

## BOTULISMO EM CÃES: REVISÃO DE LITERATURA

Carolina Lechinski de Paula<sup>1</sup>  
Carmen Daza Bolaños<sup>1</sup>  
Márcio Garcia Ribeiro<sup>1</sup>

### RESUMO

O botulismo é uma enfermidade causada pela ingestão de toxinas produzidas pelo *Clostridium botulinum*, bactéria gram-positiva, anaeróbica e formadora de esporos, que está amplamente distribuída na natureza, no solo e em sedimentos de lagos e mares. Em cães, a doença ocorre principalmente pela ingestão da toxina pré-formada presente em alimentos deteriorados ou carcaças em decomposição. Após a absorção, a toxina migra por via hematogênica até as terminações nervosas e bloqueia a liberação da acetilcolina na membrana pré-sináptica da junção neuromuscular, resultando em paralisia completa do neurônio motor inferior. Os cães acometidos apresentam paralisia flácida ascendente da musculatura esquelética, embora a sensibilidade e a consciência sejam mantidas. O diagnóstico presuntivo é realizado com base no histórico do animal e nas manifestações clínicas. A técnica padrão para o diagnóstico definitivo é a inoculação intraperitoneal de soro sanguíneo dos animais suspeitos em camundongos. O tratamento de suporte é fundamental para a recuperação. O prognóstico é bom, exceto nos casos com infecções secundárias ou outras complicações. A recuperação é completa geralmente entre 2 a 3 semanas. Nos casos mais severos, pode ocorrer a morte por paralisia da musculatura respiratória. A profilaxia da doença nos cães é baseada na restrição ao consumo de alimentos deteriorados ou carcaças em putrefação.

**Palavras – chave:** botulismo, *Clostridium botulinum*, toxina, cães.

### BOTULISM IN DOGS: REVIEW ARTICLE

#### ABSTRACT

Botulism is a disease caused by ingestion of toxins produced by *Clostridium botulinum*, a gram positive bacterium, anaerobic spore-forming, which are widely distributed in nature, soil and sediments of lakes and seas. In dogs, the disease mainly occurs by ingestion of preformed toxin present in spoiled food or rotting carcasses. Once absorbed, the toxin migrates through hematogenous until the nerve endings and blocks the release of acetylcholine at the presynaptic membrane of the neuromuscular junction, resulting in complete paralysis of the lower motor neuron. The affected dogs have ascending flaccid paralysis of the skeletal muscles, although the sensitivity and awareness are maintained. Initial diagnosis is carried out through the history of the animal as well as clinical manifestations. The standard technique for definitive diagnosis is intraperitoneal inoculation of blood serum of suspected animals in mice. Supportive care is essential to recovery. The prognosis is good if there is no development of secondary infections or other complications. The recovery is complete after a period of 2 to 3 weeks. In more severe cases, death can occur due to paralysis of the respiratory muscles. The prevention of the disease in dogs is based on restricting the consumption of spoiled food or rotting carcasses.

**Keywords:** botulism, *Clostridium botulinum*, toxin, dogs.

<sup>1</sup> Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública/Área de Enfermidades Infecciosas dos Animais. FMVZ-Unesp-Botucatu. Contato principal para correspondência.

## BOTULISMO EN CANINOS: REVISIÓN DE LITERATURA

### RESUMEN

El botulismo es una enfermedad causada por la ingestión de toxinas producidas por *Clostridium botulinum*, bacteria gram-positiva, anaerobia y formadora de esporas, que está ampliamente distribuida en la naturaleza, suelo y sedimentos de lagos y mares. En caninos, la enfermedad ocurre principalmente por la ingestión de la toxina preformada presente en alimentos deteriorados o carcasas en descomposición. Después de ser absorbida, la toxina migra por vía hematogena hasta las terminaciones nerviosas y bloquea la liberación de acetilcolina en la membrana presináptica de la unión neuromuscular, resultando en parálisis completa de la neurona motora inferior. Los caninos afectados presentan parálisis flácida ascendente de la musculatura esquelética, aunque la sensibilidad y la conciencia sean mantenidas. El diagnóstico presuntivo se hace basado en la historia del animal, así como en las manifestaciones clínicas. La técnica estándar para el diagnóstico definitivo es la inoculación intraperitoneal de suero sanguíneo de los animales sospechosos en ratones. El tratamiento de soporte es fundamental para la recuperación. El pronóstico es bueno, excepto en casos con infecciones secundarias o otras complicaciones. La recuperación es completa generalmente entre 2 a 3 semanas. En los casos más severos puede ocurrir muerte por parálisis de la musculatura respiratoria. La profilaxis de la enfermedad en los caninos está basada en la restricción del consumo de alimentos deteriorados o carcasas en putrefacción.

