

BOTULISMO EM BOVINOS NO PIAUÍ, BRASIL¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², JEROME LANGENEGGER³, CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER⁴ e EDSON VERAS DE CARVALHO⁵

Sinopse

Foi estudada a chamada "doença da mão dura" em bovinos, doença que ocorre no interior do Estado do Piauí em regiões com acentuada deficiência de fósforo e onde são mantidas e criadas mais de 100 mil reses. Nos últimos anos, estimou-se que ela vitimou de 2 a 3 mil bovinos anualmente, tornando-se assim importante problema sanitário e econômico para a pecuária daquela área. A doença vem sendo assinalada a partir de 1960 no Município de Campo Maior e desde 1964 em vários municípios ao sul do Estado.

Foi feito o diagnóstico de botulismo, sob forma epizootica, baseando-se no histórico e em observações gerais da doença, nos exames clínicos de 15 animais doentes e na necropsia de 14 dêles, complementados por exames de laboratório para a confirmação do diagnóstico e exclusão de outras doenças.

As culturas de conteúdo do rúmen, do intestino grosso, do intestino delgado, do fígado e de outros substratos revelaram a presença de toxina botulínica em um ou vários dos materiais coletados dos 11 casos submetidos ao exame bacteriológico. Testes de soro-proteção em cobaios indicaram tratar-se de toxina dos tipos C e D. Das 11 amostras de solo, colhidas em locais onde se decompuseram cadáveres de bovinos, vítimas prováveis de botulismo, em oito foram também obtidas culturas produtoras de toxina.

INTRODUÇÃO

O botulismo em bovinos manifesta-se como doença epizootica em regiões geográficas com acentuada deficiência de fósforo. Os animais procuram suprir a falta desse mineral na alimentação através da ingestão de ossos de cadáveres. Esta necessidade orgânica leva os bovinos ao curioso hábito de roerem ossos. É um dos sintomas da afosforose dos bovinos. Tal circunstância constitui-se no principal fator para a ocorrência e disseminação de botulismo em bovinos sob forma epizootica, pois o *Clostridium botulinum*, desenvolvendo-se nos cadáveres, produz a toxina botulínica com a qual os animais se intoxicam quando pela osteofagia ingerem tecidos em decomposição.

Theiler (1920), na África do Sul, demonstrou que a doença conhecida por "lamsiekte" (doença paralisante) era o botulismo dos bovinos, criados em am-

plas áreas do país, carentes em fósforo. O diagnóstico foi posteriormente confirmado pelo isolamento de *Cl. botulinum* e a identificação do tipo D (Meyer & Gunnison 1929, Robinson 1930, Theiler *et al.* 1927).

Na Austrália, Seddon (1922) descreveu o botulismo em bovinos com o nome de paralisia bulbar ou "Tasmanian Midland disease", relacionando-o também com a deficiência de fósforo nas pastagens da Tasmânia. Conseguiu isolar de osso de bovino *Cl. botulinum*, identificado como tipo C, como variante do tipo C descoberto por Bengtson (1922) em larvas de *Lucilia caesar* nos Estados Unidos. Posteriormente Bennetts e Hall (1938) assinalaram a mesma doença na região ocidental da Austrália e Craven (1964) registrou surtos de botulismo em bovinos no norte de Queensland. Simmons e Tammemagi (1964) isolaram *Cl. botulinum* tipo D de bovinos desta última região.

Já há muitos anos ocorre, nas planícies da costa do Texas, nos Estados Unidos, uma doença dos bovinos conhecida por "loin disease" que é muito semelhante ao botulismo descrito na África do Sul. Nessas áreas há também acentuada deficiência de fósforo nas pastagens e a osteofagia é comum. As culturas de material dos cadáveres revelam a presença de toxina botulínica que é neutralizada com o soro tipo D. O agente etiológico ainda não pôde ser

¹ Recebido 12 jan. 1970, aceito 5 fev. 1970.

Boletim Técnico n.º 99 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

² Veterinário do Setor de Anatomia Patológica do IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Docente da Disciplina de Anatomia Patológica da Fac. Vet. da UFF e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq 7117/68).

³ Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS e bolsista do CNPq (7115/68).

⁴ Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS.

⁵ Veterinário da Inspeção de Defesa Sanitária Animal em Teresina, Piauí, GEPA, R. Taumaturgo de Azevedo 2315.

isolado em cultura pura (Greeley & Franklin 1967, Schmidt 1916).

No Senegal, África setentrional, Calvet *et al.* (1965) descreveram também o botulismo em bovinos na região do Ferlo. A doença, conhecida por "gniedo" (paralisia dos membros), é associada à afosforose. Doutre e Chambron (1966) isolaram e identificaram *Cl. botulinum* tipo C como o agente etiológico.

