

OCORRÊNCIA DE *Clostridium botulinum* TIPOS C E D EM CRIATÓRIOS DE BOVINOS NO MUNICÍPIO DE COCALINHO, VALE DO ARAGUAIA, MATO GROSSO

Aires Manoel de Souza¹
Francisco de Carvalho Dias Filho²
Iveraldo Santos Dutra³
Dercino Francisco Marques⁴
Sebastiana Heloisa da Silva⁴
José Ailton de Souza⁴
Plínio Mathias dos Santos⁵
Walisson Pereira Godoi⁶
Rodrigo Otávio de Melo Gomes⁶

Palavras-chave: Soroneutralização, esporos, toxinas, fezes, sedimento.

OCCURRENCE OF TYPES C AND D OF *Clostridium botulinum* IN CATTLE IN THE CITY OF COCALINHO, MATO GROSSO. BRAZIL

ABSTRACT

In order to assess the occurrence and distribution of spores and toxins of *Clostridium botulinum* types C and D in three farms in Cocalinho, at the Araguaia River valley, State of Mato Grosso, Brazil, we analyzed sediment samples from 40 water holes, soil and cattle feces, collected around water holes. Sediments were analyzed by direct method, whilst feces, soil and also sediment samples were individually analyzed by indirect method. The detection of spores and botulinum toxins in the filtered material was performed by bioassay in Swiss Webster mice strain, as well as the serum-neutralization of the positive materials for typing. Samples of cattle feces showed the largest positive rate for *C. botulinum*, with 25/40 (62.5%), followed by soil, 12/40 (30%), and by sediment, 13/40 (32.5%). From the 40 cattle feces samples, 25 (62.00%) were positive for *Clostridium botulinum*; six samples were identified as type C, other six as type D, and 13 samples were classified as CD complex. From the equal number (40) of soil samples, 12 (30%) were positive for *C. botulinum*; two samples were identified as type C, other three as type D, and seven samples were classified as CD complex. Regarding the 40 sediment samples, 13 (32.5%) were positive for *C. botulinum*; two samples were identified as type C, other three as type D, and eight samples were classified as CD complex. No botulism toxin was detected by indirect method.

Keywords: Serum-neutralization, spores, toxins, faeces, sediment.

INTRODUÇÃO

O botulismo é uma intoxicação alimentar que afeta várias espécies animais e é decorrente da ingestão de toxinas de *Clostridium botulinum* presentes nos alimentos segundo Dutra et al. (1). A doença é descrita no Brasil desde a década de 60 por Tokarnia et al. (2) e

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Rua 55, nº 626, Apartamento 1201, Edifício Rio Sena, Jardim Goiás, Goiânia-GO. CEP: 74.810-230. E-mail: airesvet@gmail.com

² Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás

³ Escola de Veterinária – Araçatuba/UNESP

⁴ AGRODEFESA, Goiânia-GO

⁵ Secretaria de Saúde, Aparecida de Goiânia-GO

⁶ Acadêmicos de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Goiás

tem sido associada à osteofagia decorrente da deficiência de fósforo no solo, tendo nos sistemas extensivos de criação o foco de sua descrição e discussão.

O esporo do *Clostridium botulinum* é a forma mais resistente que se têm encontrado na natureza entre os agentes bacterianos, conforme citação de Radostits et al. (3).

Na Região do Vale do Araguaia, em função das características topográficas, a pecuária de corte é a principal atividade econômica. Os investimentos e as características regionais favoreceram a implantação da bovinocultura na região. Entretanto, com relação ao aspecto sanitário do rebanho, sabe-se que o solo da região é deficiente em fósforo. Isto favoreceu o aparecimento do botulismo endêmico, principalmente na estação chuvosa, verificado também por Langenegger (4), com a mortalidade de milhares de bovinos. Nessa região, em virtude do aumento do rebanho, da necessidade de dividir as pastagens para racionalizar o seu uso e da existência de poucos mananciais hídricos, foi necessária a construção de cacimbas artificiais. As cacimbas são, portanto, construídas com a finalidade exclusiva de propiciar água para os animais. Em determinadas circunstâncias ocorre o acúmulo de matéria orgânica nas cacimbas, constituída principalmente pelas fezes de bovinos, causando sérios prejuízos à pecuária nacional.

Nos últimos anos, vem ocorrendo nessa região, uma doença denominada vulgarmente de “Mal das Cacimbas”, descrito por Souza et al. (5). As características epidemiológicas, clínico-patológicas e laboratoriais revelaram tratar-se de intoxicação botulínica, causada pelas toxinas C e D, provenientes das águas das cacimbas.