**Palabras clave:** botulismo, *Clostridium botulinum*, toxina, caninos.

### INTRODUÇÃO

O botulismo é uma doença neuroparalítica grave, não contagiosa, resultante da ação de uma potente toxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum* (1), caracterizada por paralisia flácida da musculatura esquelética (2,3,4). A doença é observada principalmente em equinos, ruminantes e aves domésticas (5), enquanto nos cães e outros carnívoros é considerada rara (2).

O botulismo foi primeiramente descrito na Alemanha no século XVIII, após um surto associado à ingestão de salsicha de produção doméstica, de onde se originou o nome da doença (*botulus* em latim significa salsicha) (1). Nos animais domésticos, o botulismo é conhecido há aproximadamente 50 anos (6).

*C. botulinum* produz neurotoxinas características (BoNT – *botulinum neurotoxin*) (7). Atualmente, são conhecidos sete sorotipos de toxinas (A-G), cada um produzido por diferentes linhagens de *C. botulinum*, que causam paralisia muscular flácida a partir do bloqueio da liberação do neurotransmissor acetilcolina nas junções neuromusculares (8). A toxina botulínica é considerada o veneno biológico mais potente já conhecido, visto que são necessários apenas 40 gramas para matar uma população de seis bilhões de habitantes (9,10).

A doença nos cães ocorre devido à ingestão de alimentos putrefatos ou carcaças em decomposição que contenham a toxina botulínica do tipo C (2,11). O tratamento dos animais é sintomático. O diagnóstico de rotina é fundamentado nas manifestações clínicas e histórico do animal (4). A prova biológica em camundongos é o principal método de diagnóstico laboratorial (12,13,14). A prevenção da doença nos cães se baseia em evitar o consumo de alimentos crus ou em putrefação, principalmente oriundos de aves e ruminantes (2).

Apesar de o Brasil apresentar condições favoráveis ao desenvolvimento do botulismo, ainda são poucos os estudos que demonstram a verdadeira realidade brasileira diante da enfermidade (15), ficando a grande maioria das descrições da doença em cães restritas aos

relatos de casos. O presente estudo revisou os principais aspectos de botulismo em cães com ênfase na etiologia, patogenia, diagnóstico e controle.

### *Etiologia*

*C. botulinum* são bacilos gram-positivos, retos a ligeiramente curvos, móveis, formadores de esporos, saprófitas e anaeróbicos, distribuídos nos solos de todo o mundo (16). A bactéria pertence à microbiota do trato intestinal de equinos, bovinos e aves, onde se multiplica e é eliminada em grandes quantidades nas fezes por mais de oito semanas após o início da colonização (17,18). À microscopia, se apresentam sob a forma de bastonetes de 0,5 a 2,0 µm de largura e 1,6 a 22 µm de comprimento, com esporos ovais subterminais (2).

Estas bactérias produzem toxinas com propriedades farmacológicas similares, porém antigenicamente diferentes (14,19). Sete tipos antigenicamente distintos de neurotoxina botulínica (BoNT) foram identificados: A, B, C, D, E, F e G (13). Todos os tipos possuem estrutura semelhante e mesmo efeito neurotóxico (2). Os tipos A, B, E e F estão associados com a doença em humanos (20,21). A toxina tipo G foi associada a alguns casos de morte súbita, enquanto que os tipos C e D são quase exclusivamente identificados em animais (18,22-25). O tipo D é mais prevalente em herbívoros e o tipo C predomina em aves e carnívoros (14).