No Estado do Piauí, nordeste do Brasil, vem sendo observada em bovinos, desde 1960, uma doença conhecida na região como "doença da mão dura". Ocorre em regiões com acentuada deficiência de fósforo (Tokarnia *et al.* 1970) onde são criadas e mantidas mais de 100 mil reses. Nos últimos anos, estimou-se que ela vitimou entre 2 a 3 mil bovinos anualmente, tornando-se assim importante problema sanitário e econômico para a pecuária do Estado do Piauí.

MATERIAL E MÉTODOS

Histórico e observações gerais sobre a doença

Foram coletadas informações sobre os sintomas, distribuição geográfica e incidência estacional da doença, bem como sobre o manejo e hábitos dos bovinos diante das condições ecológicas do Estado do Piauí.

Exames clínicos e achados de necropsia

Por ocasião de duas viagens, foram examinados clinicamente 15 bovinos doentes e necropsiados 14 destes. Na primeira viagem, de 17 de março a 3 de abril de 1964, foram vistos clinicamente os bovinos 2101, 2102, 2105, 2106, 2107, 2109, 2112 e necropsiados os mesmos, exceto o de n.º 2107. Na segunda viagem, de 26 de fevereiro a 21 de março de 1969, foram examinados e necropsiados os animais 2622, 2640, 2642, 2643, 2644, 2645, 2652 e 2658.

Coleta de material

Foi coletado, para confirmação do diagnóstico do botulismo, o seguinte material: conteúdo do rúmen, do intestino delgado e do intestino grosso; fragmentos de fígado e de baço conservados em gelo; larvas de mosca, ossos, fragmentos de músculos e de fígado e conteúdo de rúmen de cadáveres já autolisados (Bovinos 2551, 2569, 2589, 2609), bem como porções de solos de locais onde se decompuseram cadáveres.

Para exclusão de outras doenças foram coletados: fragmentos de cérebro conservados em glicerina tampoadada, esfregaços de sangue fixados em metanol,

sangue embebido em giz, músculo dessecado, ossos metacarpianos *in natura* e fragmentos de cérebro, cerebelo, rins, fígado, baço, pulmão, coração, intestino e linfonodos fixados em formol a 10%.

Na ocasião também foram colhidas quatro plantas, sendo uma delas conhecida por "mata zombando" e identificada como *Schultesia guianensis* (Aubl.) Malme. (Canella *et al.* 1966) e administradas, por via oral, a bezerros, na razão de 2 kg por animal de aproximadamente 100 kg de peso vivo.

Exames laboratoriais

Estudo histopatológico. O material fixado em formol foi incluído em parafina, cortado e corado pela hematoxilina e eosina, e registrado sob os n.ºs 2102 (SAP 15796), 2105 (SAP 15798), 2106 (SAP 15799), 2109 (SAP 15800), 2112 (SAP 15802), 2622 (SAP 18876), 2640 (SAP 18877), 2643 (SAP 18878), 2644 (SAP 18879).

Os esfregaços de sangue foram corados pelos métodos de Giemsa e de Gram.

Estudo bacteriológico. O material dos bovinos 2551, 2569, 2589 e 2609, já muito autolisado, consistiu de conteúdo do rúmen, fígado, larvas de mosca e medula óssea. Os bovinos 2622, 2640, 2642, 2643, 2644, 2652 e 2658, foram necropsiados e o material utilizado foi: conteúdo do rúmen, do intestino delgado e do grosso, triturado do fígado e, em um caso, do baço.

Foram feitas sementeiras no meio de Robertson (1919) e no meio de Wright (1933).

O meio de Robertson foi assim preparado:

Carne moída de bovino	500 g
Água destilada	1000 ml
Cloreto de sódio	5 g
Peptona (Difco)	10 g

O meio de Wright tem a seguinte composição:

Carne moída de bovino	500 g
Água destilada	1000 ml
Fosfato monopotássico (KH_2PO_4)	1,4 g
Fosfato dissódico (Na_2HPO_4)	0,9 g
Peptona (Difco)	11 g

Procedimento: ferver durante 90 minutos, ajustar o pH para 7,4 a 7,6, separar as partículas e colocá-las em tubos de ensaio até a altura de 3 cm. Adicionar o líquido nos tubos até 9 cm. Autoclavar o meio durante uma hora a 15 libras e depois adicionar no caldo de Robertson 5% de soro estéril de cavalo e no caldo de Wright 1% de dextrose.

