UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Trabalho de Conclusão de Curso

Willian Cristof Correia Queiroz

OCORRÊNCIA DE CASOS CLÍNICOS DE BOTULISMO EM BOVINOS NELORE NA REGIÃO NOROESTE DE MINAS GERAIS

Unaí

2021

Willian Cristof Correia Queiroz

OCORRÊNCIA DE CASOS CLÍNICOS DE BOTULISMO EM BOVINOS NELORE NA REGIÃO NOROESTE DE MINAS GERAIS

Trabalho apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Jenevaldo Barbosa da Silva

Unaí

2021

Willian Cristof Correia Queiroz

OCORRÊNCIA DE CASOS CLÍNICOS DE BOTULISMO EM BOVINOS NELORE NA REGIÃO NOROESTE DE MINAS GERAIS

Trabalho apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Jenevaldo Barbosa da Silva

Data de aprovação _____/_____/_____.

_____

Profa. Dra. Bianca Paola Santarosa
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM Campus Unaí

_____

Prof. Dr. Eduardo Gorzoni Fioratti
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM Campus Unaí

_____

Prof. Dr. Jenevaldo Barbosa da Silva
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM Campus Unaí

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, minha família, amigos e professores que me acompanharam nessa jornada, árdua, mas gratificante.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele não teria conseguido chegar aonde estou nesse momento.

Aos meus pais Eva Carzolina de Correia, Rosmy Cardoso de Queiroz e Osvaldo Nogueira Gomes pelo apoio e estrutura para alcançar esse objetivo.

À minha avó Vitoria Gomes do Prado pelo indiscutível e inigualável apoio em cada passo e decisões tomadas.

Ao meu professor e orientador Jenevaldo Barbosa da Silva por me guiar nessa jornada.

À UFVJM que mesmo com suas deficiências estruturais, vem nos proporcionando excelentes professores que com muito esmero nos dão condições para nos tornarmos bons profissionais.

Aos amigos pelo apoio e cumplicidade nos momentos bons e momentos de provações durante o percurso.

E a todos que de certa forma participaram dessa caminhada sempre torcendo por mim e pelo meu sucesso.

RESUMO

O Botulismo é uma intoxicação de bovinos e outras espécies animais, resultante da ingestão de toxina previamente formada pela bactéria anaeróbia *Clostridium botulinum*, sendo considerada enfermidade economicamente importante para a bovinocultura no Brasil. A vacinação do rebanho é sua principal forma de controle e os animais acometidos podem apresentar sintomatologia caracterizada por anorexia, decúbito esternal, seguido de decúbito lateral, pleurotótono, respiração dispneica e predominantemente abdominal, tetraparesia flácida ascendente, emboletamento dos membros posteriores e perda do tônus lingual. O diagnóstico se baseia em avaliação clínica e epidemiológica, detectar toxinas por inoculação em camundongos e ausência de lesões macro e microscópicas na histopatologia do sistema nervoso central (SNC). Não existe tratamento, e em sua maioria é fatal, porém a quantidade de toxina presente no animal será determinante para sua recuperação. Esse trabalho tem como objetivo abordar casos clínicos de botulismo em bovinos, criados em manejo extensivo no Noroeste de Minas Gerais. Foram avaliados 20 animais da raça Nelore no período de 2016 a 2021, com idade superior a 24 meses com protocolo vacinal em dia contra Clostridioses, Raiva, Febre Aftosa e as fêmeas contra Brucelose. Desses bovinos, 12 animais foram submetidos à necropsia e colhidas amostras de encéfalo, tronco encefálico, medula, fígado, pulmão, rim, baço, músculo esquelético, sistema digestório para exclusão de doenças que pudessem causar sintomatologia nervosa, e foram conservadas em formol 10% para histopatologia. Os exames adotados foram negativos para lesões macroscópicas na necropsia e microscópicas das amostras de SNC que justificassem os sinais clínicos observados. Devido à sintomatologia clínica dos animais e fatores epidemiológicos encontrados nas propriedades, sugeriu-se Botulismo como diagnóstico presuntivo. Pode-se observar que a associação entre epidemiologia, sinais clínicos, achados de necropsia e histopatológicos, demonstrou ser eficiente no diagnóstico do botulismo e demais doenças que apresentam sintomatologia nervosa periférica.

Palavras chave: clostridioses, diagnóstico, neurológico, paralisia flácida, sistema nervoso, vacina.

