

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária
Colegiado do Curso de Pós-Graduação

Abordagem clínica e terapêutica no botulismo bovino:

Relato de Casos

RONALDO ALVES MARTINS

BELO HORIZONTE

ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG

2014

RONALDO ALVES MARTINS

Abordagem clínica e terapêutica no botulismo bovino:

Relato de Casos

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista no Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

Área de concentração: Clínica Médica de Ruminantes

Orientador: Antônio Ultimo de Carvalho

BELO HORIZONTE

ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG

2014

Monografia defendida e aprovada em 28 de fevereiro de 2014, pela Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Antônio Último de Carvalho

Presidente

Prof. Elias Jorge Facury Filho

Med. Vet. Gustavo Henrique Ferreira Abreu Moreira

SUMÁRIO

	Resumo.....	05
	Abstract	06
1	Introdução.....	07
2	Objetivo.....	07
3	Revisão de literatura.....	07
3.1	O Agente.....	07
3.2	Ação da Neurotoxina.....	08
3.3	Patogenia.....	08
3.4	Diagnóstico.....	09
3.5	Tratamento.....	09
3.5.1	Tratamento Suporte.....	09
3.5.2	Tratamento Específico.....	10
3.5.3	Reações adversas a aplicação do soro.....	11
4	Profilaxia	11
5	Relato de Caso.....	12
5.1	Caso 1.....	12
5.2	Caso 2.....	18
5.3	Caso 3.....	22
6	Discussão.....	23
7	Considerações finais.....	23
8	Referências Bibliográficas.....	24

Resumo

O botulismo é uma intoxicação causada pela ingestão da toxina produzida pelo *Clostridium botulinum*, podendo acometer mamíferos e aves. Neste trabalho são relatados três casos de botulismo em bovinos em propriedades localizadas em Mariana, Capitólio e Sete Lagoas, cidades de distintas regiões do estado de Minas Gerais, Brasil. A taxa de morbidade foi de 46,3% (32/69), 19,5% (8/41) e 16,6% (1/6), mortalidade de 40,5% (28/69), 12,1% (5/41) e 0% (0/6) e letalidade de 87,5 % (28/32), 62,5% (5/8) e 0% (0/1), respectivamente. Em duas das três propriedades atendidas o botulismo ocorreu na forma de surto, acometendo vários animais. Na propriedade restante ocorreu um quadro isolado sendo que apenas um animal apresentou quadro clínico. Nas duas propriedades onde ocorreram os surtos, a intervenção foi dada quando as mortes já haviam acontecido. Depois do tratamento, nenhum animal veio a óbito ou apresentou novo quadro clínico. Ocorreu recuperação de 100% dos animais tratados. O tratamento foi realizado com a administração de soro antibotulínico, fluidoterapia oral e cuidados de enfermagem. Os resultados da terapia com o soro foram o esperado, com recuperação de alguns animais e o não aparecimento de novos quadros clínicos no rebanho.

Palavras chave: *Clostridium botulinum*, botulismo, tratamento, soroantibotulínico.

Abstract

Botulism is a poisoning caused by the ingestion of toxins produced by *Clostridium botulinum* which can affect mammals and birds. In this study three cases of botulism are reported in cattle in three properties located in Mariana, Capitólio and Sete Lagoas, cities from different regions of Minas Gerais state, Brazil. The morbidity rate was 46.3 % (32 /69), 19.5 % (8 /41) and 16.6 % (1/ 6), mortality of 40.5 % (28 /69), 12, 1 % (5 /41) and 0% (0 /6) and lethality of 87.5% (28/ 32), 62.5 % (5/ 8) and 0% (0 /1), respectively. There was an outbreak in two properties, where several animals showed clinical signs and, in one of them clinical signs were observed in only one animal. In the two farms where the outbreak occurred, the intervention was given when the deaths had happened. After treatment, no animal has died or presented new clinical signs. Treated animals showed a recovery rate of 100%. The treatment was carried on with the administration of serum, oral fluid therapy and nursing care. The results of serum therapy met the expectations, with recovery of some animals and no appearance of new clinical cases in the herd.