As toxinas botulínicas são consideradas as mais potentes toxinas, apresentando DL50 de 1 a 5ng/kg (26). A toxina não é secretada, sendo liberada exclusivamente por lise das células vegetativas ou esporos (16). Os esporos de *C. botulinum* são as formas mais resistentes dentre os agentes bacterianos, podendo sobreviver por mais de 30 anos em meio líquido e, provavelmente, por maior tempo ainda em estado seco (17). Os esporos podem tolerar temperaturas de 100°C por horas. Para destruí-los, os alimentos contaminados devem ser aquecidos a 120°C por 30 minutos. A resistência dos esporos ao calor varia entre as linhagens (18).

Condições anaeróbicas e ambiente com nutrientes apropriados (altas quantidades de material orgânico) são requeridos para a germinação dos esporos e divisão celular (2). O organismo multiplica-se em condições anaeróbicas e de baixa acidez (pH acima de 4,6°C) (14). A toxina tipo C é estável na faixa de pH de 2,7 a 10,2 (27). A bactéria multiplica-se em temperaturas entre 15 e 45°C, embora algumas linhagens possam multiplicar-se a temperaturas tão baixas como 6°C (2). A temperatura ótima para que a bactéria assuma a forma vegetativa é de 37°C (1). Ao contrário dos esporos, as toxinas botulínicas são termolábeis, inativadas pelo aquecimento a 100 °C por 5 minutos (24,25,28).

### *Epidemiologia*

Em cães, apesar da baixa frequência, a doença ocorre geralmente pela ação da toxina do tipo C, oriunda da ingestão de carne deteriorada, ingredientes alimentares estragados e, principalmente, de carniça (11). Açudes contaminados pela toxina também constituem fontes de contaminação para cães de propriedades rurais (29,30). Em áreas endêmicas para botulismo, carcaças de animais mortos são invadidas pelo *C. botulinum* com produção subsequente de elevadas concentrações de toxinas, de modo que quantidades muito pequenas da carne ou de ossos contêm toxina em concentrações letais. A toxina pode persistir na carniça de animais de produção por no mínimo um ano (31).

Nas zonas de clima temperado, o botulismo apresenta-se quase que exclusivamente nos meses quentes do verão. Temperaturas compreendidas entre 22° e 37°C nestas regiões favorecem a produção de toxina pela bactéria no alimento (6).

### *Patogenia*

As neurotoxinas botulínicas são metalproteínas polipeptídicas de 150 kDa (32,33). Todas as BoNT são compostas de uma cadeia pesada (H) de 100 kDa e uma cadeia leve (L) de 50 kDa. As cadeias H e L estão conectadas por uma ligação do tipo simples dissulfureto intercadeias (32,34) considerada essencial para a toxicidade (35). A BoNT é inativa quando eliminada, (32,35) requerendo clivagem por enzimas proteolíticas para formar a molécula de cadeia dupla, altamente ativa (36).

Após a ingestão, as toxinas são absorvidas principalmente no intestino delgado, atingindo o sistema linfático via endocitose, semelhante ao que ocorre com proteínas do alimento. A toxina pode continuar a ser absorvida no intestino grosso e cólon, mas este processo ocorre lentamente. A partir do sistema linfático, a toxina entra na corrente sanguínea (2).

A toxina absorvida é ligada na forma de cadeias de dissulfureto (16), atingindo os terminais nervosos colinérgicos periféricos (33). Após a ligação, a toxina atravessa a membrana da célula por endocitose mediada por receptor (20). A toxina é internalizada em uma vesícula dotada de uma bomba de prótons ATPase (26,33). Uma porção da molécula penetra na célula nervosa e bloqueia a liberação de neurotransmissores. O bloqueio da liberação de acetilcolina é causado pela clivagem dependente de zinco de um ou dois dos três componentes do núcleo do aparelho de neuroexocitose, formado pelas proteínas SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] attachment receptor) (16,19,26). Sintaxina, Sinaptobrevina e SNAP-25 são proteínas SNARE essenciais para a ancoragem e fusão de vesículas sinápticas com a membrana pré-sináptica, eventos que levam à liberação da acetilcolina na junção neuromuscular (2,16).