Os tubos semeados com o material suspeito eram aquecidos a 70-75°C, durante uma hora e então incubados durante 5 dias em estufa a 37°C. A cultura

era filtrada em Seitz e testada a sua toxicidade em camundongos e cobaios. Os filtrados tóxicos eram submetidos nos testes de soro-proteção em cobaios e soro-neutralização em camundongos, frente aos séros antibotulínicos tipo C e tipo D*.

Para exclusão de outras doenças bacterianas foram feitas sementeiras em meios aeróbios e anaeróbios e inoculados cobaios e camundongos com o material coletado.

RESULTADOS

Histórico e observações gerais da doença

A doença ocorre em bovinos criados e mantidos no interior do Estado do Piauí, em regiões conhecidas por "agreste" em que predomina vegetação pobre, constituída mórmente de arbustos e árvores baixas, mas a maior incidência tem ocorrido nos chamados "campos do capim mimoso penasco" do Município de Campo Maior. Trata-se de área plana coberta de pastagem natural com vários capins e plantas baixas. As partes mais baixas ficam encharcadas durante o período das chuvas mais fortes. Cresce ali a planta "mata zombando" (*Schultesia guianensis*), tida como tóxica pelos criadores da região.

Nestas regiões, a maior parte do gado é mantida solta em rebanhos comuns (estão juntos os animais de vários fazendeiros), deslocando-se de uma área para outra de acordo com as condições ecológicas e o estado das pastagens. Os criadores quase não têm pastos cercados e o controle das doenças é precário.

O mais impressionante, nestas regiões, é ver o grande número de bovinos roendo ou chupando ossos de cadáveres de bovinos ou de outros animais. Segundo informações, são freqüentes os acidentes causados por engasgo com fragmentos de ossos que ficam presos na bôca, na faringe ou no esôfago. A osteofagia é observada durante todo o ano, mais acentuadamente, porém, no período das chuvas. Todos os criadores são unânimes em dizer que os bovinos, com menos de 2 anos, não roem ossos.

A incidência da doença é maior no período das águas, de dezembro a junho, conhecido ali como inverno. Nesta época, em Campo Maior, o gado se concentra mais nos campos do capim mimoso penasco e a maior mortandade de bovinos se verifica entre março e abril, coincidindo com o auge das chuvas e abundância de forragem. Na época seca, a maioria dos animais vai para o agreste, mas tanto os que

permanecem nos campos do capim mimoso penasco, quanto os que ficam no agreste, têm o hábito de roer ossos e são vítimas da doença.

O gado criado e mantido nestas regiões apresenta crescimento lento, a carcaça dá pouco rendimento, a produção de leite é pequena, as vacas não são precoces e dão cria de 2 em 2 anos, decaindo muito o seu estado geral no período da lactação. São freqüentes as fraturas de ossos. Os equinos também são pequenos e fracos. Este quadro é tipicamente o da deficiência de fósforo (Tokarnia *et al.* 1970)

O gado mantido em outras áreas, como nas terras de massapê ou na caatinga, mesmo quando bem próximas às regiões anteriormente descritas, ao contrário, não tem o hábito da osteofagia, é mais precoce e tem melhor índice de reprodutividade.

A doença é observada no Município de Campo Maior, como uma nova entidade mórbida, desde 1960 e, nos Municípios mais ao sul do Estado do Piauí (Guadalupe, Jerumenha, Floriano, Itaueira e Nazaré do Piauí), é registrada a partir de 1964. Os pecuaristas têm a impressão de que o mal está se disseminando lentamente. Afeta somente bovinos, principalmente os adultos, raramente novilhos de 2 a 3 anos de idade, não sendo observada a doença em animais mais jovens. Incide tanto em fêmeas quanto em machos; mas, segundo a maioria dos informantes, é mais freqüente em vacas paridas ou nas vacas em adiantado estado de gestação.

Segundo informações de vários criadores, o início da doença é notado quando o animal se separa do rebanho e se amonta na sombra de arbustos. Apresenta andar "trôpego", com fraqueza dos membros, mórmente dos anteriores, "mãos duras", motivo pelo qual a doença é chamada de "doença da mão dura". O bovino adoentado permanece deitado, não podendo ficar, por muito tempo, de pé. Quando é forçado a levantar-se, anda pouco e logo se deita. Os informantes acrescentam que o animal doente apresenta olhar espantado, deixa de comer, pára de remoer e em geral tem fezes ressecadas, mas em alguns casos também diarreicas. A maioria dos bovinos atacados pelo mal morre dentro de 2 a 10 dias aproximadamente. Vários criadores chamaram atenção para o fato de que alguns animais são encontrados mortos em posição esternal, parecendo, de longe, como se estivessem vivos. Segundo dados colhidos, alguns animais sobrevivem, no entanto, estes só se recuperam lentamente, refazendo-se completamente tão somente no período das chuvas do ano seguinte. A mortalidade varia de rebanho para rebanho e de ano para ano, mas pode atingir até 10% de um rebanho.