Keywords: *Clostridium botulinum*, botulism, treatment, serum anti botulism.

1- Introdução

O botulismo é uma doença paralítica não contagiosa (Brasil, 2006), comumente causada pela ingestão de neurotoxinas previamente produzidas pela bactéria gram-positiva *Clostridium botulinum*. Em bovinos foi descrito pela primeira vez no Brasil em 1970 no Piauí (Tokarnia *et al.*, 1970). A doença acarreta prejuízos anuais estimados em torno de 10 milhões e 500 mil reais há pecuária nacional (Brasil, 2002). Os primeiros relatos de casos da doença no país eram em sua grande maioria na forma epizootica, em sistemas extensivos, estando relacionados a ingestão de ossos por bovinos com deficiência mineral (Baldassi *et al.*, 1991; Döbereiner *et al.*, 1992; Dutra e Döbereiner, 1995). No entanto atualmente os relatos apresentam os quadros da forma esporádica, que se caracterizam pela ingestão de alimentos conservados contaminados com a toxina (Dutra *et al.*, 2005; Lobato *et al.*, 2008; Maboni *et al.*, 2010; Moreira, 2011).

Dentre os relatos e revisões encontrados na literatura pouco se discute sobre tratamento, sendo considerada por muitos anos, uma doença sem tratamento, apresentando letalidade igual a 100%. Porém com o advento do soro antibotulínico há relato de cura, com taxas de 60% e 66% de animais recuperados em dois surtos de botulismo esporádico atendidos pelo setor de clínica de ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (Moreira, 2011).

2- Objetivo

Objetivou-se com este trabalho relatar o atendimento de um caso clínico e dois surtos de botulismo, assim como a conduta terapêutica empregada, durante o programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

3- Revisão de Literatura

3.1- O Agente

O *Clostridium botulinum*, é um bacilo gram-positivo, anaeróbio estrito e ubiqüitário, habitante normal do solo e do trato intestinal dos animais (Seifert e Bonhel, 1994), sendo capaz de esporular em condições adversas (Dutra *et al.*, 2001; Lobato *et al.*, 2008; 2013). Existem sete tipos de *C. botulinum* os quais são classificados de A a G, baseando-se na especificidade antigênica das neurotoxinas clostridiais (BoNT) (Brügge-mann, 2005; Swaminathan, 2011), sendo os tipos C e D mais comumente responsáveis pela doença nos animais, apresentando quadros agudos ou subagudos (Rodloff e Krüger, 2012). Cada sorotipo cliva ligações peptídicas específicas de uma ou mais proteínas SNARE, as quais são responsáveis pela formação de vesículas transportadoras, inclusive de estímulos nervosos (Aoki *et al.*, 2010).

C. botulinum pode se desenvolver e produzir toxinas em vários tipos de substratos, desde que haja condições favoráveis como pH alcalino ou próximo do neutro (4,8 a 8,5), atividade de água e temperatura ótima de 37 °C, associados a condições de anaerobiose

(Brasil, 2006), sendo frequentemente encontrados em cadáveres, tecidos vegetais em decomposição e possivelmente em alimentos conservados (Souza, 1985; Dutra *et al.*, 2001).

Os esporos do *C. Botulinum* resistem a temperatura de 120 °C por 15 minutos. A toxina botulínica é termolábil, sendo inativada pelo calor em uma temperatura de 80 °C por no mínimo, 10 minutos (Brasil, 2006).

3.2- Ação da Neurotoxina

As toxinas botulínicas estão entre os mais potentes tóxicos de origem microbiana conhecidos (Gill, 1982). Elas são resistentes à ação de enzimas proteolíticas, sendo absorvidas pela mucosa intestinal, se disseminando por via hematogênica, agindo nas terminações nervosas colinérgicas, impedindo assim a liberação do neurotransmissor acetilcolina, e causando um quadro de paralisia flácida (Van der Lug *et al.*, 1995; Aoki *et al.*, 2010).