ABSTRACT

Botulism is an intoxication of cattle and other animal species, resulting from the ingestion of a toxin previously formed by the anaerobic bacterium Clostridium botulinum, being considered an economically important disease for cattle farming in Brazil. Herd vaccination is its main form of control and affected animals may present symptoms characterized by anorexia, sternal decubitus, followed by lateral decubitus, pleurototonus, dyspneic and predominantly abdominal breathing, ascending flaccid tetraparesis, bloating of the hind limbs and loss of lingual tone. Diagnosis is based on clinical and epidemiological evaluation, detecting toxins by inoculation in mice and the absence of macro and microscopic lesions in the histopathology of the central nervous system (CNS). There is no treatment, and most of it is fatal, but the amount of toxin present in the animal will be decisive for its recovery. This work aims to address clinical cases of botulism in cattle, raised under extensive management in the Northwest of Minas Gerais. Twenty Nellore animals were evaluated from 2016 to 2021, aged over 24 months, with up-to-date vaccination protocol against Clostridiosis, Rabies, Foot-and-Mouth Disease and females against Brucellosis. Of these cattle, 12 animals were submitted to necropsy and samples were collected from the brain, brainstem, medulla, liver, lung, kidney, spleen, skeletal muscle, digestive system to exclude diseases that could cause nervous symptoms, and were preserved in 10% formalin for histopathology. The exams adopted were negative for macroscopic lesions in the necropsy and microscopic lesions of the CNS samples that justified the observed clinical signs. Due to the clinical symptoms of the animals and epidemiological factors found in the properties, Botulism was suggested as a presumptive diagnosis. It can be observed that the association between epidemiology, clinical signs, necropsy and histopathological findings proved to be efficient in the diagnosis of botulism and other diseases that present peripheral nervous symptoms.

Keywords: clostridiosis, diagnosis, neurological, flaccid paralysis, nervous system, vaccine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Avaliação epidemiológica e clínica de uma fêmea bovina da raça nelore com 24 meses de idade em uma propriedade rural no município de Arinos, Região Noroeste de Minas Gerais, Brasil, 2018. 6

Figura 2 – A) Fêmea bovina da raça Nelore apresentando sinais de paresia de membros posteriores e decúbito esternal; B) Fêmea bovina da raça Nelore apresentando sintomatologia mais avançada (emagrecimento, anorexia, decúbito esternal e iniciando protrusão de língua). 6

Figura 3 – A) Fêmea bovina da raça nelore com 24 meses de idade apresentando decúbito esternal; B) Avaliação de resposta medular em fêmea bovina apresentando decúbito esternal. 7

Figura 4 – Fêmea bovina apresentada na figura 1 apresentando evolução dos sinais clínicos para decúbito lateral e protusão de língua evidentes, sinais característicos de botulismo. 8

Figura 5 – Animais com acesso a bebedouros artificiais, pode-se observar a presença de aves silvestres nas colunas de proteção, Arinos, Região Noroeste de Minas Gerais, Brasil. 9

Figura 6 – A: animais em estrutura de cocho coberto e apresentando dimensões adequadas para fornecimento de mineralização. B: sistema de cocho improvisado mostrando baixa eficiência para grandes lotações. 10

Figura 7 – Vacinação como estratégia mitigadora. 11

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO **3**
OBJETIVO **3**
REVISÃO DE LITERATURA **4**
BOTULISMO **4**
MATERIAL E MÉTODOS **5**
RESULTADOS E DISCUSSÕES **8**
CONCLUSÃO **11**
REFERÊNCIAS **12**

INTRODUÇÃO

Embora a importância econômica das enfermidades caracterizadas por sinais clínicos nervosos esteja reconhecida, são escassos os estudos correlacionando os aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos e o diagnóstico laboratorial das mesmas. Tendo em vista essas enfermidades se torna evidente a necessidade de conhecê-las para chegar ao diagnóstico assertivo de botulismo, minimizando assim as chances de erro nos atendimentos clínicos cotidianos do médico veterinário (LEMOS, 2005).

O botulismo no Brasil foi descrito pela primeira vez na década de 60 no município de Campo Maior, Piauí, comumente conhecida como “doença da mão dura” (TOKARNIA et al., 1970). É uma intoxicação não febril, geralmente fatal, caracterizada por paresia e paralisia flácida envolvendo a musculatura da locomoção, mastigação e deglutição, causada pela bactéria anaeróbia *Clostridium botulinum* (DUTRA, 2004).

O botulismo em bovinos manifesta-se como doença epizoótica 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 roer ossos. É um dos sintomas da afosforose dos bovinos (TOKARNIA et al., 1970). Também foram associados casos onde, são ocasionalmente observadas situações e condições epidemiológicas, referentes à ingestão de água contaminada que levam à ocorrência de surtos da doença. Surtos de botulismo associados à ingestão de água contaminada foram descritos em bovinos no Senegal, búfalos no Brasil e em bovinos e ovinos na África do Sul com grande quantidade de animais acometidos (DUTRA et al., 2001).