* Os séros foram codidos gentilmente pelo Instituto de Pesquisas Veterinárias de Onderstepoort, República da África do Sul.

QUADRO 1. Evolução do botulismo nos 15 casos naturais

Bovino n.º	Sexo	Evolução
2622	fêmea	algumas horas
2644	"	" "
2645	macho	" "
2642	fêmea	24 horas
2652	macho	" "
2640	fêmea	36 horas
2112	"	48 horas
2643	"	" "
2107	"	3 dias
2658	"	" "
2106	"	4 dias
2102	"	5 dias
2101	macho	8 dias
2105	fêmea	18 dias
2109	"	" "

Exames clínicos

Foram feitas observações clínicas em 15 bovinos doentes nos quais a evolução da doença variou de poucas horas a 18 dias como mostra o Quadro 1.

Os sintomas observados nestes 15 bovinos revelaram a predominância de perturbações da locomoção, sob forma de paralisia flácida, progressiva dos músculos. No início da doença os animais deixavam de acompanhar o rebanho. Mostravam desde logo dificuldade no andar e insegurança nos movimentos. Os membros, mórmente os anteriores, pareciam rígidos.

Com a evolução do mal acentuava-se, cada vez mais, a dificuldade de locomoção e permanência de pé. A tendência dos animais era ficar deitados; quando forçados, levantavam-se mas deitavam logo depois. Com a progressão da doença, tornava-se mais difícil, quase impossível, ficar de pé e o ato de deitar era descontrolado, brusco quase como uma queda. No fim, permaneciam em decúbito esternal ou lateral, morrendo dentro de horas ou dias.

Durante a evolução da doença, os animais comiam e bebiam cada vez menos. As fezes escasseavam e se tornavam mais consistentes e mesmo sêcas. Os movimentos do rúmen diminuam em frequência e intensidade.

Apesar disso, os animais mantinham os órgãos sensoriais normais, sempre com olhar vivo e reflexos espontâneos. Temperatura, batimentos cardíacos e movimentos respiratórios eram normais até o estado pré-agônico.

Todos os animais com os sintomas clínicos de botulismo morreram (os bovinos 2105, 2109, 2643 foram sacrificados *in extremis* para assegurar melhor condição de necrópsia e coleta de material). A mor-

te sempre sobrevinha mais rapidamente do que se esperava. Nos casos de evolução lenta, os animais emagreciam progressivamente, como foi visto nos casos 2105 e 2109.

Achados anátomo e histopatológicos

A necrópsia dos 14 bovinos, com o diagnóstico clínico presuntivo de botulismo, não revelou outros achados senão a presença de fragmentos de ossos e/ou de restos de tendões, aponeuroses no rúmen e no retículo em sete bovinos. Em dois bovinos havia sablose do abomaso. Em cinco casos foram notadas petéquias e equimoses no epicárdio. Nos bovinos 2622, 2640 e 2643 havia enterite catarral, muito acentuada e com petéquias nos casos 2622 e 2640. Ainda foi notada a presença de pontilhado branco-acinzentado na superfície e na profundidade do fígado dos bovinos 2102, 2112 e 2622. No caso 2105 foi encontrada infestação média por *Haemonchus* e no caso 2109 por *Paramphistoma*.

O exame histopatológico registrou, como alterações dignas de nota hemorragias capilares no sistema nervoso central nos bovinos 2102, 2106, 2109, 2112 e 2640. Revelou ausência de corpúsculos de Negri e de outras lesões que pudessem lembrar a raiva. O pontilhado branco-acinzentado dos fígados era constituído por pequenos focos de necrose com reação linfo-histiocitária. Ainda puderam ser reconhecidos infiltrados linfocitários na mucosa do intestino delgado nos casos 2622 e 2640 e hemossiderose esplênica e/ou ganglionar nos casos 2102, 2105, 2112, 2640 e 2644.

Os exames dos esfregaços de sangue não evidenciaram a presença de hematozoários e de bactérias.