Codificadas pelo gene BoNT, essas toxinas são produzidas como cadeias polipeptídicas de 150 kDa, as quais são clivadas em duas cadeias menores, anteriormente à liberação pelo microrganismo. Essa quebra da origem a uma cadeia pesada (HC), de 100 kDa, e uma cadeia leve (LC), de 50 kDa, que permanecem ligadas por meio de uma ligação dissulfeto. O mecanismo de ação das BoNTs pode ser dividido em três etapas: ligação, translocação e atividade enzimática. Na primeira etapa, as HCs se ligam as membranas de neurônios, principalmente colinérgicos, por meio de um sistema duplo-receptor, constituído por um gangliosídeo e um componente proteico. Em seguida, as BoNTs

são translocadas para o citoplasma neural via endocitose. Acredita-se que durante esta etapa, as HCs formem poros na membrana, pelos quais as LCs passam do meio extracelular para o meio intracelular neural. Finalmente, as LCs clivam uma ou mais proteínas SNARE, responsáveis pela ancoragem e fusão das vesículas contendo neurotransmissores nos terminais pre-sináptico. Como resultado, ocorre à redução da liberação da acetilcolina nas junções neuromusculares, o que leva a incapacidade para contração muscular ou paralisia flácida dos músculos esqueléticos. Cada sorotipo cliva ligações peptídicas específicas de uma ou mais proteínas SNARE (Aoki *et al.*, 2010).

3.3- Patogenia:

O início dos sinais clínicos e a severidade dos mesmos estão intimamente relacionados com a quantidade de toxina ingerida, fazendo com que o período de incubação varie de horas a dias (Bivenvenu *et al.*, 1990; Lobato *et al.*, 2008). Nos ruminantes, o curso da doença pode ser de horas a poucas semanas, sendo classificada segundo Theiler e Robinson (1927), de acordo com sua evolução clínica, em superaguda (evolução com morte dentro de 24 horas), aguda (24 a 48 h), subaguda (48 h a 7 dias) e crônica (evolução acima de 7 dias), os bovinos podem apresentar todas as formas descritas acima com taxas de mortalidade variadas. Diferentemente dos bovinos, nos ovinos a forma crônica é a mais comum e apresenta letalidade de aproximadamente 100%. Os sinais clínicos são semelhantes entre os ruminantes e os mais comuns são dificuldade de locomoção dos membros posteriores, com progressão cranial da paralisia flácida.

O animal entra em estado pré-agônico, e a morte ocorre devido à parada cardiorrespiratória. O animal durante todo o curso da doença permanece com o psiquismo inalterado, porém as reações podem estar diminuídas (Döbereiner e Dutra, 2004). Lesões à necropsia são raras e se limitam a alterações de agonia respiratória que precede o óbito (Lobato *et al.*, 2008).

3.4- Diagnóstico

O diagnóstico de botulismo baseia-se no histórico, nos dados epidemiológicos, nos sinais clínicos dos animais acometidos e na detecção das BoNTs em espécimes clínicos e/ou fontes de intoxicação, sendo que o isolamento e detecção da toxina é muito difícil e pode ter interferência do método e momento de coleta. Estas toxinas podem estar presentes em amostras de conteúdo rumenal, gástrico e intestinal, fígado, soro, além de alimentos e água que os animais possam ter ingerido. O teste padrão para a pesquisa das BoNTs é o bioensaio em camundongo. A determinação do tipo da BoNT se baseia na neutralização da toxina com antitoxina específica. Outros testes “*in vitro*” encontram-se disponíveis ou em desenvolvimento, como os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), a reação em cadeia da polimerase (PCR), PCR em tempo real, quimioluminescência, eletroquimioluminescência, radioimunoensaio, imunoensaio de fluxo lateral, ensaio da endopeptidase e a microfixação do complemento (Lindström e Korkeala, 2006; Chaudhry, 2011). Muitas vezes é difícil estabelecer o di-