Diferentes tipos de toxina botulínica podem clivar várias proteínas dentro do sistema de neuroexocitose na membrana. A toxina do tipo C tem como alvo a sintaxina e SNAP-25 (19), com clivagem da sintaxina considerada a mais significativa na patogenia (19,35).

A ação da toxina do tipo C não altera a formação de vesículas sinápticas, tampouco o número e a distribuição ao longo da membrana pré-sináptica. A liberação do neurotransmissor simplesmente não ocorre, pois as vesículas não se fundem com a membrana pré-sináptica (32).

A ligação da toxina ao terminal neural da junção neuromuscular é irreversível e o bloqueio neuromuscular resulta na destruição da placa motora terminal (37). O elevado peso molecular da toxina botulínica a impede de atravessar a barreira hematoencefálica, de modo que todos os sintomas neurológicos de botulismo estão relacionados com o sistema nervoso periférico (38).

As BoNTs não causam a morte do neurônio afetado. Se o animal sobreviver, a recuperação ocorre por inativação das cadeias L, remoção das proteínas truncadas e síntese de novo sistema SNARE, com recuperação dos componentes funcionais das junções neuromusculares. Assim, animais com botulismo têm o potencial para a recuperação completa da função neurológica, sem sequelas (2).

### *Manifestações Clínicas*

O botulismo em cães é reconhecido como doença rara (2). Em todas as espécies de animais domésticos, o botulismo é caracterizado pela disfunção generalizada do neurônio motor inferior, levando à fraqueza e paralisia flácida (2). O período de incubação em cães varia de 24 a 48 horas, podendo se prolongar até seis dias após a ingestão da toxina (39).

A gravidade dos sinais clínicos está diretamente relacionada à susceptibilidade individual e quantidade de toxina ingerida. Com efeito, mais precoces são os sinais, maior a

gravidade da doença (2). Os cães acometidos apresentam astenia ascendente simétrica que pode resultar em tetraplegia (2,3). O tônus muscular está reduzido e os reflexos espinhais estão ausentes, embora a movimentação da cauda seja preservada (4). A percepção da dor está intacta e não ocorrem atrofia muscular nem hiperestesia (3).

Os cães acometidos ocasionalmente apresentam disfunções em nervos cranianos, com perda do reflexo pupilar à luz, vocalização fraca, fraqueza facial, diminuição do tônus mandibular e disfagia (2,4). Podem ocorrer sinais parassimpáticos como diminuição da produção de saliva e lágrima, midríase, constipação, e retenção urinária (40). Ceratoconjuntivite seca bilateral ocorre devido à diminuição da produção lacrimal (2). É comum o aparecimento de regurgitação, decorrente do desenvolvimento de megaesôfago (4).

A duração da doença em cães que se recuperaram varia de 14 a 24 dias (2). Em casos severos a morte pode resultar de paralisia da musculatura respiratória (2,3,4), ou devido às infecções secundárias, principalmente em trato respiratório e urinário (2). Mesmo em casos aparentemente menos graves pode ocorrer morte por pneumonia por aspiração (40).

### Diagnóstico

O diagnóstico de rotina do botulismo canino é baseado nas manifestações clínicas e/ou no histórico do animal, que geralmente envolve a ingestão de alimentos deteriorados ou carcaças decompostas (4). Os exames laboratoriais em cães (hemograma, bioquímica sérica, urinálise) se apresentam comumente dentro dos limites de referência (2,3), a menos que ocorram complicações como úlceras de decúbito e infecções do trato respiratório ou urinário (2). Radiografias torácicas podem revelar megaesôfago e pneumonia por aspiração (41).

A eletromiografia (EMG) demonstra que a disfunção do neurônio motor inferior em cães clinicamente afetados ocorre na junção neuromuscular e talvez na condução dos nervos periféricos (3). Com a evolução da doença, a eletromiografia pode acusar potenciais de fibrilação e atividade insercional prolongada, baixa amplitude do potencial de ação muscular evocado e desaceleração das velocidades motoras e sensoriais no nervo periférico. A restauração da velocidade e amplitude corresponde a uma melhoria clínica (42). A biópsia do nervo ou do músculo pode ser empregada na exclusão de alguns diagnósticos diferenciais não infecciosos (40).

