

BOTULISMO ANIMAL NO RIO GRANDE DO SUL: BOTULISMO POR
TIPO C EM GALINHAS*.

Animal Botulism in Rio Grande do Sul: Botulism by C Type
in Chickens.

Danilo Saraiva**

RESUMO

Em galinhas do município de Santa Maria, no Rio Grande do Sul, foi observada mortalidade que sugeria o diagnóstico provável de botulismo.

Soro sanguíneo, extratos de fígado e de conteúdo do inglúvio, sobrenadantes estéreis de culturas feitas a partir do conteúdo ingluvial de aves que morreram, revelaram a presença de uma toxina lábil que matava camundongos brancos entre 18 e 96 horas, em doses de 0,4 a 0,5 ml via subcutânea.

Camundongos inoculados com toxinas neutralizadas pelo soro anti botulínico tipo C sobreviveram assim como os que receberam toxinas aquecidas em banho-maria fervente durante 10 minutos. Os testemunhos, inoculados com toxinas não neutralizadas pelo referido soro, morreram apresentando dispnêia, cintura de vespa e paralisia progressiva até a morte.

Esta é a primeira observação de botulismo animal no Rio Grande do Sul.

SUMMARY

In chickens of Santa Maria, Rio Grande do Sul, it has been observed mortality suggesting probable diagnosis of botulism.

Blood serum, liver and crop content extracts, sterile supernatants of cultures made from the crop content of dead chickens, showed the presence of a labile toxin killing white mice between 18 and 96 hours in doses of 0.4 to 0.5 ml subcutaneously.

Mice inoculated with toxins neutralized by type C antitoxin serum have survived as those inoculated with toxin previously heated in water bath at 100° C for 10 minutes. Controle mice inoculated with toxins not neutralized died showing dyspnea and progrressive paralysis to death.

* Este trabalho foi relatado durante o 7º Congresso Brasileiro de Microbiologia, P. Alegre, 25-29.7.1976.

** Professor Titular do Departamento de Clínicas Veterinárias - UFSM.

This is the first observation of animal botulism in Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

O botulismo, cuja etiologia foi determinada por ERMENGEM (6) em 1897, já era doença conhecida, clinicamente, pelos médicos em meados do século XIX.

LEUCHS (7), em 1910, verificou que poderia ser causado por tipos diferentes de germes.

DICKSON (5), em 1917, descreveu a doença em aves que apresentavam sintoma popularmente conhecido como "Limber neck" ou seja peçoço mole.

BENGSTON (2, 3) registrou uma forma curiosa de botulismo: a ingestão de larvas da mosca *Lucilia caesar*, que cresciam em carcaças em putrefação, produziu a morte de aves com sintomas de botulismo. Pôde isolar o germe que descreveu e com o qual reproduziu a doença.

Considerável confusão ocorreu, posteriormente, com a nomenclatura dos tipos de *Clostridium botulinum* e mais pormenores poderão ser encontrados em PRÉVOST, TURPIN & KAISER (9).

No Brasil, REIS & NOBREGA (10), em 1956 e BUENO, BAQUER & NAKANO (1), em 1962, registraram 7 casos de botulismo em aves, diagnosticados clinicamente.

TOKARNIA, LANGENEGGER, LANGENEGGER & CARVALHO (11) comprovaram, clínica e laboratorialmente, o botulismo em bovinos do Piauí, em 1970.

BRADA, LANGENEGGER & LANGENEGGER (4), em 1971, comprovaram, laboratorialmente, a existência do botulismo em aves do Estado do Rio de Janeiro, produzido pelo *Clostridium botulinum* tipo C.

No Estado do Rio Grande do Sul, o botulismo nunca fora observado até 1958. Nesse ano, ocorreu um surto de botulismo humano, muito bem estudado sob o ponto de vista clínico, anatomopatológico e bacteriológico, por diversos autores, tendo sido tipificado o germe em causa como *Clostridium botulinum* tipo A, por PEREIRA FILHO (8), foi ele isolado em cultura pura.

No Rio Grande do Sul, houve suspeita da existência da doença em bovinos de Santa Vitória do Palmar, em 1964, mas isto não foi comprovado segundo o Dr. Arnaldo Guilherme Bauer (comunicação pessoal). A doença não foi descrita em animais até o presente.