agnóstico laboratorial, por demonstração da toxina em tecidos, soros de animais ou alimentos suspeitos, apesar da sensibilidade e especificidade do teste de soroneutralização em camundongos, nem sempre é possível detectar a presença de toxinas no material analisado, em função das baixas concentrações presentes no substrato (Lobato *et al.*, 2007). Diferentemente das aves onde a concentração no sangue é elevada (Lobato *et al.*, 2009). A associação da alta potência da toxina botulínica com a elevada sensibilidade dos ruminantes a essas, permite que uma concentração mínima cause sinais e morte dos animais, não sendo, muitas vezes detectada pelos métodos de diagnóstico usuais (Kelch *et al.*, 2000).

3.5- Tratamento:

O êxito da terapêutica do botulismo está diretamente relacionada à precocidade com que é iniciada. Basicamente, o tratamento da doença apoia-se em dois conjuntos de ações: tratamento de suporte e tratamento específico (Brasil, 2006).

3.5.1- Tratamento Suporte:

O tratamento suporte visa manter os parâmetros fisiológicos, e evitar lesões secundárias ao botulismo, como exemplo podemos citar: hidratação e reposição de eletrólitos, além do auxílio e facilitação na alimentação, até que a capacidade de deglutição e mastigação estejam recuperadas.

Deve-se evitar o uso de drogas que destruam a junção neuromuscular de acetil-

colina, como os aminoglicosídeos, que potencializam a fraqueza neuromuscular. Atenção especial deve ser dada aos cuidados de enfermagem, como trocar o animal de posição várias vezes ao dia, estimular a musculatura e oferecer conforto térmico são alguns dos cuidados que são recomendados no tratamento de suporte (Brasil, 2006; Moreira, 2011).

3.5.2- Tratamento específico:

O tratamento específico visa inativar a toxina circulante e sua fonte de produção, o *C. botulinum*, pelo uso do soro antibotulínico (SAB) associado a antibióticoterapia. Antes de se iniciar o tratamento específico, todas as amostras clínicas para exames complementares devem ser coletadas. O soro antibotulínico atua contra a toxina circulante que ainda não se fixou, por isso recomenda-se que o tratamento com o SAB seja realizado o mais precocemente possível (até sete dias). Em humanos a dose empregada é de uma ampola de antitoxina botulínica bi ou trivalente (A, B e C) por via intravenosa, diluída em solução fisiológica a 0,9% na proporção de 1:10, que deve ser administrada em sua totalidade em aproximadamente uma hora (Brasil, 2006).

A indicação da antitoxina deve ser criteriosa, pois não é isenta de riscos. Em humanos, 9 a 20% das pessoas tratadas podem apresentar reações de hipersensibilidade. Para prevenir a ocorrência de reações é recomendado instalar soro fisiológico e administrar hidrocortisona (10mg/kg) por via intravenosa (máximo de 1g), 10 a 15 minutos antes de iniciar a soroterapia. O SAB não é indicado para crianças menores de um ano de idade (Brasil, 2006).

Em agosto de 2002 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, lançou o primeiro medicamento brasileiro para tratar o botulismo em bovinos. O soro antibotulismo C-D foi desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada àquele Ministério, em parceria com a empresa Vecofarma e é destinado ao tratamento de animais já doentes e/ou expostos ao risco, em caso de surtos. É uma solução de imunoglobulinas específicas, purificadas por digestão enzimática, concentradas e liofilizadas, obtida do soro de equinos sadios hipermunizados com toxina botulínica, adicionados de até 0,35 % de fenol PA e 0,80% de Cloreto de Sódio PA (Brasil, 2002).

