

ESPOROS DE *Clostridium botulinum* EM TORNO DE CADÁVERES DECOMPOSTOS DE BOVINOS EM PASTAGENS NO SUL DE GOIÁS¹

AIRES MANOEL DE SOUZA² e JEROME LANGENEGGER³

ABSTRACT.- Souza A.M. & Langenegger J. 1987. [*Clostridium botulinum* spores around decomposed cadavers of bovine victims of botulism in pastures of southern Goiás, Brazil.] Esporos de *Clostridium botulinum* em torno de cadáveres decompostos de bovinos em pastagens no sul de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):17-22. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

Clostridium botulinum spore distribution around thirty decomposed bovine cadavers, presumed to be killed by Botulism, was evaluated in fifteen municipalities in southern Goiás (Brazil). Six-hundred-and-thirty soil samples were collected on the site of cadaver decomposition and toward the four cardinal points. Botulin toxin detection from the filtrates of 630 soil cultures was obtained through inoculation of guinea pigs and revealed the presence of 221 cultures (35.07%). The identification of *Clostridium botulinum* types, using the serum neutralization technique in mice, allowed the recognition of toxins of 204 (32.38%) cultures belonging to five types, being 44 of type A (21.57%); 2 of type B (0.98%); 37 of type C (18.14%); 41 of type D (20.10%); 77 of the CD complex (37.74%) and 3 of type G (1.47%). Types E and F were not found. The toxins of 17 (2.69%) cultures could not be identified, conclusively. The distribution of the C, D and CD complex types around the cadavers was characterized by a negative linear regression influenced directly by the cadavers within a radius of 30 meters.

INDEX TERMS: *Clostridium botulinum*, spore, soil, Goiás, Brazil.

SINOPSE.- Foi avaliada a distribuição de esporos de *Clostridium botulinum* em torno de 30 cadáveres decompostos de bovinos, supostamente vítimas de botulismo, de 15 municípios no sul de Goiás. A partir do local em que o cadáver se decompôs e na direção dos quatro pontos cardeais, coletaram-se 630 amostras de solo. A detecção de toxina botulínica dos filtrados das 630 culturas de solo foi obtida pela inoculação em cobaias e revelou a presença em 221 culturas (35,07%). A identificação dos tipos de *Clostridium botulinum*, utilizando-se a técnica de soro-neutralização em camundongos, permitiu reconhecer as toxinas de 204 (32,38%) culturas pertencentes a cinco tipos, sendo 44 do tipo A (21,57%); dois do tipo B (0,98%); 37 do tipo C (18,14%); 41 do tipo D (20,10%) 77 do complexo CD (37,74%) e três do tipo G (1,47%). Os tipos E e F não foram encontrados. As toxinas de 17 (2,69%) culturas não puderam ser identificadas conclusivamente. A distribuição dos tipos C, D e complexo CD em torno dos cadáveres caracterizou-se por uma regressão linear negativa influenciada diretamente pela presença do cadáver até um raio de 30 metros.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Clostridium botulinum*, esporo, solo, Goiás, Brasil.

INTRODUÇÃO

A substituição gradual das pastagens nativas do cerrado da Região Centro-Oeste do Brasil, cujo solo é carente em fósforo, por pastagens cultivadas formadas por gramíneas pouco exigentes e a introdução de bovinos selecionados para rápido desenvolvimento ponderal, desencadearam o aparecimento do botulismo na região a partir de 1977, mais intensamente no sul do Estado de Goiás (Langenegger & Döbereiner 1980). A doença vitimou milhares de animais, principalmente vacas em adiantado estado de gestação ou no início da lactação, face à maior necessidade de fósforo requerida pelas vacas nestas fases da procriação. O bovino adquire instintivamente o curioso hábito de roer ossos de cadáveres para suprir a deficiência de fósforo da alimentação (Figs 1 e 2).

Como não pode ser evitado que a grande maioria dos bovinos vítima do botulismo fosse incinerada ou enterrada, a decomposição destes cadáveres nas pastagens enriqueceram o solo com esporos do *Clostridium botulinum* (Fig. 3). A distribuição dos esporos em volta do cadáver foi auxiliada pela ação de animais carnívoros, principalmente o urubú que, em grande número, se alimentavam do cadáver em decomposição espalhando com os restos deste e com as próprias fezes os esporos.