O *Clostridium botulinum* em condições ideais o produz neurotoxinas botulínicas que são classificadas em sete tipos sorologicamente distintos entre si (de A a G). Os tipos C e D produzem componentes C1, C2 e D em quantidades diferentes, sendo os responsáveis pelo botulismo bovino. As neurotoxinas C1 e D são responsáveis pela doença em bovinos, já a toxina C2 não possui ação neurotóxica causando acúmulo de fluido intersticial e aumento da permeabilidade vascular em animais de experimentação (DUTRA, 2004).

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo abordar casos clínicos de botulismo ocorridos na região Noroeste de Minas Gerais.

REVISÃO DE LITERATURA

BOTULISMO

O Botulismo é uma intoxicação de bovinos e outras espécies animais, resultante principalmente da ingestão de toxina previamente formada pela bactéria anaeróbia *Clostridium botulinum* (DUTRA et al., 2001).

Os animais acometidos podem apresentar sintomatologia caracterizada por anorexia, decúbito esternal, seguido de decúbito lateral e movimentos de pedalagem, pleurotótono, respiração dispnéia e predominantemente abdominal, tetraparesia flácida ascendente, emboletamento dos membros posteriores e perda do tônus lingual, sendo essa última a principal e mais específica característica encontrada em bovinos com botulismo (DA COSTA; SALVADOR; PEREIRA, 2008). Em sua forma vegetativa, os esporos de *Clostridium botulinum* se desenvolvem em ambientes de anaerobiose como carcaças em decomposição, matéria vegetal em putrefação ou lodo e águas paradas (LEMOS, 2005).

São conhecidas neurotoxinas identificadas alfabeticamente de A a G até o momento. Quando formadas, as toxinas apresentam relativa resistência a agentes químicos, porém são bastante sensíveis ao calor e se inativam rapidamente quando em contato com a luz solar. As toxinas C e D epidemiologicamente mais importante para os bovinos, onde apenas um grama aproximadamente de matéria contaminada com a toxina pode levar a óbito um bovino adulto (LEMOS, 2005).

Identificada em 1920 na África do Sul “amsiekte” (doença paralisante), posteriormente confirmado pelo isolamento de *Clostridium botulinum* e a identificação da variante da toxina do tipo D. Posteriormente, a doença em bovinos também foi identificado na Austrália em 1922 com o nome de paralisia bulbar ou “Tasmanian Midland disease”, Bengtson (1922) isolou a variante do tipo C em larvas de *Luculo caesar* nos Estados Unidos, todas as variantes estavam relacionadas a deficiência de fósforo (TOKARNIA et al., 1970).

Um dos mais potentes tóxicos de origem microbiologia, a toxina botulínica é absorvida pela mucosa intestinal devido resistência a enzimas proteolíticas, sua ação se dá nas

terminações nervosas colinérgicas, impossibilitando a liberação do neurotransmissor acetilcolina, e causando um quadro de paralisia flácida, ocorrido pela falta de comunicação do sistema nervoso com a musculatura, impedindo a contração muscular (LOBATO et al., 2008).

O diagnostico presuntivo de botulismo deve se basear na exclusão de doenças que apresentem sintomatologia comum e evidenciando um levantamento clinico, epidemiológico e histopatológico eficientes. O teste biológico com maior sensibilidade e especificidade toxicológica é feito para a detecção da toxina botulínica, através de bioensaio seguido da neutralização com antitoxina homóloga extraídas de amostras de fígado líquido ruminal e intestinal acondicionada sobre refrigeração ou congelados para laboratório com rotina na detecção de toxina botulínica, utilizando-se de camundongos para inoculação (DUTRA, 2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho, foram avaliados 20 animais da raça Nelore no período de 2016 – 2021, com idade superior a 24 meses. Os animais apresentavam protocolo vacinal atualizado contra Clostridioses, Raiva, Febre Aftosa (-Figura 7) e as fêmeas contra Brucelose. Os animais eram criados a pasto e recebiam mineralização variada no cocho (-Figura 6) e água de fonte natural ou bebedouro artificial (-Figura 5).

Os animais estavam localizados em propriedades rurais na região Noroeste de Minas Gerais, nos municípios de Arinos, Bonfinópolis de Minas, Brasilândia de Minas, Unaí e Urucuia.