O soro antibotulínico disponível no mercado é o Botulin C-D¹, produzido pela Vencofarma do Brasil, sendo que cada frasco de 5 ml contém no mínimo 2.500 U.I de imunoglobulinas específicas do *Clostridium botulinum* tipo C e 2.500 U.I de Imunoglobulinas específicas do *Clostridium botulinum* tipo D. É indicada a administração de duas ampolas, por via subcutânea ou intramuscular, para qualquer animal exposto ao risco de intoxicação por toxina botulínica, que ainda não apresentou sintomatologia clínica. A proteção conferida pelo soro é passageira, não se prolongando além de 10 dias. Para os animais que já apresentaram sinais clínicos dessa intoxicação, deve-se utilizar como tratamento de 50.000 UI a 200.000 UI (40 ampolas). Após a aplicação de uma dose inicial, observar o estado do animal para se determinar a necessidade de aplicação de mais antitoxina (soro).

¹ - BOTULIN C-D^R liofilizado – Vencofarma do Brasil.

Medicações de suporte devem ser administradas em conjunto com o soro.

A utilização de antibióticos nas intoxicações alimentares ainda não está bem estabelecida e sua utilização ainda é controversa (Brasil, 2006).

3.5.3- Reações adversas à administração do soro:

Em humanos a recomendação de utilização de soros é intravenosa, garantindo assim maior rapidez na neutralização da toxina circulante. No entanto essa prática ainda não está totalmente difundida, devido à preocupação com as manifestações de hipersensibilidade que podem ocorrer (Cupo *et al.*, 1991; Brasil, 2006).

Segundo Cupo *et al.* (1994), existem quatro tipos de reações relacionadas com a administração de soros heterólogos: Imediatas, geralmente ocorrem de 10 a 180 minutos do início da soroterapia. Precoces, ocorrendo nas primeiras 24 horas. Tardias (doença do soro), 5 a 14 dias após o início da soroterapia, e as reações ditas pirogênicas. Destas, apenas as imediatas e as precoces constituem motivo de preocupação, pela sua potencial gravidade.

As reações imediatas podem ser de dois tipos: anafiláticas ou de hipersensibilidade tipo I, mediadas por IgE portanto, passíveis de serem detectadas por testes de sensibilidade cutâneos e anafiláticos; ou pseudo-alérgicas, que independem de exposição previa a proteínas de cavalo. No desencadeamento dessas reações podem estar implicados a interação direta dos componentes do soro com a membrana de superfície dos mastócitos e basófilos ou a ativação do complemento, formando as “anafiloto-

xinas” que atuam liberando diretamente mediadores químicos.

As manifestações clínicas nas reações imediatas do tipo anafilático ou pseudo-alérgicas são semelhantes, não permitindo inferir nos mecanismos imunopatológicos envolvidos. Os sinais observados podem variar desde reações apenas cutâneas até quadros mais graves, de bronco espasmo, edema de glote e hipotensão (Cupo *et al.*, 1991).

4 - Profilaxia

A vacinação é a medida profilática mais importante. Deve ser feita anualmente com toxóides botulínicos dos tipos C e D. A primeira vacinação deve ser feita antes que os animais entrem em contato com os fatores de risco, com reforço após 42 dias. Deve se lembrar, porém, que a proteção vacinal depende da dose ingerida da toxina, pois os animais vacinados podem desenvolver a doença quando expostos a grandes quantidades desta (Lobato, 1998). Além da vacinação boas práticas devem ser adotadas nas propriedades, como retirada e destinação correta de carcaças das pastagens, mineralização adequada para os animais, oferta de água de qualidade, e impedir que os animais tenham acesso a locais com água estagnada ou de qualidade desconhecida (Döbereiner e Dutra, 1995, Lobato *et al.*, 2013).

5- Relato de caso:

5.1- CASO 1

Histórico

Propriedade localizada no município de Capitólio, Minas Gerais, contendo um plantel de animais da raça nelore, com finalidade de venda de material genético. O sistema de criação difere de acordo com o objetivo de utilização de cada animal, tendo na propriedade animais em sistema extensivo, semi-extensivo e em confinamento (baias).

Segundo o funcionário responsável pelo rebanho de exposição, no dia 02/08/12, 41 (quarenta e um) animais, de várias idades, foram transferidos para uma exposição agropecuária no estado de São Paulo.