O isolamento de *C. botulinum* a partir de fezes ou conteúdo intestinal deve ser avaliado com cautela, posto que o esporo pode ser encontrado normalmente no trato gastrointestinal de animais sadios (43).

Além disso, o isolamento do organismo é demorado, requer instalações especializadas e pessoal treinado. *C. botulinum* produtor de toxina do tipo C é considerado um dos mais fastidiosos, visto que exige condições estritas de anaerobiose (2).

Não são detectadas lesões características na necropsia. As alterações patológicas podem ser atribuídas à ação paralisante da toxina, principalmente na musculatura respiratória. Não há efeito da toxina em algum órgão em particular (44).

O diagnóstico definitivo do botulismo é baseado na demonstração da toxina no soro, fezes, vômito ou conteúdo estomacal, ou em amostras do alimento ingerido. O soro deve ser coletado o mais cedo possível do início do curso da doença e, preferencialmente, quando o animal apresentar sinais clínicos evidentes (2).

O método padrão e mais confiável de identificação da toxina permanece o bioensaio ou inoculação em camundongos (12-14). O teste consiste em inocular 0,5 ml do soro sanguíneo do animal com suspeita clínica na cavidade peritoneal de camundongos. É necessário também manter um grupo controle de camundongos que não recebem inoculação. Os animais são observados em intervalos de 3 a 4 horas, por até 72 horas, para verificar possíveis alterações no comportamento e estado físico. Após a inoculação, caso os camundongos apresentem pelos

erçados, dispneia, relaxamento muscular característico na região abdominal denominado de “cintura de vespa”, dificuldade de locomoção e morte, sugere-se presença de toxina ativa na amostra. Os animais controles não devem apresentar sinal da doença e nem evoluir para óbito (1).

O teste é extremamente sensível, com limite de detecção entre 10 a 20 pg de toxina/mL. Porém, apresenta desvantagens como o uso de animais de laboratório e exige a utilização de testes de neutralização para a determinação do sorotipo da toxina (7).

A tentativa de substituição dos testes que utilizam animais de laboratório têm resultado no desenvolvimento de ensaios *in vitro*, os quais podem apresentar a sensibilidade e a confiabilidade do bioensaio em camundongos (45). Estes testes incluem técnicas de radioimunoensaio, hemaglutinação passiva e ELISA (39).

Os principais diagnósticos diferenciais do botulismo em cães incluem a raiva, polirradiculoneurite e miastenia gravis aguda (2,4). A raiva deve ser considerada como diagnóstico diferencial nos cães gravemente acometidos, mas, de modo geral, está associada à alteração do estado mental e morte em até dez dias. A fraqueza dos músculos da face, mandíbula e da faringe é mais pronunciada no botulismo do que na polirradiculoneurite aguda (4).

### Tratamento

Não há tratamento específico para o botulismo em cães (4). O tratamento de suporte é fundamental, posto que a recuperação espontânea ocorrerá se a quantidade ingerida de toxina não for alta e se infecções do trato respiratório e urinário forem evitadas (2,3). Nos animais com ingestão recente de alimento suspeito, a remoção de material a partir do trato intestinal por lavagem gástrica, catárticos ou enemas pode ser útil (2). Agentes catárticos contendo magnésio podem aumentar a ação da toxina botulínica (14).

Animais afetados devem ser mantidos em piso confortável devido ao decúbito prolongado, com auxílio na alimentação (3). O débito urinário requer monitoramento e, se necessário, a bexiga deve ser esvaziada com compressão manual. Enemas e laxantes podem ser realizados caso ocorra constipação (2,46). Fluidos parentais devem ser administrados para evitar a desidratação, especialmente se a deglutição é prejudicada (2).