Exames bacteriológicos

As culturas nos meios de Robertson e de Wright revelaram a presença de toxina botulínica em um ou vários materiais semeados dos 11 casos submetidos ao exame bacteriológico. A presença da toxina botulínica foi evidenciada pela inoculação do filtrado estéril em cobaios que responderam com os sintomas de botulismo, ou seja: incoordenação de movimentos, paresia dos membros, dificuldade em levantar a cabeça do solo, ventre cintado, flacidez da musculatura esquelética. No início, presença dos reflexos sensoriais, estado semi-comatoso antes da morte. A incubação e evolução da doença variou de 12 horas a 12 dias. A necrópsia não revelou lesões e o exame bacteriológico sempre foi negativo (Quadro 2).

A confirmação do diagnóstico de intoxicação dos cobaios por toxina botulínica, dos filtrados das culturas, foi feita pela soro-proteção em cobaios. Os co-

QUADRO 2. Resultado das culturas com evidencição da toxina botulínica pela inoculação em cobaio*

Bovino n.º	Procedência (Município)	Material semeado	Inoc. s/c, 1 ml filtrados em cobaio
2551	Campo Maior	Rúmen ^b	+ ^o em 7 dias
		Fígado	(-)
		Môscas esverdeadas	(-)
2569	Jerumenha	Rúmen	+ em 60 horas
		Fígado	+ em 30 horas
		Larvas de môsca	+ em 60 horas
2589	Floriano	Rúmen	+ em 12 horas
		Fígado	+ em 3 dias
		Larvas de môsca	+ em 40 horas
		Músculo	+ em 18 horas
2600	Campo Maior	Medula óssea do metacarpo (não foi coletado outro material)	+ em 48 horas
2622	Campo Maior	Rúmen ^d	+ em 36 horas
		Intestino delgado	+ em 30 horas
		Intestino grosso	+ em 35 horas
		Fígado	(-)
2640	Campo Maior	Rúmen ^b	+ em 15 horas
		Intestino delgado	(-)
		Intestino grosso	(-)
		Baço	+ em 9 dias
		Fígado	+ em 12 dias
2642	Campo Maior	Rúmen ^b (não foi coletado outro material)	+ em 60 horas
2643	Campo Maior	Rúmen ^d (não foi coletado outro material)	+ em 46 horas
2644	Campo Maior	Rúmen	(-)
		Intestino delgado	(-)
		Intestino grosso	+ em 25 horas
		Fígado	(-)
2652	Campo Maior	Rúmen	(-)
		Intestino delgado	(-)
		Intestino grosso	(-)
2658	Campo Maior	Fígado	+ em 4 dias
		Rúmen	+ em 6 dias
		(não foi coletado outro material)	

baio eram imunizados 2 horas antes com sôros hiper-
-imunes do tipo C e D e depois inoculados, por via
subcutânea com o filtrado tóxico. Um resultado está
apresentado no Quadro 3.

QUADRO 3. Resultado da sôro-proteção em cobaio

Cobaio n.º	Sôro tipo C	Sôro tipo D	Filtrado da cultura 2569 do fígado	Resultado
1	0,5 ml		1 ml	Sobreviveu
2	0,5 ml		1 ml	"
3		0,5 ml	1 ml	"
4		0,5 ml	1 ml	"
5	Testemunha		1 ml	Morreu
6	Testemunha		1 ml	"

O mesmo teste foi feito com os filtrados n.ºs 2589, 2609, 2622, 2640, 2642, 2643, 2644 e 2652, bem como com os dos n.ºs 2557, 2572, 2574 e 2620 das amostras de solo, com resultados idênticos. Os demais não foram testados em virtude da pequena quantidade de toxina presente nos filtrados.

O resultado dêste teste de sôro-proteção indica tratar-se de toxina portadora de frações antigênicas do tipo C e D.

Das sementeiras em meio de Robertson e de Wright, de 11 amostras de solo colhidas em locais onde se decomposeram cadáveres de bovinos cuja doença sugeria ter sido botulismo, foram obtidas 8 culturas tóxicas para cobaio que apresentavam sintomas de botulismo, antes da morte.

A sôro-proteção revelou tratar-se da toxina botulínica com as mesmas características daquela encontrada nos 11 casos já apresentados (Quadro 4).

QUADRO 4. Culturas do solo com toxina botulínica

Amostra de solo n.º	Procedência (Município)	Inoc. 1 ml do filtrado em cobaio	Sôro-proteção com anti-sôro tipos C e D
2553	Guadalupe	sobreviveu	-
2557	Guadalupe	+ em 16 horas	positivo
2572	Jerumenha	+ em 24 horas	positivo
2573	Jerumenha	sobreviveu	-
2574	Itaueira	+ em 30 horas	positivo
2580	Floriano	+ em 60 horas	positivo
2582	Floriano	sobreviveu	-
2608	José de Freitas	+ em 44 horas	positivo
2619	Campo Maior	+ em 40 horas	positivo
2620	Campo Maior	+ em 20 horas	positivo
2621	Campo Maior	+ em 7 dias	positivo

* Os cobaio mortos com sintomas de botulismo eram necropsiados e examinados bacteriológicamente para excluir outra causa mortis.