A presença de esporos de *Cl. botulinum*, tipos C e D, no solo de áreas em que ocorre o botulismo epizootico do bovino foi assinalado por Scheuber (1929), na África do Sul, em amostras de solo colhidas debaixo ou próximo a cadáveres de bovinos em decomposição, vítimas de botulismo. No Brasil, Tokarnia et al. (1970) coletaram 11 amostras de solo de locais em que se decomposaram cadáveres de bovinos supostamente vítimas do botulismo, no Estado do Piauí. Através da cultura demonstraram a pre-

¹ Aceito para publicação em 2 de dezembro de 1986.

Baseado na tese de Mestrado preparada na Embrapa-UAPNPSA e apresentada pelo primeiro autor na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, em 1986.

² Escola de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Cx. Postal 131, Goiânia, GO 74000.

³ Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

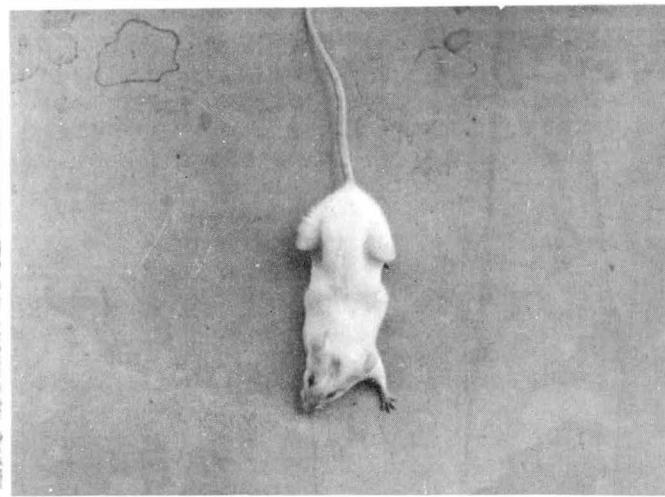


Fig. 1. Bovino procurando pegar osso no local em que se decompôs o cadáver.

Fig. 3. Cadáver de bovino, com solo sem vegetação pelo pisoteio de bovinos e urubús.

Fig. 2. Bovino roendo osso na pastagem de brachiária verde e abundante.

Fig. 4. Camundongo com abdômen cintado e incoordenação motora, caracterizando botulismo.

sença da toxina C e D em 8 amostras. Moreira et al. (1980), no Estado de Goiás, obtiveram toxinas de *Cl. botulinum*, tipos C e D, a partir de culturas de solo proveniente de pastagens do município de Silvania, onde ocorria um surto de botulismo em bovinos. Turnes et al. (1984), em Alegrete, Estado do Rio Grande do Sul, coletando 7 amostras de solo sob restos de carcaça decomposta de bovinos e três amostras de cadáveres putrefatos, comprovaram a presença do esporo de *Cl. botulinum*, tipo D, neste material.

No Brasil, havendo poucas pesquisas sobre a presença de esporos do *Cl. botulinum* no solo, julgou-se oportuno avaliar a distribuição de esporos nesta região epizootica do botulismo em bovinos e determinar a influência da decomposição de cadáveres nas pastagens como meio de poluição do solo pelos tipos C e D de *Cl. botulinum*.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 630 amostras de solo, colhidas no local e em

torno de 30 cadáveres decompostos na pastagem, em 25 fazendas de 15 municípios do sul do Estado de Goiás (Quadro 1, Fig. 5). Estas amostras foram tomadas, uma no local e outras em torno do cadáver, na direção dos 4 pontos cardiais, nas distâncias de 5, 10, 20, 40 e 80 metros, totalizando 21 amostras. Cada amostra de solo era constituída de cerca de 400 g de terra, colhida numa superfície de cerca de 400cm² e numa profundidade de 2 a 3 cm, usando-se para isto espátulas e coletores, limpos entre uma e outra coleta.

A região tem solo e vegetação característicos do cerrado (Rizzo 1981). O clima é quente e úmido com temperaturas médias variando de 22 a 26°C e precipitação média de 1.500 mm por ano, com cerca de 4 meses de estiagem entre os meses de maio a agosto (Nimer 1977).

Nas pastagens cultivadas predomina a *Brachiaria decumbens*.