Para evitar a alteração da microbiota intestinal, que favorece a multiplicação de *C. botulinum*, antibacterianos devem ser administrados apenas quando necessário, em casos onde ocorra o desenvolvimento de infecções secundárias. A antibioticoterapia com penicilina (10.000 - 30.000 UI, VO, a cada 12 horas) ou Metronidazol (5 mg/kg, VO, a cada 3 horas) tem sido realizada em cães na tentativa de reduzir a microbiota intestinal dos clostrídios patogênicos (2,3). A eficácia destes fármacos é controversa, visto que a doença geralmente é causada pela ingestão da toxina pré-formada e porque nenhum fármaco é capaz de eliminar totalmente o *C. botulinum* do intestino. A possibilidade de que estes fármacos possam agravar a doença por liberar mais toxinas mediante lise bacteriana ou promovendo infecção intestinal também é considerada (2).

Para o tratamento específico, a antitoxina tipo C pode ser administrada via intramuscular em duas injeções, com intervalo de quatro horas, na dose de 10.000U (4). A antitoxina não é de fácil obtenção no mercado brasileiro (47) e o uso é controverso (3), uma vez que é eficaz se for administrada no início do curso da doença, pois não atua na toxina ligada nas terminações nervosas, fato que ocorre rapidamente após a absorção (2). Nenhum fármaco está disponível comercialmente para humanos ou animais que antagonize os efeitos das toxinas botulínicas (32).

### *Prognóstico*

O prognóstico é bom para os cães leve a moderadamente acometidos. Nesses casos, a recuperação ocorre em 2 a 3 semanas. Nos casos mais graves, o prognóstico é reservado, ocorrendo o óbito por paralisia dos músculos respiratórios ou infecções secundárias, principalmente pulmonares e das vias urinárias (2,48,49).

### *Prevenção e Controle*

A profilaxia do botulismo em cães pode ser aplicada por restrição ao acesso à carne putrefata, não permissão ao consumo de carne crua de aves e alimentos contaminados ou inadequadamente cozidos (50). O aquecimento dos alimentos a 80°C por 30 minutos ou a 100°C por 10 minutos inativa a toxina botulínica (2). Vacinas com toxóides botulínicos são utilizadas em outras espécies como forma de prevenção, principalmente ruminantes e aves silvestres (51-53). Entretanto, no caso dos cães, a vacinação não é justificável, uma vez que casos de botulismo nesta espécie são raros (2). Animais recuperados não desenvolvem imunidade devido a baixa quantidade de toxina necessária para produzir sinais clínicos (54).

### *Saúde Pública*

Os animais afetados com botulismo não representam risco para os humanos no momento do exame clínico ou tratamento. Entretanto, devem ser tomados cuidados ao manusear espécimes clínicos que possam conter a toxina, mantendo-as devidamente identificadas e acondicionadas antes do envio ao laboratório (2). Profissionais que processam amostras suspeitas ou que fazem a necropsia de animais que morreram de botulismo apresentam risco de adquirir a doença por inalação de aerossóis da toxina ou contaminação de feridas (38).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Botulismo é considerado doença rara em cães. Descrições da doença no Brasil estão comumente restritas aos relatos de casos. No país, a doença é mais estudada em bovinos. Apesar de necessários, estudos epidemiológicos mais detalhados que revelem a real prevalência em cães ou que envolvam grande número de animais são difíceis de serem realizados. Deve-se salientar o risco maior da doença em cães errantes ou que habitem áreas rurais, que possam ter acesso à comida deteriorada ou carcaças em decomposição, ressaltando a importância da aplicação de um destino correto para esses materiais.

A quantidade de toxina ingerida determina a gravidade da doença, caracterizada por paralisia flácida generalizada, associada à preservação do movimento da cauda e à percepção dolorosa normal. Contrariamente a outros diferenciais, o botulismo tem tratamento sintomático e prognóstico bom. Os animais que se recuperam não apresentam imunidade para a doença, nem o desenvolvimento de sequelas. O diagnóstico de botulismo pode se complicar devido ao desconhecimento da doença por alguns clínicos, fato relacionado à raridade dos casos em algumas regiões e à falta de estudos epidemiológicos sobre a doença. O diagnóstico definitivo nem sempre é realizado, uma vez que são necessários laboratórios especializados e técnicos treinados, além da utilização de animais de laboratório. Várias outras técnicas diagnósticas estão em desenvolvimento, visando a simplificação dos procedimentos e segurança nos resultados.