^b Conteúdo do rúmen com fragmentos de ossos.

^c + Cabaio que morreu com sintomas de botulismo; (-) Cabaio que sobreviveu.

^d Conteúdo de rúmen com restos de ligamentos e aponeuroses.

* + Cabaio que morreu com sintomas de botulismo;

O exame bacteriológico e a inoculação em animais de laboratório dos mesmos substratos, como das medulas ósseas, sangue, músculos dessecados e do sistema nervoso central, permitiram excluir, como *causa mortis*, carbúnculo hemático, carbúnculo sintomático, gangrena gasosa, pasteurelose, salmonelose e raiva, sendo que os testes biológicos[†] confirmaram a ausência do vírus rábico nos encéfalos examinados.

Os experimentos com quatro plantas, tidas como possivelmente tóxicas, mostraram também que a doença em questão não devia ser ocasionada por intoxicação com estes vegetais.

COMENTÁRIOS

O surto epizootico de botulismo em bovinos diagnosticado no Estado do Piauí, nordeste do Brasil, é muito semelhante aos descritos na África do Sul (Theiler & Robinson 1927), na Austrália (Seddon 1925), no Texas, Estados Unidos (Schmidt 1916, Greeley & Franklin 1967) e no Senegal (Doutre 1967). A causa primária é a deficiência de fósforo no solo e na alimentação dos bovinos. Os animais são levados ao estranho hábito da osteofagia para suprirem a falta de fósforo no organismo. Esta circunstância é o principal fator predisponente dos grandes surtos epizooticos de botulismo em bovinos e ovinos.

O histórico sobre a "doença da mão dura" no Estado do Piauí revela que a mesma vem sendo assinalada a partir de 1960 no Município de Campo Maior e desde 1964 em vários municípios mais ao sul do Estado. A afosforose nos bovinos, no entanto, já se fazia sentir há muito tempo. As informações ainda indicam que o botulismo estaria se disseminando lentamente para áreas anteriormente indenens.

Como explicar o aparecimento e a disseminação do botulismo?

Admite-se que o esporo de *Clostridium botulinum* é ubiqüitário em todos os continentes e se mantém no solo, mesmo em pequena concentração, durante muitos anos. Sabe-se também que o esporo passa inofensivamente através do tubo digestivo dos animais vivos; com a morte do animal, porém, a flora bacteriana aeróbia, consumindo o oxigênio do trato digestório, cria condições de anaerobiose para o desenvolvimento de *Cl. botulinum*, cujas formas vegetativas invadem os tecidos em decomposição e produzem a toxina letífera.

[†] Os testes biológicos para raiva foram realizados pelo Setor de Vírus do IPEACS.

Partindo-se de um caso esporádico que tenha ocorrido numa região com acentuada deficiência de fósforo, pode-se compreender que o hábito da osteofagia dos bovinos possa desencadear um surto e disseminar lentamente o botulismo para amplas áreas. O processamento seria o seguinte: o animal, ao roer ossos, ingere tecidos em decomposição impregnados com a toxina botulínica e com a presença do esporo do germe. Ao morrer, em local mais ou menos distante, torna-se nova fonte de intoxicação e deixa no solo, onde a carcaça se decompõe, um novo ponto rico em esporos. Por sua vez, o pasto que nascer nestes locais facilmente carrega *Cl. botulinum* e sendo ingerido por um animal, será eliminado com as fezes, em outro ponto, contribuindo para enriquecer o solo com os esporos. Isto favorece o aparecimento de novos casos acidentais de cadáveres nos quais *Cl. botulinum* venha a se desenvolver. Além desta circunstância, os animais silvestres, como os urubus, carnívoros e as tartarugas contribuem para a disseminação dos esporos.

Foi-nos possível demonstrar a presença de esporos de *Cl. botulinum* em 8 das 11 amostras de solo colhidas no local onde se decomposeram cadáveres de bovinos que, segundo o histórico clínico, tinham morrido de botulismo.

O que ainda contribui para aumentar a incidência do botulismo nos bovinos do Município de Campo Maior é a condição ecológica e a existência dos chamados "campos do capim mimoso penasco". A longa estiagem força os animais a procurar o alimento no agreste entre junho e dezembro. No início das chuvas, o gado volta aos "campos do capim mimoso penasco" que brota e cresce rapidamente, possibilitando grande concentração de animais nesta área. Esta circunstância permite maior exposição dos animais à intoxicação botulínica.

