. Botulismo tipo C em perus em Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, p.272-274, 2009.
- LOBATO, F.C.F. et al. CLOSTRIDIOSES DOS ANIMAIS DE PRODUÇÃO. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, p. 29-48, 2013.
- MACHADO, F.M.E. et al. Botulismo em patos (*Cairina moschata*) ocorrido no Parque Municipal Mata do Ipê na Cidade de Uberaba-MG. **PUBVET**, v.4, n.22, 2010.
- MARTINEZ, R.; WOBESER, G. Immunization of duck for type C botulism. **Journal of Wildlife Disease Association**, v.35, n.4, p.710-715, 1999.
- OLINDA, R.G. et al. Surto de botulismo tipo C em aves domésticas no semiárido do Nordeste, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.22, n.3-4, p.157-159, 2015.
- PIGATTO, C.P. et al. Intoxicação natural por *Clostridium botulinum* tipo C em grupo de aves domésticas. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.2, p.12-16, 2007.
- PINILLOS, M.A. et al. Intoxicación por alimentos, plantas y setas. **Anales del Sistema Sanitário de Navarra**, Pamplona, v.26, p.71-76, 2003.
- ROCKE, T.E. et al. Efficacy of a type C botulism vaccine in green-winged teal. **Journal of Wildlife Disease**, v.36, n.3, p.489-493, 2000.
- RADOSTITS, O.M. et al. Clínica veterinária: **um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RODLOFF, A.C.; KRÜGER, M. Chronic *Clostridium botulinum* infection in farmers. **Anaerobe**, v.18, p.226, 2012.
- SCHOCKEN-ITURRINO, Ruben Pablo. Clostridioses Aviárias. In: ANDREATTI FILHO, Raphael Lucio. **Saúde Aviária e Doenças**. São Paulo: Roca, p. 133-135, 2006.
- SILVA, R.O.S. et al. CASO DE BOTULISMO TIPO C EM CÃO. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife-PE, v.11, p.86-89, 2008.
- SWAMINATHAN S. Molecular structures and functional relationships in clostridial neurotoxins. **The FEBS journal**. V.278, p. 4467, 2011.

TAKEDA, M. et al. Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism. **Avian Diseases**, v.49, p.376-381, 2005.

TAKEDA, M. et al. Protective effect of botulism C/D mosaic toxoid against avian botulism. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.68, p.325-330, 2006.

TRAMPEL, D.W. et al. Toxico infectious botulism in commercial caponized chickens. **Avian Diseases**, v.49, p.301, 2005.