Exame bacteriológico

Cada amostra de solo, após homogeneizada, era semeada em aliquotas de 2 gramas em 5 tubos de ensaio 20 x 200 mm contendo 20 ml de meio de Wright (1933). Os tubos recém semeados eram aquecidos em BM a 80°C durante uma hora. Após resfriado, no meio ambiente, seguia a incubação a 30°C durante 5 dias. Por decantação, o conteúdo líquido dos 5 tubos de cultura, semeados com a mesma amostra de solo, era reunido num mesmo

Quadro 1. Distribuição dos cadáveres decompostos dos bovinos, tempo de decomposição e relevo do solo em que foram encontrados

Nº do cadáver	Nome do município	Nome da propriedade	Tempo de decomposição	Tipo do relevo ^a
01	Itajá	Barra ou Salto	2 meses	Plano
02	Itajá	Barra ou Salto	2 meses	Suave ondulado com declive para o norte
03	Aporé	Santa Amélia	1 mês	Plano
04	Aporé	Alto Formoso	3 meses	Plano
05	Piracanjuba	Lambari	2 meses	Ondulado com declive para o norte
06	Piracanjuba	Três Barras	2 meses	Plano
07	Piracanjuba	Boa Vista do Jacaré	2 meses	Ondulado com declive para o sul
08	Piracanjuba	Boa Vista do Jacaré	1 mês	Plano
09	Silvânia	Variado	2 meses	Ondulado com declive para o leste
10	Silvânia	Olho D'Água	2 meses	Ondulado com declive para o sul
11	Orizona	Morro Alto	2 meses	Ondulado com declive para o norte e sul
12	Orizona	Santa Inácia	3 meses	Ondulado com declive para o norte
13	Catalão	Degredo	1 mês	Plano
14	Catalão	Olho D'Água	1 mês	Ondulado com declive para o norte
15	Catalão	Posse	1 mês	Plano
16	Ipamerí	Buriti	4 meses	Ondulado com declive para o norte
17	Pires do Rio	Guará	1 mês	Ondulado com declive para o sul
18	Nova Glória	Cipó	1 mês	Ondulado com declive para o norte
19	Nova Glória	Cipó	1 mês	Plano
20	Nova Glória	Cipó	1 mês	Plano
21	Rubiataba	Bonsucesso	2 meses	Forte ondulado com declive para o leste
22	Serranópolis	Solução	2 meses	Montanhoso com declive para o oeste
23	Serranópolis	Santa Verônica	1 mês	Plano
24	Serranópolis	Santa Verônica	1 mês	Plano
25	Mineiros	Recanto da Fé	2 meses	Ondulado com declive para o leste
26	Jataí	Certeza	2 meses	Ondulado com declive para o leste
27	Jataí	Campo Alto	1 mês	Suave ondulado com declive para o leste
28	Rio Verde	Posto do Chapadão	1 mês	Plano
29	Bela Vista	Barreiro Vermelho	1 mês	Suave ondulado com declive para o sul
30	Bela Vista	Mato do Rio	3 meses	Plano

^a Plano Declives menores que 3%
 Suave ondulado Declives de 3 a 8%
 Ondulado Declives de 8 a 20%
 Forte ondulado Declives de 20 a 45%
 Montanhoso Declives de 45 a 75%

Quadro 2. Distribuição panorâmica de esporos de Clostridium botulinum no solo, demonstrado através da toxina botulínica produzida nas culturas e reprodução experimental do botulismo em cobaias

