

BOTULISMO POR *Clostridium botulinum* TIPO C EN PATOS EN URUGUAY

Cattáneo M^{1,2}, Bermúdez J^{1,2}, Duran E², Baison M², Meriño I²,
Carvalho Filho MB³, Nascimento RAP³, Lobato FCF⁴, Uzal FA⁵, Assis RA³

¹ Área de Bacteriología. Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria.
Universidad de la República. Uruguay.

² Laboratorio Santa Elena S.A. Uruguay.

³ Ministerio da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento, LANAGRO-MG, Brasil.

⁴ Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁵ California Animal Health and Food Safety Laboratory System, CA, USA.

RESUMEN: El botulismo en aves es una toxi-infección producida por la ingestión de toxina botulínica preformada o esporas de *Clostridium botulinum*. El agente produce gran mortalidad en aves acuáticas y se encuentra presente en la mayoría de los países del mundo. El objetivo del presente trabajo es informar una mortandad debido a toxi-infección por *C. botulinum* tipo C en patos de un criadero del Departamento de Salto. La sintomatología clínica que presentaban los animales fue disnea, respiración a pico abierto, parálisis flácida del cuello (cuello colgante) y patas estiradas hacia atrás. Se detectó toxina botulínica en contenido de ciego de los patos y agua y se aisló *C. botulinum* tipo C del agua de bebida. Los resultados obtenidos sugieren que el brote fue a causa de la ingestión de esporas de *C. botulinum* tipo C presentes en el agua de bebida.

Palabras claves: Patos, botulismo, *Clostridium botulinum* tipo C.

BOTULISM *Clostridium botulinum* TYPE C IN DUCKS IN URUGUAY

ABSTRACT: Botulism in birds is a toxi-infection caused by the ingestion of preformed toxin or spores of *Clostridium botulinum*. This disease produces high mortality in waterfowl and it occurs in most countries of the world. The objective of this paper is to report an outbreak of botulism by *C. botulinum* type C in ducks in a duck farm of Salto Department, Uruguay. The clinical signs consisted of dyspnoea, open mouth breathing and flaccid paralysis of the neck. *C. botulinum* type C toxin was detected in cecal content of the ducks and in drinking water. This microorganism was also isolated from the water. The results suggest that the outbreak was caused by the ingestion of spores of *C. botulinum* type C present in the drinking water.

Keys Words: Ducks, botulism, *Clostridium botulinum* type C

Fecha de recepción: 19/07/08

Fecha de aprobación: 12/12/08

Dirección para correspondencia: M. Cattáneo. Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Uruguay. Lasplaces 1550, Montevideo, Uruguay, CP 11.600, tel.: 0598-02-6227311

E-mail: catta1973uy@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

El botulismo en aves es una toxi-infección producida por la ingestión de toxina preformada o esporas de *Clostridium botulinum*. Esta bacteria produce 8 tipos de neurotoxinas diferentes (A, B, C, D, E, F y G) siendo la intoxicación más común en aves la del tipo C. El botulismo produce gran mortalidad en aves acuáticas, encontrándose presente en la mayoría de los países del mundo. Los síntomas más característicos son parálisis flácida afectando los músculos de las alas y del cuello; esto último le provoca la muerte por inmersión al no poder los patos mantener la cabeza por encima del agua. Los animales se pueden intoxicar a partir de alimentos y agua contaminados. La ración contaminada con materia orgánica en descomposición, la muerte de aves o peces en el agua y vegetales muertos son los lugares adecuados para la producción de toxina botulínica. En Uruguay, en 1948, Trenchi y col (1), describieron la enfermedad en patos, de los que aislaron *C. botulinum* a partir de hemocultivo.¹⁻⁴ El objetivo del presente trabajo es informar un brote de botulismo por *C. botulinum tipo C* en patos y el aislamiento de este microorganismo del agua de bebida en un criadero familiar del Departamento de Salto, Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

HISTORIA CLÍNICA

El brote se produjo en un establecimiento familiar ubicado en el Barrio Artigas de la ciudad de Salto dedicado a la cría de patos, donde había una población de 200 animales al momento del brote. La anamnesis indicaba que 185 patos murieron con síntomas de parálisis flácida en un periodo de 2 meses y al momento de realizar una visita al criadero solo quedaban 15 patos vivos, de los cuales 4 presentaban alteraciones clínicas y 11 fueron considerados clínicamente sanos. La sintomatología clínica que presentaban los 4 patos enfermos al momento de la visita consistía en disnea, respiración con pico abierto, parálisis flácida del cuello (cuello colgante) y patas estiradas hacia atrás. Según los dueños del criadero los animales comenzaban a morir a partir de las 24 a 48 horas de administrarles una ración de afrechillo de trigo recién adquirida. La mayoría de los patos morían el mismo día que comenzaban a mostrar alteraciones clínicas, en forma aguda. La ración fue retirada a los 15 días de comenzadas las muertes, pero estas continuaron por un periodo de 45 días.