Os bovinos também podem ser vítimas do botulismo esporadicamente, pela ingestão de alimentos contaminados com carcaças de animais, como gatos e ratos que morrem no feno; pela administração de concentrados deteriorados e conservados em latões fechados e em certas amostras de silagem (Hakioğlu 1957, Schoop 1961, Fischer *et al.* 1963, Müller 1963, Joubert *et al.* 1969, Al'meev & Pavlov 1966).

O botulismo dos bovinos é causado pela toxina de *Cl. botulinum* tipo C e D (Meyer & Gunnison 1929, Seddon 1925, Simmons & Tammemagi 1964, Doutre & Chambron 1966, Greeley & Franklin 1967).

Segundo Manson e Robinson (1935), a toxina de *Cl. botulinum* tipo C contém três componentes antígenicos C₁, C₂ e D, sendo que a fração D está pre-

sente em apenas pequena quantidade. A toxina do tipo D contém principalmente o componente D e somente pequena quantidade da fração C. Isto explica o fato de que, em nossos testes preliminares de soro-proteção, tanto os cobaios imunizados passivamente com soro tipo C, quanto os com o do tipo D sobreviveram.

A nossa experiência mostrou que o material de escolha para a obtenção da toxina botulínica foi o conteúdo gastro-intestinal e grandes fragmentos de fígado de animais que apresentaram sintomas de botulismo. A extração da toxina diretamente deste material foi prejudicada pela dificuldade na conservação em temperatura baixa e no transporte imediato para o laboratório. No entanto, do mesmo material, através de culturas nos meios de Robertson e de Wright, foi relativamente fácil a obtenção de filtrados tóxicos que reproduziram o botulismo em cobaios. A presença de *Cl. botulinum* em cadáveres, em adiantado estado de autólise, pode também ser evidenciado através da cultura de fragmentos de fígado, baço, músculo esquelético, medula óssea e larvas de môsca como foi visto nos casos 2551, 2569, 2589 e 2609.

Cumpre, no entanto, lembrar que o diagnóstico de botulismo não pode ser firmado pela simples obtenção de culturas tóxicas do conteúdo gastro-intestinal, pois os esporos podem estar presentes saprofiticamente. Mesmo as culturas do fígado de animais sadios, recém-mortos, podem conter *Cl. botulinum*, em cerca de 3 a 4% dos casos como o demonstrou Müller (1967). Tratando-se, porém, de animais com a doença, o mesmo autor conseguiu obter a toxina em 90% dos casos. Esta circunstância ressalta a importância dos dados clínicos e dos achados anátomo-patológicos para o diagnóstico do botulismo em bovinos, como nos foi dado observar.

Analisando-se os nossos resultados do exame bacteriológico, verifica-se que foi possível obter filtrados tóxicos 8 vezes de 10 amostras de conteúdo do rúmen; 4 vezes, de 7 amostras de fígado; 2 vezes, de 4 amostras de conteúdo do intestino grosso e uma vez, de 4 amostras do conteúdo do intestino delgado.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos criadores que nos ajudaram na coleta de dados no Piauí, mui especialmente ao Sr. José Renato Lages Cavalcanti, Campo Maior, aos colegas que trabalham no Piauí, Drs. Jeremias Pereira da Silva, João Moura, João Carlos Cordeiro, João Batista Barbosa Soares e João Carlos Ribeiro Gonçalves, pelas valiosas informações e prestimosa colaboração, ao Setor de Vírus do IPEACS, pela realização dos exames de raiva, e ao Instituto de Onderstepoort, República da África do Sul, pela cessão dos séros antibotulínicos tipos C e D.