Local em relação ao cadáver		Número do cadáver decomposto																													Total					
Direção	Distância (m)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		30				
Central	0		+		+	+	+		+	+		+	+	+	+	+						+					+	+	+	+					16	
Norte	5		+			+	+			+		+	+				+				+		+		+	+	+								12	
Norte	10		+		+	+		+		+		+	+			+	+						+		+	+	+								13	
Norte	20		+	+		+					+	+						+						+		+	+								8	
Norte	40		+			+		+	+	+		+						+						+		+	+								10	
Norte	80		+	+	+		+	+	+	+		+											+	+		+	+			+					13	
Sul	5		+	+		+		+			+	+											+	+		+	+						+		11	
Sul	10					+					+	+	+	+											+	+	+						+		9	
Sul	20			+		+				+	+	+						+							+	+	+								8	
Sul	40		+	+				+		+	+	+											+		+	+	+				+			+		9
Sul	80		+	+			+	+		+	+	+				+	+					+		+	+	+	+								12	
Leste	5		+			+	+		+	+	+	+	+	+	+							+		+		+	+	+					+		15	
Leste	10									+	+	+		+	+								+	+	+	+	+								8	
Leste	20									+	+	+		+	+									+	+	+	+	+								7
Leste	40		+		+					+	+	+		+	+								+		+	+	+									7
Leste	80		+	+		+		+	+	+	+	+		+	+								+	+	+	+	+					+				11
Oeste	5		+				+	+		+	+	+	+	+										+		+	+			+						11
Oeste	10									+	+		+	+										+	+	+	+			+				+		8
Oeste	20		+				+			+	+		+	+									+	+	+	+	+	+						+		11
Oeste	40		+	+	+			+		+	+		+	+		+	+						+	+	+	+	+									13
Oeste	80		+	+	+		+	+		+	+		+	+									+	+	+	+	+									9
Total			10	12	6	3	10	10	8	3	12	13	18	6	6	3	3	12	3	2	2	2	2	6	13	3	8	13	16	6	4	2	6	221		

Quadro 3. Distribuição panorâmica dos tipos de Clostridium botulinum no solo, no local e em torno dos 30 cadáveres decompostos

Local em relação ao cadáver		Número do cadáver decomposto																													Total				
Direção	Distância (m)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		30			
Central	0		A		CD	CD	D		D	D	D	D	D	CD	D	CD							CD						C	CD	CD	CD			16
Norte	5		D			CD	C		CD	Ç	Ç	D				C				CD			D		D	D	D							12	
Norte	10			CD	CD			CD		C	C				D	A							C		C	D	CD	CD							13
Norte	20		D	CD		CD				A	C					A	CD								D										8
Norte	40		CD	CD		D		CD	CD	G	B					A							A	CD		A									10
Norte	80		CD	CD	D		A	CD	NI		C											A	A	D		A	A		CD					12	
Sul	5		C	CD		CD		D			NI ^a	CD											CD	C		CD	CD							CD	10
Sul	10					D					C	CD	D	D											C	C	D							CD	9
Sul	20				C		CD			D	D	CD				Ç									D		CD								8
Sul	40		CD	CD				C			A	D											D				A			A		D			9
Sul	80		G	CD			CD	CD		NI	NI	NI		NI		A	A					CD	CD		C		NI		A						8
Leste	5			CD			C	D		C	D	A	CD	CD	CD		A					CD	CD		CD	C	CD	C						CD	15
Leste	10										D	A	D	B	D		A							A		C	NI	C							7
Leste	20									D	A	CD				A								CD	CD		C	NI							6
Leste	40		A		A		CD				CD													CD		C		A							7
Leste	80				A			CD		CD	A	NI	NI		NI		A	CD					A				A						A		9
Oeste	5		D				CD	CD			A	CD	CD	CD	CD		NI								C		A								10
Oeste	10										A	C				A								CD		D	CD		D				C		8
Oeste	20		CD				CD				NI	CD											C		C	D	A							CD	10
Oeste	40		A	CD	A			CD		NI	NI				A		A					D	C	C		A		NI							10
Oeste	80		A	CD	G		A	C		NI	NI	NI											C		A	CD	A								7
Total			10	12	6	3	10	10	7	3	10	9	15	6	4	3	3	11	3	2	2	2	2	6	13	3	8	13	12	6	4	2	6	204	

^a NI = Cultura de solo tóxica não identificada.