**REFERÊNCIAS**

1. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância epidemiológica de botulismo. Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2006.
2. Barsanti JA. Botulism. In: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p.416-22.
3. Greene CE. Moléstias bacterianas. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato. 4a ed. São Paulo: Manole; 1997.
4. Taylor SM. Doenças neuromusculares. In: Nelson RW, Couto CG. Medicina interna de pequenos animais. 4a ed. São Paulo: Elsevier; 2010. p.1104-9.
5. Biberstein EL, Hirsh DC. Os clostrídios. In: Hirsh DC, Zee YC. Microbiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p.219-30.
6. Beer J. Doenças infecciosas em animais domésticos. 2a ed. São Paulo: Roca; 1999. p.255-60.
7. Mcgrath S, Dooley JSG, Haylock RW. Quantification of Clostridium botulinum toxin gene expression by competitive reverse transcription-PCR. Appl Environ Microbiol. 2000;66:1423-8.
8. Singh BR. Intimate details of the most poisonous poison. Nat Struct Biol. 2000;7:617-9.
9. Arnon SS. Human tetanus and human botulism. In: Rood JI, McClane BA, Songer JG, Titball RW. The clostridia: molecular biology and pathogenesis. California: Academic Press; 1997. p.95-115.
10. Ledermann W. Historia del Clostridium botulinum. Rev Chil Infectol. 2003;20:39-41.
11. Jones TC, Hunt RD, King NW. Patologia veterinária. 6a ed. São Paulo: Manole; 1997.
12. Fenicia L, Franciosa G, Pourshaban M, Aureli P. Intestinal toxemia in two young people, caused by Clostridium butyricum type E. Clin Infect Dis. 1999;29:1381-7.
13. Fernandez RA, Ciccarelli AS. Botulism: laboratory methods and epidemiology. Anaerobe. 1999;5:165-8.
14. Shapiro RL, Hatheway C, Swerdlow DL. Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. Ann Intern Med. 1998;129:221-8.
15. Maboni F, Monego F, Dutra I, Costa MM, Vargas AC. Ocorrência de botulismo em bovinos confinados no Rio Grande do Sul. Cienc Anim Bras. 2010;11:962-5.
16. Chaddock JA, Melling J. Clostridium botulinum and associated neurotoxins. In: Sussman M. Molecular medical microbiology. San Diego: Academic Press; 2001. p.1141-52.
17. Cereser ND, Costa FMR, Rossi Júnior OD, Silva DAR, Sperotto VR. Botulismo de origem alimentar. Cienc Rural. 2008;38:280-7.

18. Eduardo MBP, Mello MLD, Katsuya EM, Campos JC. Manual de Botulismo: orientações para profissionais de saúde. São Paulo; 2002.
19. Humeau Y, Doussau F, Grant NJ. How botulinum and tetanus neurotoxins block neurotransmitter release. *Biochimie*. 2000;82:427-46.
20. Bleck TP. *Clostridium botulinum*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.218-81.
21. Ferrari ND, Weisse ME. Botulism. *Adv Pediatr Infect Dis*. 1995;10:81-91.
22. Kalluri P, Crowe C, Reller M, Gaul L, Hayslett J, Barth S, et al. An outbreak of foodborne Botulism Associated with Food Sold at a Salvage Store in Texas. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1490-5.
23. Cardoso T, Costa M, Almeida HC, Guimaraes M. Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos. *Acta Med Port*. 2004;17:54-8.
24. Sobel J, Tucker N, Sulka A, McLaughlin J, Maslanka S. Foodborne Botulism in the United States, 1990-2000. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1606-11.
25. Sobel J. Food Safety - Botulism. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1167-73.
26. Montecucco C, Molgo J. Botulinal neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5:274-9.
27. Halouzka J, Hubalek Z. Effect of pH on the stability of type-C toxin of *Clostridium botulinum*. *Folia Microbiol*. 1992;37:157-8.
28. Hutzler RU. Botulismo. In: Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.1563-6.
29. Colbachini L, Schocken-Iturrino RP, Marquez LC. Intoxicação experimental de bovinos com toxina botulínica tipo D. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1999;51:229-34.
30. Bruchim Y, Steinman A, Markovitz M, Baneth G, Elad D, Shpigel NY. Toxicological, bacteriological and serological diagnosis of botulism in a dog. *Vet Rec*. 2006;158:768-9.
31. Radostis OM, Blood DC, Gay CC. Clínica Veterinária. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
32. Atassi MZ, Oshima M. Structure, activity, and immune (T and B cell) recognition of botulinum neurotoxins. *Crit Rev Immunol*. 1999;19:219-60.
33. Rossetto O, Morbiato L, Caccin P, Rigoni M, Montecucco C. Presynaptic enzymatic neurotoxins. *J Neurochem*. 2006;97:1534-45.
34. Hadley HS, Wheeler JL, Petersen SW. Effects of intra-articular botulinum toxin type A (Botox®) in dogs with chronic osteoarthritis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2010;4:255-8.