Foram avaliados neste estudo apenas animais que se encontravam em decúbito e sem nenhuma causa aparente (-Figura 1 e 2). Esses casos foram suspeitos de botulismo e os animais foram acompanhados clinicamente. Os dados epidemiológicos foram coletados e posteriormente a morte natural dos animais, os mesmos foram necropsiados e as amostras enviadas para histopatologia.

Figura 1 – Avaliação epidemiológica e clínica de uma fêmea bovina da raça Nelore com 24 meses de idade em uma propriedade rural no município de Arinos, Região Noroeste de Minas Gerais, Brasil, 2018.

Os animais avaliados apresentaram sintomatologia nervosa similar às encontradas provenientes de botulismo (-Figura 3 e 4) como os relatos presentes na literatura (TOKARNIA et al., 1970; DUTRA et al., 2001; DUTRA, 2004; LEMOS, 2005; DA COSTA; SALVADOR; PEREIRA, 2008; LOBATO et al., 2008). Cerca de 12 animais foram submetidos à necropsia e amostras foram coletadas de encéfalo, tronco encefálico, medula, fígado, pulmão, rim, baço, músculo esquelético, sistema digestório, todas as amostras foram fixadas em formol a 10% e encaminhadas para diafanização para serem embebidas em parafina, sendo depois cortadas em secções de 5-µm e coradas com hematoxilina e eosina para a realização do diagnóstico histológico e enviados para o setor de Anatomia Patológica SAP do Instituto de Veterinária IV da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e Patologia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Figura 2 – A) Fêmea bovina da raça Nelore apresentando sinais de paresia de membros posteriores e decúbito esternal; B) Fêmea bovina da raça Nelore apresentando

sintomatologia mais avançada (emagrecimento, anorexia, decúbito esternal e iniciando protrusão de língua).

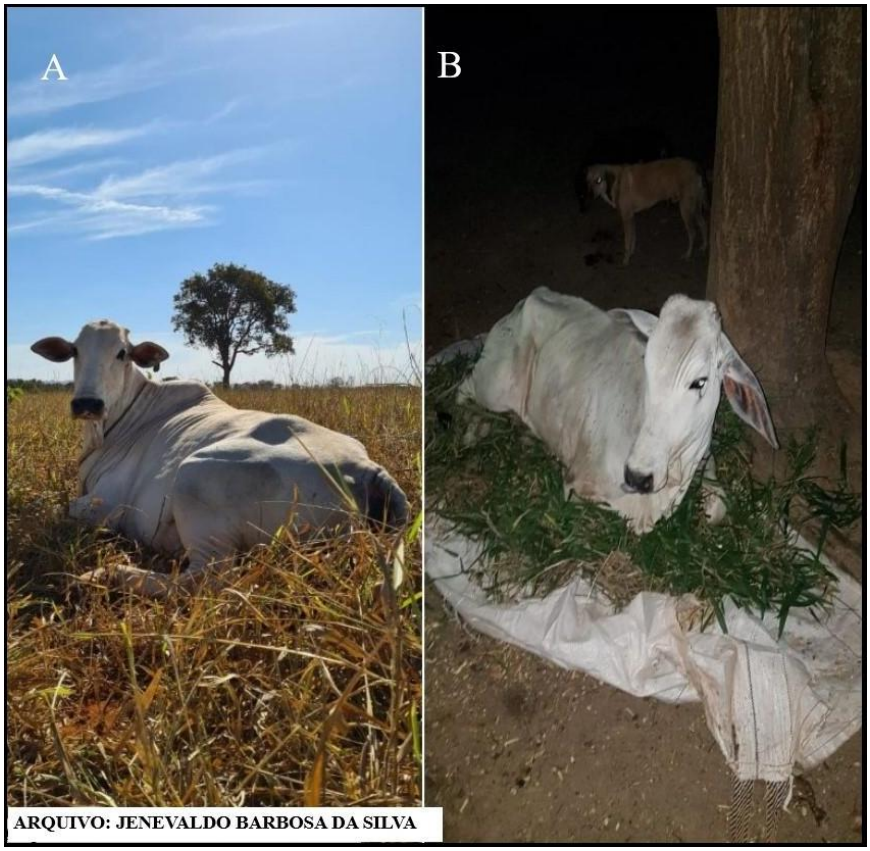

Figura 3 – A) Fêmea bovina da raça Nelore com 24 meses de idade apresentando decúbito esternal; B) Avaliação de resposta medular em fêmea bovina apresentando decúbito esternal.