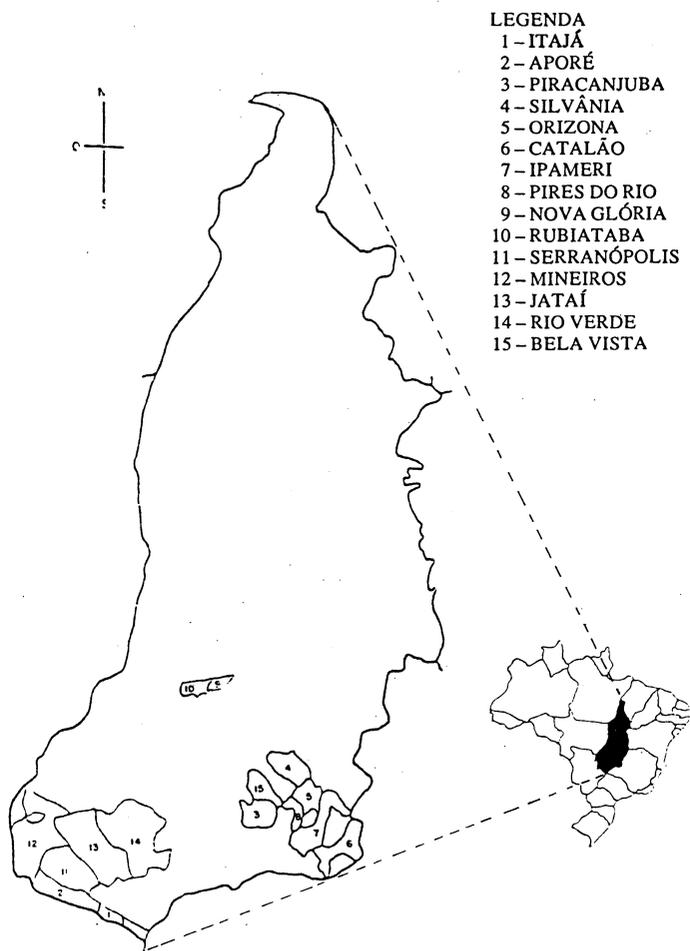


Fig. 5. Localização geográfica dos municípios do Estado de Goiás onde foram coletadas amostras de solo para pesquisa de *Clostridium botulinum* e análises química e física do solo.

frasco e centrifugado durante 10 minutos a 2.000 rpm e depois o sobrenadante foi filtrado em placas esterilizantes Seitz EK. O filtrado assim obtido era mantido refrigerado a 3 a 4°C até o teste de toxicidade em cobaias. Utilizou-se para isto cobaias com peso entre 300 e 400 g, inoculando-se um ml do filtrado puro subcutaneamente em um animal e doses igual em outro, porém aquecida a 100°C durante 10 minutos. As cobaias eram examinadas

duas vezes por dia, durante 10 dias e registrados os sintomas desde o início até a morte do animal caso adoecesse.

Identificação do tipo de toxina botulínica

Foi utilizada a soro-neutralização “in vitro” seguido da inoculação em camundongo. Os soros anti-toxina botulínica tipos A, B, C, D, E, F e G foram oriundos do Center for Disease Control (CDC), Atlanta, Georgia, USA, fornecidas através do IICA, Brasília.

A adequação da concentração da toxina dos filtrados foi feita segundo Shantz (1964), baseado na relação entre o tempo até a morte dos camundongos e a concentração da toxina botulínica do inóculo. Para isto, foram inoculados dois camundongos, via i.p., com 0,5 ml do filtrado puro das culturas de solo que no teste prévio em cobaias revelara a presença de toxina. Os filtrados que mataram os camundongos entre 1 e 2 horas eram diluídos a 1:1000; entre 2 e 3 eram diluídos 1:5 e quando a morte ocorria após três horas o filtrado foi usado puro para o teste da soro-neutralização.

A técnica da soro-neutralização obedeceu às normas recomendadas pelo CDC. Os soros antibotulínicos foram rehidratados e diluídos com solução glicerizada a 50% em água destilada nos volumes indicados no rótulo de cada frasco. Assim cada 0,5 ml da solução continha uma UI de soro monovalente anti A, B, C, D, E, F e G. Não houve disponibilidade de soro polivalente.

Numa bateria de 8 tubos, identificados com as letras de cada um dos 7 soros anti-botulínicos e mais o tubo testemunho, colocou-se 0,5 ml de cada soro nos tubos; no tubo testemunho igual volume de diluente glicerinado e logo em seguida adicionou-se 1 ml do filtrado da cultura adredeamente adequada em todos os tubos. Após homogeneização rápida foi incubada a 37°C durante 30 minutos. Seguiu-se a inoculação de 2 camundongos, via i.p., com 0,5 ml cada, da mistura soro + filtrado de cada tipo de antitoxina bem como do testemunho. Os 16 camundongos utilizados para cada identificação de toxina foram observados durante 96 horas, registrando-se o aparecimento de sintomas (Fig. 4) e a morte dos animais em protocolo próprio. Os resultados foram submetidos a análise estatística.