Se tomaron muestras de sangre de los 4 patos con sintomatología clínica descrita más arriba, se los sacrificó y se les realizó necropsia completa, recogiendo las siguientes muestras en forma aséptica: hígado, cerebro, contenido del intestino delgado y contenido del ciego. La

sangre se centrifugó, separándose el suero. Se tomaron además muestras de agua de un charco que utilizaban los animales para beber.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN LABORATORIO

Las muestras fueron enviadas refrigeradas al laboratorio donde se las mantuvo entre 4-8 °C hasta el momento de su procesamiento dentro de las 24 h de obtenidas. La utilización de animales de laboratorio se realizó bajo las normas y procedimientos de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal -CHEA de la Universidad de la República (2).

ESTUDIO TOXICOLÓGICO

Las muestras de tejido (hígado y cerebro) y contenido intestinal fueron diluidas en un buffer de gelatina obteniéndose una suspensión homogénea la que se centrifugó a 3.000 g y se filtró por membrana esterilizante de 0,22 µm. Se inocularon 2 ratones blancos adultos en forma intraperitoneal con 0,5 ml del supernadante de cada muestra. Además, dos ratones se inocularon también en forma intraperitoneal con 0,5 ml de las muestras de agua y suero, respectivamente, previamente filtradas como se indicó más arriba. Los ratones fueron observados durante 5 días para registrar sintomatología o muerte. A los materiales que provocaron síntomas se lo neutralizó con antitoxina botulínica de los tipos C y D. Para esto se utilizaron antitoxinas del tipo C y D con 5 y 1 UI/ml (Veterinary Research Institute, Onderstepoort, Sudáfrica). Se enfrentaron 0,1 ml de la antitoxina con 0,5 ml de la muestra, se incubaron 60 minutos a 37 °C y se inocularon ratones en forma intraperitoneal (3, 4).

ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

De la suspensión de los materiales y del agua se inocularon tubos con medio de carne picada (Cooked Meat; DIFCO™, USA) y se incubaron durante 48 horas a 37 °C. Los cultivos con crecimiento se centrifugaron a 3000 RPM, durante 10 minutos, a una temperatura de 18 °C y se inocularon ratones utilizando el mismo procedimiento que en los estudios toxicológicos. Los cultivos positivos a toxina botulínica se subcultivaron para obtener cultivos puros. Estos consistieron en siembra en placas de agar sangre en forma anaeróbica durante 72 horas a 37 °C. Una vez obtenido la colonia aislada se le realizaron las siguientes pruebas: tinción de Gram, tinción de espora (Wirtz-Conklin), pruebas bioquímicas de rutina, inmunofluorescencia directa y estudios toxicológicos tal como se describió más arriba (3, 4, 5, 6).

RESULTADOS

HALLAZGOS DE NECROPSIA

No se observaron lesiones macroscópicas en los animales examinados.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El contenido del ciego y el agua sembrados en medio de carne picada fueron positivo a toxinas de *C. botulinum* tipo C. El resto de los materiales fueron negativos para el ensayo en ratones. En los estudios bacteriológicos solamente la muestra de agua brindo cultivos puros, caracterizado por el crecimiento de colonias blanco-cizentadas de aproximadamente 1 cm de diámetro y borde regular, características de *C. botulinum*. En la tinción de Gram se observaron bacilos Gram positivos y en la tinción de Wirtz la presencia de esporas ovaladas y subterminales. Las pruebas bioquímicas mostraron el siguiente resultado: Lecitina (-), Lipasa (+), glucosa, maltosa y hidrólisis de la gelatina (+), lactosa, sacarosa e indol (-). En la IFD se observó la presencia de bacilos positivos a *C. botulinum*. El estudio toxicológico de las colonias mostraron resultados positivos a toxinas de *C. botulinum* tipo C. Del cultivo de las otras muestras se obtuvieron cultivos mixtos en los que no se pudieron identificar colonias de *C. botulinum*.

DISCUSIÓN

En base a los signos clínicos, hallazgos de necropsia y toxicológicos, se confirmó la ocurrencia de botulismo por la toxina botulínica del tipo C. Se detectó la presencia de toxina botulínica tipo C en cultivos obtenidos de contenido de ciego de patos, en forma similar a lo que sucede en otras regiones del mundo, incluyendo el Uruguay. Se consideró que la ingestión de agua conteniendo las esporas fue la causa de este brote de toxi-infección botulínica ya que el agua del charco inoculada directamente en ratones fue negativa, mientras que el crecimiento obtenido de la siembra del agua en medio de carne picada (Cooked Meat; DIFCO™, USA) fue positivo a la inoculación en ratones y asilándose a partir de este mismo material *C. botulinum*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Trenchi, H. Laringotraqueitis infecciosa su comprobación en el Uruguay y intoxicación botulínica en patos. MGA. Dirección de Ganadería. Imprenta Rosgal. Ejido 1624, 1948; p. 3 -13.
2. www.csic.edu.uy/chea/
3. Sterne M, Batty I. *Pathogenic Clostridia*. Butterworth. 1975.
4. Metodología diagnósticas de las enfermedades producidas por el género clostridium. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Argentina. 1984. Serie técnica n° 1.

5. Quinn PJ, Carter M, Carter, G. Clinical Veterinary Microbiology. 9 ed. USA. Ed. Mosby, 1994; p. 191-208.

6. Bermudez J, Cobo A, Lopez R, Franchi M, Mederos A. Botulismo: Primera comunicación sobre la detección de toxina botulínica en bovinos, en el Uruguay. 1982. www.santalena.com.uy

7. Cattáneo M, Bermúdez. Botulismo. 2006. www.santalena.com.uy