REFERÊNCIAS

- Al'meev, K.S. & Pavlov, V.F. 1966. (Clinical picture and pathology of botulism in cattle). Veterinariya, Kiev, 9: 192-197. (Vet. Bull. 39, Abstr. 1553).
- Bengston, I. 1922. A toxin-producing anaerobe isolated from larvae of *Lucilia caesar*. Repr. n.º 726, Publ. Hlth Rep., U.S.A.
- Bennetts, H.W. & Hall, H.T.B. 1938. Botulism of sheep and cattle in Western Australia: Its cause and prevention by immunization. Aust. vet. J. 14:103-118.
- Calvet, H., Picart, P., Doutre, M.P. & Chambron, J. 1965. Aphasporose et botulisme au Sénégal. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 18:249-282.
- Canella, C.F.C., Tokarnia, C.H. & Döhreiner, J. 1966. Experimentos com plantas tidas como tóxicas realizados em bovinos no Nordeste do Brasil, com resultados negativos. Pesq. agropec. bras. 1:345-352.
- Craven, C.P. 1964. Control of a botulism-like disease in North Queensland. Aust. vet. J. 40:127-130.
- Doutre, M.P. 1967. Botulism in animals in Sénégal. Bull. Off. int. Epizoot. 67:1497-1515.
- Doutre, M.P. & Chambron, J. 1968. Le botulisme des ruminants et des équidés au Sénégal. Caractères de la souche isolée de *Clostridium botulinum* et de sa toxine. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 19:495-519.
- Fisher, G.J., Oerdoegh, O. & Beardwood, J.C. 1963. A major mortality in cattle, suspected botulism. Vet. Insp. N.S.W. 27:37-41.
- Greeley, R.G. & Franklin, T.E. 1967. Loin disease. S. West. Vet. 21:31-32.
- Hakioglu, F. 1957. Darmentzündungen beim Botulismus des Rindes. Dtsch. tierärztl. Wschr. 64:421-423.
- Joubert, L., Chirol, C. & Beauréau, P. 1969. (Seven cases of type C botulism in cows, originating from a cat. Hypotheses on the epidemiology and pathogenesis). Bull. Soc. Sic. vet. Lyon 71:95-101. (Vet. Bull. 39, Abstr. 4523).
- Manson, J.H. & Robinson, E.M. 1935. The antigenic components of the toxins of *Cl. botulinum* type C and D. Onderstepoort J. vet. Res. 5:65-75.
- Meyer, K.F. & Gunnison, J.B. 1929. South African strains of *Cl. botulinum* and *parabotulinum*, with a special description of *Cl. botulinum* type D, n.sp. J. Inf. Dis. 45: 106-118.
- Müller, J. 1963. Equine and bovine botulism in Denmark. Bull. Off. int. Epizoot. 59:1379-1390.
- Müller, J. 1967. On the occurrence of *Clostridium botulinum* type C beta in the livers of slaughter animals in Denmark. Bull. Off. int. Epizoot. 67:1473-1478.
- Robertson, W. 1919. The value of a cooked meat medium. J. Bact. 4:2.
- Robinson, E.M. 1930. The bacteria of the *Clostridium botulinum* C and D types. 16th Rep. Dir. vet. Serv., South Africa, p. 107-142.
- Schmidt, H.A. 1916. Loin disease of cattle in the coastal plains of Texas. Texas Agric. Exp. Stn Annual Report.
- Schoop, G. 1961. Nachweis von *Clostridium botulinum* type C bei Rindern. Dtsch. tierärztl. Wschr. 68:71-72.
- Seddon, H.R. 1922. Bulbar paralysis in cattle due to a toxicogenic bacillus. J. comp. Path. Therap. 35:147-190.
- Seddon, H.R. 1925. The cause of botulism in animals in Australia. J. Aust. vet. Ass. 1:3-59.
- Simmons, G.C. & Tammemagi, L. 1964. *Clostridium botulinum* type D as a cause of bovine botulism in Queensland. Aust. vet. J. 40:123-127.
- Theiler, A. 1920. The cause and prevention of lamsiekte. J. Dep. Agric. South Africa, 1:221-244.
- Theiler, A. & Robinson, E.M. 1927. Der Botulismus der Haustiere. Z. Hyg. Infektkrankh. 31:165-220.
- Theiler, A., Viljoen, P.R., Green, H.H., Du Toit, P.J., Meier, H. & Robinson, E.M. 1927. Lamsiekte (parabotulism) in cattle in South Africa. Rep. Dir. vet. Educ. Res., South Africa, 11/12:821-1361.
- Tokarnia, C.H., Canella, C.F.C., Guimarães, J.A., Döhreiner, J. & Langenegger, J. 1970. Deficiência de fósforo em bovinos no Piauí. Pesq. agropec. bras. 5:483-494.
- Wright, H.D. 1933. The importance of adequate reduction of peptone in the preparation of media for pneumococcus and other organisms. J. Path. Bact. 37:257.

BOTULISM IN CATTLE IN THE STATE OF PIAUÍ, BRAZIL

Abstract

A study was made of a disease of cattle known as "doença da mão dura" (stiff foreleg disease). This disease is found in the inland area of the state of Piauí where there exists a severe deficiency of phosphorus. It was estimated that 2 to 3 thousand cattle of an approximate total of 100 thousand found in this area die annually from the disease.

The diagnosis was based on the history and the general features of the disease, clinical and post-mortem findings, bacteriological findings of toxic cultures and serum-protection tests. The toxin is related to the type C/D of *Clostridium botulinum*.