RESULTADOS

A cultura das 630 amostras de solo colhidas em 30 locais onde se haviam decomposto cadáveres supostamente vítimas de botulismo, de 25 fazendas e em 15 municípios do sul do Estado de Goiás, revelou a presença de esporos e *Cl. botulinum* em 221 (35,07%) amostras, demonstrado através de toxina botulínica produzida nas culturas e a reprodução do botulismo em cobaias (Quadro 2).

A identificação dos tipos de *Cl. botulinum*, determinada pela soro-neutralização das toxinas permitiu reconhecer as toxinas de 204 (32,38%) culturas (Quadro 3), pertencentes a 5 tipos de *Cl.*

Quadro 4. Tipos de *Clostridium botulium* identificados do solo, no local e em torno dos 30 cadáveres decompostos

Tipos de <i>Clostridium botulinum</i> isolados	Localização						Total	%
	Central ^a	5 m	10 m	20 m	40 m	80 m		
A	1	2	5	5	15	16	44	21,57
B			1		1		2	0,98
C	1	10	12	7	3	4	37	18,14
D	6	11	10	8	4	2	41	20,10
Complexo CD	8	24	9	12	12	12	77	37,74
E								
F								
G					1	2		1,47
Total	16	47	37	32	36	36	204	
%	25,39	18,65	14,68	12,69	14,28	14,28		

^a Nos cálculos das percentagens das localizações, os dados referentes ao ponto central foram multiplicados por 4, visto que os demais tinham 4 repetições.

botulinum, sendo 44 do tipo A (21,57%); duas do tipo B (0,98%); 37 do tipo C (18,14%); 41 do tipo D (20,10%); 77 do complexo CD (37,74%) e três do tipo G (1,47%). Os tipos E e F não foram encontrados (Quadro 4). As toxinas de 17 (2,69%) culturas não puderam ser identificadas conclusivamente.

Os tipos de *Cl. botulinum*, C, D e o complexo CD, considerados os agentes etiológicos do botulismo epizootico do bovino, foram encontrados em 155 (75,98%) das 204 amostras de solo, enquanto que os tipos A, B e G em apenas 49 (24,02%).

A distribuição dos tipos de *Cl. botulinum* C, D e do complexo CD, no local e em volta dos 30 cadáveres decompostos, nas distâncias de 5, 10, 20, 40 e 80 metros e nas direções dos 4 pontos cardeais, decresceram do centro para a periferia da área pesquisada, nas seguintes frequências: 60⁴ (30,00%) no centro; 45 (22,50%) aos 5 metros; 31 (15,50%) aos 10 metros; 27 (13,50%) aos 20 metros; 19 (9,50%) aos 40 metros e 18 (9,00%) aos 80 metros, caracterizando uma regressão linear negativa, significativa no nível de 1% de probabilidade pelo teste "F" do Snedecor.

A distribuição de esporos de *Cl. botulinum* tipos C, D e do complexo CD no solo, considerando a declividade do local em que os cadáveres se decomposeram, revelou que estes foram encontrados 33 (61,11%) vezes na parte em declive e 21 (38,88%) vez na parte em aclave, não sendo significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Os tipos A, B e G de *Cl. botulinum* foram encontrados em maior número na periferia da área pesquisada, respectivamente 1, 2, 6, 5, 17 e 18 vezes.

DISCUSSÃO

Clostridium botulinum, sob forma de esporos, foi encontrado ubiqüitariamente no solo de todas as partes do mundo, e as carcaças decompostas contribuíram ainda mais para a poluição das pastagens. Tal observação foi registrada na literatura por Scheuber (1929) na África do Sul, Tokarnia et al. (1970) no Piauí, Moreira et al. (1980) em Goiás e Turnes et al. (1984) no Rio Grande do Sul onde o botulismo ocorre sob forma epizootica. Nestas pesquisas foram coletadas amostras de solo debaixo ou próximo a cadáveres de bovinos decompostos. Os citados autores não se ocuparam com a abrangência da área que pudesse ser, direta ou indiretamente poluída em função de cada cadáver.