MATERIAL E MÉTODOS

Com o objetivo de avaliar a ocorrência de *Clostridium botulinum* tipos C e D em três criatórios de bovinos no município de Cocalinho, Vale do Araguaia, Mato Grosso, foram colhidos sedimentos no interior de 40 cacimbas e uma amostra fezes e solo ao redor das mesmas. Pelo método direto foram analisados os sedimentos. Já as fezes, solos e também sedimentos separadamente, foram submetidos ao teste indireto.

As amostras de sedimento, solo e fezes, sendo cada uma constituída de um volume aproximado de 1.000 ml, 500g e 500g respectivamente, utilizando-se, na colheita, uma draga “Petersen Grab” e coletores apropriados. As amostras foram dispostas em frascos limpos, convenientemente lacrados e identificados com número de ordem geral. Dessa forma, as amostras foram transportadas para o Laboratório do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

No laboratório, cada amostra foi semeada em alíquotas de duas gramas em cinco tubos de ensaio 20x200 mm, contendo 20 ml de meio de Wright. Os meios de cultura recém semeados com as amostras foram aquecidos em banho-maria a 80° C, durante uma hora. Após o resfriamento no meio ambiente, os tubos foram incubados em estufa bacteriológica (35°C), por um período de cinco dias. O conteúdo líquido dos tubos foi colocado em um frasco, centrifugado a 3.000 RPM, durante 10 minutos, e o sobrenadante foi filtrado em placas de Seitz EK. Os filtrados foram acondicionados em frascos estéreis tipo penicilina e mantidos congelados a -15°C, até o bioensaio em camundongo para detecção da presença de toxina botulínica. No bioensaio os camundongos foram observados duas vezes ao dia, durante dez dias, com vistas à verificação da presença de sinais clínicos sugestivos do botulismo: respiração ofegante, incoordenação motora, dificuldade de andar, abdômen cintado, paralisia flácida progressiva, incapacidade de locomoção, asfixia e morte, segundo metodologia empregada por Souza (6). Dos materiais considerados positivos no bioensaio em camundongo, foram realizados o teste de soroneutralização para a tipificação da toxina botulínica.

A detecção de esporos e toxinas botulínicas foi realizada nos filtrados pelo bioensaio em camundongos da raça Swiss, linhagem Webster, da mesma forma que a soroneutralização para tipificação dos materiais positivos

Souza (5) verificou que, na região do Vale do Araguaia, ocorre grande número de cacimbas. Em períodos de estiagens prolongadas, essas coleções d'água tendem a secar. Com o acúmulo de matéria orgânica, o baixo nível d'água e a presença de peixes mortos e restos de carcaças de bovinos e outras espécies animais em decomposição aumentam os riscos de ocorrência do botulismo hídrico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a utilização do método direto para pesquisa de *Clostridium botulinum*, observou-se que das 40 amostras de fezes de bovinos analisadas 25 (62,00%) foram positivas. Destas seis pertenciam ao tipo C, seis ao tipo D e 13 ao complexo CD. Quanto as amostra de solo 12 (30%) foram positivas, destas duas foram identificadas como sendo do tipo C, três do tipo D e sete do complexo CD. Nas 40 amostras de sedimentos 13 (32,5%) foram positivas, destas duas foram caracterizadas como sendo do tipo C, três do tipo D e oito do complexo CD. Pelo método direto não foi identificada nenhum tipo de toxina botulínica.

A construção artificial de cacimbas com a finalidade de serem utilizadas na dessedentação de bovinos viabilizou até o presente momento a pecuária de corte desenvolvida na região. No entanto, devido às suas características, as cacimbas criam condições potencialmente favoráveis à disseminação de enfermidades de transmissão fecal-oral e, ainda, à de ocorrência de problemas sanitários em que a veiculação hídrica possa estar envolvida. Amaral (7) cita que resíduos provenientes de animais são freqüentemente responsáveis pela poluição d'águas superficiais e subterrâneas em muitas regiões. Segundo o autor, pela ação das chuvas, os eventuais resíduos chegam às águas em função do arraste de material rico em matéria orgânica e microorganismos. Todos esses processos certamente estão envolvidos com a problemática das cacimbas do Vale do Araguaia.