É por essa razão que, tendo tido oportunidade de estudar casos de botulismo em aves, decidiu-se relatá-los, o que constitui objeto do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O material do presente trabalho constituiu-se por 2 galinhas doentes, de um lote de que morreram muitas aves com a mesma sintomatologia, no município de Santa Maria, no estado do Rio Grande do Sul. Tratava-se de criação doméstica e as aves eram mantidas em liberdade.

As aves, trazidas a este laboratório, foram examinadas clinicamente e necropsiadas após a morte. Foram coletados para os diversos exames, o sangue, conteúdo do inglúvio, conteúdo intestinal e o figado.

Foram realizadas culturas em meio de Robertson e em ágar sangue a partir do figado e do conteúdo do inglúvio, tanto em condições aeróbias como em anaerobiose. Foram incubadas por períodos de 3 a 10 dias às temperaturas de 37° C e de 30° C.

Foram preparados extratos, em salina, com o figado e conteúdo do inglúvio, mediante trituração com areia, na proporção de uma parte de material para duas de salina.

Tanto os extratos como as culturas foram centrifugadas durante 15 minutos a 5.000 r.p.m., tratados com 1.000 unidades internacionais da penicilina e 2 mg de estreptomina, por mililitro. Após repouso por 3 a 4 horas em refrigerador, foram inoculados em camundongos albinos de 20 g de peso, nas doses de 0,4 a 0,5 ml por via subcutânea. Sempre foi feita prova de esterilidade bacteriana dos inóculos.

A toxinotipia foi realizada em camundongos, com soros antitoxínicos* sendo utilizada a técnica da soro-neutralização, tanto para os extratos como para as culturas. Após a mistura do material que potencialmente poderia conter toxina, com o soro, aquela ficava em temperatura ambiental durante 30 minutos, sendo inoculada em camundongos conforme indicações anteriores. Uma parte dos extratos e dos sobrenadantes das culturas foi aquecida em banho-maria a 58° C durante 30 minutos. Outra parte foi aquecida em banho-maria em ebulição durante 10 minutos. Os extratos aquecidos foram inoculados conforme já foi indicado.

Os camundongos mortos foram necropsiados e examinados bacteriológicamente.

* Os soros diagnósticos foram gentilmente cedidos pelo Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, USA.

RESULTADOS

O exame clínico das aves revelou estado comatoso, com pescoço flácido, penas facilmente arrancadas, crista e barbelas arroxeadas, com apoio do bico no solo. As tentativas para fazê-las levantar foram baldadas. Havia midríase e o reflexo pupilar estava ausente.

A necrópsia, verificou-se estar o inglúvio repleto. O conteúdo, em sua maior parte, era constituído por larvas de moscas, com pequena quantidade de milho e grama. A única alteração macroscópica observada foi uma congestão generalizada a todos os órgãos.

O soro, extratos de fígado e do conteúdo do inglúvio, inoculados em camundongos, revelaram-se altamente tóxicos embora bacteriologicamente estéreis. O mesmo sucedeu com os sobrenadantes de culturas em meio de Robertson, feitas a partir do conteúdo do inglúvio.

Os meios semeados com fígados das aves e dos camundongos mortos permaneceram estéreis.

Os extratos de fígado, de conteúdo do inglúvio e os sobrenadantes de culturas, aquecidos a 58° C por 30 minutos, permaneceram tóxicos mas quando aquecidos durante 10 minutos a 100° C deixaram de sê-lo.

Os extratos de órgãos e os sobrenadantes de culturas, empregados na toxinotipia, foram perfeitamente neutralizados pelo soro antitibotulínico tipo C, conforme os dados contidos na Tabela 1.

DISCUSSÃO

Com base nos dados clínicos, de necrópsia e, sobretudo, pelo resultado da toxinotipia, conclui-se que a morte das aves foi proveniente de intoxicação botulínica produzida pela ingestão de toxina contida nas larvas por elas ingeridas, fato já demonstrado como possível por BENGSTON (2, 3).

O sangue e o extrato de fígado eram altamente tóxicos, mostrando que grandes quantidades de toxinas tinham sido absorvidas. O sobrenadante estéril de um extrato feito com uma larva (exteriormente lavada), em 5 ml de salina matava camundongo em 24 horas na dose de 0,5 ml via subcutânea.

Os sintomas apresentados pelos camundongos inoculados, tanto com os diversos extratos como os inoculados com soro e sobrenadantes estéreis de culturas foram semelhantes: mostravam cintura de vespa e morriam após quadro de paralisia progressiva acompanhada de intensa dispnéia.