Na presente pesquisa, a distribuição decrescente do achado de esporos de *Cl. botulinum* tipos C, D e do complexo CD, do local da decomposição do cadáver para a periferia, caracterizando uma regressão linear negativa, revelou ainda pelo teste de Tuckey, ao nível de 5% de probabilidade que o cadáver influenciou diretamente a concentração de esporos num raio de 30 metros, ou seja, numa superfície de 2.827m². Entende-se que esta disseminação de esporos de *Cl. botulinum* no solo foi carregada diretamente pelos animais carnívoros, como os urubús, por canídeos, pela chuva, pela declividade da área e, indiretamente, pelo pasto que, ao nascer em local contaminado pelos esporos, provavelmente carreados com mais frequência e sendo ingerido por qualquer herbívoro, serão eliminados pelas fezes em outros pontos mais distantes.

A alta prevalência dos tipos C, D e do complexo CD (75,98%) em relação aos demais tipos de *Cl. botulinum* (24,02%) encontrados no sul do Estado de Goiás, além de mostrar a nítida influência do cadáver decomposto na pastagem como agente poluente,

caracteriza ainda o cerrado do Brasil-Central como região epizootica do botulismo bovino, pois simultaneamente em toda região estavam ocorrendo surtos da doença.

Cl. botulinum tipos A e B são mais freqüentemente responsáveis pelo botulismo humano (Smith 1977) e nunca foram assinalados em caso de botulismo de bovinos. No Brasil, Leitão e Delazeri (1983) examinaram um total de 115 amostras de solo procedentes de 5 municípios do Estado de São Paulo, sendo 40 de hortas comerciais, 35 de pastagens de equinos e 40 de pastagens de bovinos. Apenas nas culturas das 40 amostras de solo de hortas, os autores demonstraram a presença do *Cl. botulinum* em 14 (35,00%), sendo 57,1% do tipo A, 7,1% do tipo B e F. Na presente pesquisa o *Cl. botulinum* A foi identificado 44 (21,57% do total) vezes ao passo que o tipo B apenas 2 vezes. Curiosamente, houve uma distribuição crescente da frequência de esporos do tipo A no solo do centro para a periferia da área pesquisada, isto é, o contrário do que foi observado com os tipos C, D e complexo CD. A razão disso, presumivelmente está ligada às 17 culturas tóxicas cujos tipos não puderam ser identificados por falta de maior disponibilidade de soros anti-botulínicos. O filtrado destas 17 culturas não foi neutralizado por nenhum dos 7 soros monovalentes da bateria, provavelmente porque estes filtrados continham toxinas de 2 ou mais tipos. Como o tipo A, excluídos os tipos C e D, foi amplamente o mais prevalente, supõe-se que as culturas de solo mais próximas aos cadáveres decompostos facilmente poderiam ser mistas e além dos tipos C, D e complexo CD, conterem o tipo A.

REFERÊNCIAS

- Langenegger J. & Döbereiner J. 1980. Fatores predisponentes dos surtos de botulismo no cerrado de Goiás. Anais 17^o Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza, p. 16.
- Leitão M.F.F. & Delazeri I. 1983. *Clostridium botulinum* em solo no Estado de São Paulo. Bolm ITAL, Campinas, 13:75-82.
- Moreira E.C., Lima J.D. & Leite R.C. 1980. Botulismo no sul de Goiás e Marajó. Anais 17^o Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza, p. 24. (Resumo)
- Nimer E. 1977. Clima. In: Região Centro-Oeste Brasileira. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.
- Rizzo J.A. 1981. Flora do Estado de Goiás. Ed. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 35p.
- Schantz E.J. 1964. Purification and characterization of *C. botulinum* toxins Botulism, proceeding of a symposium. Lewis K.H. and Cassel Jr., K. (ed.) U.S. Department of Health Education and Welfare.
- Scheuber J.R. 1929. A note on investigations into the distribution of the lamsiekte organism (*C. paratubulinum* C type). Ann. Rept. Dir. Vet., South Africa, 15:223-226.
- Smith L.D. 1977. The occurrence of *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani* in the soil of the United States. Health Lab. Sci., Washington, 15(2):74-80.
- Tokarnia C.A., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.B. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 5:465-472.
- Turnes C.G., Langenegger J. & Scarsi R.M. 1984. "Mal de Alegrete", evidências de *Clostridium botulinum* D como agente etiológico. Anais 19^o Congr. Bras. Med. Vet., Belém, p. 138.
- Wright H.D. 1933. The importance of adequate reduction of peptons in the preparation of media for pneumococcus and other organism. J. Path. Bact., Edinburgh, 37:257.

⁴Foi multiplicado por 4.