35. Rossetto O. Tetanus and botulinum neurotoxins: turning bad guys into good by research. *Toxicon*. 2001;39:27-41.
36. Midura TF. Infant botulism. *Clin Microbiol Rev*. 1996;2:119-25.
37. Edwards RC, Butt FYS, Bonacci CA, Kendall KA. Wound botulism: a clinical experience. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;117:S214-8.
38. Horowitz B Z. Botulinum toxin. *Crit Care Clin*. 2005;21:825-39.
39. Corrêa WM, Corrêa CNM. Clostridioses. In: *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2a ed. Rio de Janeiro: MEDSI; 1992. p.291-315.
40. Rusbridge C. Sistema nervoso. In: Ramsey IK, Tennant BJ. *Manual de doenças infecciosas em cães e gatos*. São Paulo: Rocca; 2010. p.270-1.
41. Tilley LP, Smith JR, Francis WK. *Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina*. 2a ed. São Paulo: Manole; 2003. p.499-500.
42. van Nes JJ, van der Most, van Spijk D. Electrophysiological evidence of peripheral nerve dysfunction in six dogs with botulism type C. *Res Vet Sci*. 1986;40:372-6.
43. Lindström M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:298-314.
44. Dohms JE. Clostridial diseases : Botulism. In: Kahn CM, Lines S, Aiello SE. *The Merck Veterinary Manual*. 10th ed. Whitehouse Station: Merck and Co, Inc; 2010. p.552-3.
45. Wictome M, Newton K, Jameson K, Hallis B, Dunnigan P, Mackay E, et al. Development of an in vitro bioassay for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin in foods that is more sensitive than the mouse bioassay. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65:3787-92.
46. Walker EL. Os clostrídeos. In: Hirsh DC, Zee YC. *Microbiologia Veterinária*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.220-30.
47. Silva ROS, Salvarani FM, Pires OS, Assis RA, Salles PR, Carvalho Filho MB, et al. Caso de botulismo tipo C em cão. *Cienc Vet Trop*. 2008;11:86-9.
48. Farrow BR, Murrell WG, Revington ML, Stewart BJ, Zuber RM. Type C botulism in young dogs. *Aust Vet J*. 1983;60:374-7.
49. Bors M, Valentine BA, Lahunta A. Neuromuscular disease in a dog. *Cornell Vet*. 1988;78:339-45.
50. Kriek NPJ, Odendaal MW. Botulism. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC. *Infectious diseases of livestock*. Cape Town: Oxford Press; 1994. p.1354-71.
51. Rocke TE, Samuel MD, Swift KP, Yarris GS. Efficacy of a type C botulism vaccine in greenwinged teal. *J Wildlife Dis*. 2000;36:489-93.

52. Lobato FCF, Salvarani FM, Silva ROS, Souza AM, Lima CGRD, Pires PS, et al. Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama de frango. Cienc Rural. 2008;38:1176-8.
53. Arimitsu H, Lee JC, Sakaguchi Y, Hayakawa Y, Hayashi M, Nakaura Miki, et al. Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of Clostridium botulinum Type C and D neurotoxins. Clin Diagn Lab Immunol. 2004;11:496-502.
54. Coleman ES. Clostridial neurotoxins: tetanus and botulism. Compend Contin Educ Pract Vet. 1998;20:1089-94.

**Recebido em: 13/03/2014**

**Aceito em: 22/02/2016**