A toxina foi completamente neutralizada pelo soro antitibotulínico C, indicando tratar-se de tipo C, igual ao encontrado no Rio de

Tabela 1. Resultado das provas realizadas.

Soro sanguíneo	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Extrato de fígado	-	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Extrato de fígado aquecido a 100º C	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Extrato de conteúdo de papo	-	-	-	-	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Extrato de conteúdo de papo aquecido a 100º C	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sobrenadante estéril de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,4	-	-	-	
Sobrenadante de cultura, aquecido a 100º C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	
Soro antituberculínico tipo C	0,05	-	0,05	-	-	0,05	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	
Salina	0,05	0,1	0,05	0,1	0,1	0,05	0,1	0,1	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Resultado	S	M	S	M	S	S	M	S	S	M	S	M	S	S	S	S	S	M	M	S

M = Morto

S = Sobreviveu

Janeiro, por BRADA et alii (4).

A origem do surto deve-se, pois, à ingestão de larvas de moscas (a espécie não pôde ser determinada) que cresceram em material pu^utrefeito.

Por ocasião do início do problema, não foram encontradas carca^uças de animais em putrefação no estabelecimento nem nas proximida^udes. O proprietário, contudo, referiu o fato de que, aproximadamen^ute 15 dias antes, um bovino tinha sido abatido para consumo. Os pul^umões assim como outros resíduos do animal abatido tinham sido dados como alimento aos cães da propriedade. Dada a abundância de alimen^uto, o proprietário achou perfeitamente possível que os cães tenham enterrado parte dele, na ocasião excessivo, para consumo posterior, conforme hábito desses animais.

O germe, presente no solo, teria penetrado e crescido no mate^urial enterrado com produção de toxina.

Ao ser desenterrado posteriormente pelos cães, moscas teriam de^upositado seus ovos nesse material, dando origem a larvas que conte^uriam grande quantidade de toxina. Estas larvas, ingeridas pelas aves, foram a causa do problema.

CONCLUSÕES

1. É diagnosticado pela primeira vez no Rio Grande do Sul o bo^utulismo animal.
2. Ficou demonstrado que a origem do surto foi a ingestão de larvas de moscas contendo toxina botulínica.
3. A toxinotípi^ua mostrou que se tratava de intoxicação pelo *Clostridium botulinum* tipo C.

LITERATURA CITADA

1. BUENO, R. C.; BAQUER, S. R. & NAKANO, M. - Doenças das Aves em São Paulo. Análise de 28.147 casos. *Arqs. Inst. Biol. São Paulo*, 29:231-270, 1962.
2. BENGSTON, I. A. - Preliminary Note on a Toxin-producing Anaerobe Isolated Principally from the Larvae of *Lucilia caesar*. *Public Health Reports*, 37(4):164-170, 1922.
3. BENGSTON, I. A. - A Toxin-producing Anaerobe Isolated Principally from Fly Larvae. *Public Health Reports*, 38:340-344, 1923.
4. BRADA, W.; LANGENEGGER, J. & LANGENEGGER, C. H. - Botulismo em aves no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vêt.*, 6:27-32, 1971.

5. DICKSON, E. C. - Botulism. A Cause of Limber-neck in Chickens. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 50:612-613, 1917.
6. ERMENGEM, E. van - Über einem neuer Anaeroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. *Zeitschrift f. Hygiene Infektionskrankheit*, 26:1-55, 1897.
7. LEUCHS, J. - Beiträge zur Kenntnis des Toxins und Antitoxins des Bacillus butulinus. *Zeitschrift f. Hygiene Infektionskrankheit*, 65:55-84, 1910.
8. PEREIRA FILHO, M. J. - Diagnóstico Biológico do Surto de Botulismo do Pronto Socorro de Porto Alegre. *Medicina & Cirurgia*, 10(2):52-111, 1958.
9. PRÉVOST, A. R.; TURPIN, A. & KAISER, P. - *Les Bactéries Anaérobies*. Paris, Dunod, 1967, 2.188 p.
10. REIS, J. & NOBREGA, P. - *Tratado de Doenças das Aves*. 2^a ed. São Paulo, Melhoramentos, 1956, t. 1, 416 p.
11. TOKARNIA, C. H. ; LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C. H. & CARVALHO, E. V. - Botulismo em Bovinos do Piauí. *Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet.*, 5:465-472, 1970.