Figura 4 – Fêmea bovina apresentada na figura 1 apresentando evolução dos sinais clínicos para decúbito lateral e protusão de língua evidentes, sinais característicos de botulismo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os sinais clínicos se apresentaram predominantemente no período seco. Os animais foram submetidos a avaliação clínica e epidemiológica para detectar características de possíveis fontes de toxinas (carcaças no pasto ou aguadas, silagem, cama de frango, palhadas ou outras fontes de matéria orgânica em decomposição).

Figura 5 – Animais com acesso a bebedouros artificiais, pode-se observar a presença de aves silvestres nas colunas de proteção, Arinos, Região Noroeste de Minas Gerais, Brasil.

Os exames adotados foram negativos para lesões macroscópicas na necropsia e microscópicas das amostras de sistema nervoso central que justificassem os sinais clínicos observados. Foram observadas algumas lesões em diferentes órgãos, porém nenhuma compatível com os sinais clínicos e possivelmente causa da morte. Foi observado nas propriedades onde ocorreram os casos que os animais tinham acesso além de bebedouros artificiais à aguadas naturais, água estagnada e resto de animais em decomposição.

Devido à exclusão de doenças que causam lesões do Sistema Nervoso Central e correlacionando a descrita situação epidemiológica associada aos sinais clínicos, os patologistas que avaliaram as amostras e outro profissionais da área que avaliaram a clínica, foram unânimes em cogitar botulismo. Porém, devido à falta de confirmação toxicológica, nossos resultados ficam no campo da possibilidade e não confirmamos de imediato, deixando o diagnóstico como sugestivo de botulismo.

O acompanhamento da evolução clínica foi fundamental para compreensão e fechamento dos casos. Os animais foram acompanhados por período que variou de três até 21 dias, quando muitos apresentaram evolução clínica e melhoria, mas no final vieram a óbito por consequência da enfermidade ou deterioração das condições físicas. As doenças abordadas como diagnóstico diferencial são classicamente conhecidas por causar lesões específicas no sistema nervoso (necrose de sistema nervoso central, inclusão de Negri para raiva). A evolução clínica e epidemiologia também difere significativamente entre elas (idade avançada, presença de morcegos hematófagos, privação de água associada a excesso de cloreto de sódio, paralisia

ascendente, contato com chumbo, etc). Assim, quando associamos os dados epidemiológicos, clínicos e necropsia/histopatológico torna-se possível uma nítida diferenciação.

Figura 6 – A: animais em estrutura de cocho coberto e apresentando dimensões adequadas para fornecimento de mineralização. B: sistema de cocho improvisado mostrando baixa eficiência para grandes lotações.

Figura 7 – Vacinação como estratégia mitigadora.

ARQUIVO: JENEVALDO BARBOSA DA SILVA

CONCLUSÃO

Observou-se no presente trabalho que a associação entre epidemiologia, sinais clínicos, achados de necropsia e histopatológicos, demonstrou ser eficiente no diagnóstico do botulismo.

É de suma importância salientar que o fornecimento de mineralização inadequada e a adoção de protocolos vacinais que muitas vezes são feitos de forma errônea, dão aos criadores a falsa sensação de segurança no combate a essa doença.

Devido a região apresentar período de seca bem definido, leva maximizar a possibilidade de contato dos animais a meios contaminados, ao buscarem as vezes suprir deficiências minerais em carcaças devido à baixa qualidade das pastagens remanescentes nessa época do ano e a saciar a demanda hídrica em açudes, lagos e riachos que muitas vezes são compartilhados com animais silvestres podendo contaminar a água com excrementos ou até mesmo com carcaças as margens que ficando em água estagnada proporciona um meio anaeróbico que possibilita o desenvolvimento da toxina.

Faz-se necessário a introdução de acompanhamento técnico para que possa ser estabelecido um calendário vacinal ideal para mitigar os danos causados pelo botulismo, pois a forma mais eficaz de controle é a prevenção vacinal.

REFERÊNCIAS

DA COSTA, G. M.; SALVADOR, S. C.; PEREIRA, M. N. Botulism in dairy cattle in southern Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 2068–2071, 2008.

DUTRA, I. Comunicado 72 Técnico. p. 1–6, 2004.

DUTRA, I. S. et al. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. v. 21, n. 2, p. 43–48, 2001.

LEMOS, R. A. A. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões centro-oeste e sudeste do Brasil. **Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal**. Tese de Doutorado, 150 p, 2005.

LOBATO, F. C. F. et al. Botulism in ruminants being fed with poultry litter. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1176–1178, 2008.

TOKARNIA, C. H. et al. Botulismo Em Bovinos No Piauí, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, p. 465–472, 1970.