Os resultados da presente pesquisa devem ser analisados no contexto da evolução dos problemas relacionados com o botulismo em bovinos no Brasil. Segundo (Döbereiner et al. (8), a ocorrência em larga escala do botulismo endêmico no País com a mortalidade de centenas de milhares de bovinos e a inexistência da prática de cremação de carcaças, sobretudo nas criações extensivas de bovinos segundo Dutra & Döbereiner (9), provocou uma intensificação da contaminação ambiental pelos esporos da bactéria, principalmente a partir de carcaças de bovinos supostamente acometidos pelo botulismo, citado por Souza (6). Os bovinos, ao pastar em áreas contaminadas pelo *Clostridium botulinum*, ingerem esporos que são disseminados pelas fezes. Ao defecar no interior ou nas proximidades das cacimbas, os animais veiculam ou criam condições para o carregamento de esporos e matéria orgânica vegetal para o interior da água de dessedentação dos animais. As condições das cacimbas, com a presença de matéria orgânica, inclusive fezes de bovinos, e a sua dinâmica em termos de variação dos níveis d'água, associadas à ocorrência de *Clostridium botulinum*, são importantes componentes da cadeia epidemiológica do botulismo bovino associado às cacimbas. Com isto, cria-se um risco potencial para a ocorrência de botulismo associado à ingestão da água eventualmente contaminada. A detecção das toxinas botulínicas C e D, ou caracterizadas como pertencentes ao complexo CD, revela o risco da formação de toxinas nas cacimbas do Vale do Araguaia, e que é possível detectá-las pelo bioensaio em camundongo e tipificá-las pela soroneutralização.

A presença de carcaças no interior das cacimbas no final da estação seca é um agravante que favorece a ocorrência do botulismo hídrico. Pôde-se observar, durante a realização do trabalho, que produtores que já tiveram problemas provavelmente relacionados com a ingestão d'água contaminada pelos animais, cercam o centro das cacimbas, evitando

assim o acesso dos bovinos. Esse comportamento, baseado em observações empíricas, está cada vez mais comum no Vale do Araguaia.

As amostras de fezes de bovinos foram as que apresentaram maior quantidade de *Clostridium botulinum*, com 62,5% de positividade, seguidas das amostras provenientes dos sedimentos das cacimbas com 32,5% e do solo, 30%, fator que pode ser explicado pela presença natural do *Clostridium botulinum* no trato intestinal, conforme descrito por Souza et al. (5).

CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos na presente pesquisa, é recomendável que os pecuaristas tomem providências cabíveis, tais como vacinar o gado contra o botulismo, impedir o carreamento de resíduos (fezes e carcaças) para o interior das cacimbas ou modificar o sistema de bebedouro dos animais, uma vez que a tendência é o possível aumento da mortalidade dos animais provocada pela intoxicação botulínica, pois conforme levantamento epidemiológico, ainda são crescentes os relatos à cerca desta enfermidade.

REFERÊNCIAS

1. Dutra IS, Döbereiner J, Rosa IV, Souza LAA, Nonato M. Surtos de botulismo em bovinos associados à ingestão de água contaminada. *Pesq Vet Bras.* 2001; 21(2):43-8.
2. Tokarnia CH, Langenegger J, Langenegger CH, Carvalho EV. Botulismo em bovinos no Estado do Piauí, Brasil. *Pesq Agrope. Bras Sér. Vet.* 1970; 5: 465-72.
3. 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.
4. Langenegger, J. Epidemiologia do botulismo em nosso meio, aspectos relacionados com diagnóstico da doença e considerações sobre a utilização da vacina. In: Simpósio Sobre Carências Minerais no Estado de Goiás, 1981, Goiânia, GO. Anais... Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1981. p. 218-37.
5. Souza AM. Ocorrência de esporos de toxinas de *Clostridium botulinum* tipos C e D em cacimbas utilizadas como bebedouros de bovinos em pastagens no Vale do Araguaia, Estado de Goiás, Brasil. 2001. 166f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
6. Souza A.M. Distribuição de esporos de *Clostridium botulinum* no solo em torno de cadáveres decompostos de bovinos vítimas de botulismo em pastagens no sul de Goiás. 1985. 66 f. [Dissertação] - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
7. Amaral LA. Influência da precipitação pluviométrica nas características bacteriológicas, físicas e químicas d'água de diferentes mananciais de abastecimento na cidade de Jaboticabal – SP. 1992. 114 f. [Tese] – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.
8. Döbereiner J, Tokarnia CH, Langenegger J, Dutra IS. Epizootic botulism of cattle in Brazil. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* 1992; 95(5): 188-90.
9. Dutra IS, Döbereiner J. Eficácia da Vaxall - vacina botulínica bivalente - na prevenção do botulismo em bovinos. *H Vet.* 1996; 93: 22-6.