Nesta exposição, os animais foram alojados em um galpão, com cama de casca de arroz. Somente os animais que participaram da exposição apresentaram sinais clínicos parecidos foram somente os que participaram da exposição. Durante a exposição, a dieta fornecida aos animais foi a mesma que recebiam na fazenda: silagem, feno e ração. A silagem foi a mesma utilizada na fazenda, porém, foi levada em sacos plásticos. A ração foi feita exclusivamente para a exposição, no entanto com os mesmos ingredientes da rotina da fazenda (milho, soja, sal branco, farelo de trigo e núcleo mineral).

No dia 06/08/12 durante a exposição um touro (Touro A), 26 meses e 1.160 kg, apresentou um quadro de convulsão, sem conseguir levantar, sialorréia intensa, evoluindo para óbito de forma agu-

da. Este touro saiu da fazenda bem, mas 20 dias antes da exposição apresentou quadro de tristeza parasitária e foi tratado. Anteriormente já havia apresentado quadros de convulsões na fazenda, sem complicações. Foi encaminhado para a necropsia e não foram encontradas lesões macroscópicas dignas de nota.

Ao fim da exposição os animais retornaram a fazenda de origem, no dia 12/08/12, e entre a data do óbito do touro “A” e o retorno a propriedade não se observou alteração de comportamento em nenhum outro animal.

No dia 15/08/12 na propriedade um touro (Touro B) deitou no piquete em que se encontrava por volta das 14:00 horas e não se levantou mais. No mesmo dia outro touro que havia participado da exposição (Touro C), não comeu quando o trato foi oferecido a noite e outro animal (Touro D), apresentou alterações de comportamento, e episódios de perda de equilíbrio, sendo observado um agravamento do quadro inicial.

No dia seguinte, 16/08/12 o touro “C” apresentou dificuldade em se levantar e se apoiar nos membros posteriores, o touro “B” permaneceu em decúbito. Os quadros continuaram no dia seguinte, 17/08/12, o touro “C” foi levado da baia para um piquete onde deitou e não se levantou mais, porém com a consciência preservada, vindo a óbito no dia 20/08/12.

No dia 17/08/12, uma vaca que havia ido a exposição (Vaca A), também começou apresentar dificuldades de locomoção, perdendo os movimentos dos membros anteriores, com respiração superficial e predominantemente abdominal (Foto 2-B). Este animal veio a óbito no dia seguinte, 18/08/12. No ano de 2011, no mês de setembro todo o

rebanho foi vacinado contra clostridioses (Bacterina-toxóide contra *C.chauvoei*, *C.septicum*, *C.novyi*, *C.sordellii*, *C.perfringens* C e D), e no mês de novembro o gado com idade abaixo de vinte e quatro meses recebeu o reforço. No ano de 2012 os meses de vacinação foram março e agosto com a mesma vacina do ano anterior, e em maio houve vacinação contra aftosa.

Conduta empregada:

No dia 22/08/12 a equipe da clínica de ruminantes foi até a propriedade, pois havia seis animais com sinais clínicos semelhantes aos animais que vieram a óbito. Foi realizado um levantamento da rotina da fazenda, verificando-se instalações, nutrição e manejo. Os animais que haviam ido à exposição estavam divididos em baias e piquetes por toda propriedade, juntamente com outros animais que não haviam viajado. A única alteração realizada na propriedade após as primeiras mortes foi a substituição da silagem utilizada por uma silagem nova retirada de outro silo.

Exames clínicos:

TOURO B

Este animal apresentava-se enfermo há 7 dias (Foto 1) e se encontrava em um piquete, em decúbito esternal, com a cabeça flexionada sobre o flanco e os membros posteriores estendidos (Foto 1-A). Estava consciente, com respiração abdominal, de pouca intensidade, endoftalmia, vasos episclerais congestos, mu-

cosas cianóticas, turgor de pele muito diminuído (> 20 segundos), atonia de rúmen, odor fétido no ar expirado, áreas de necrose na cavidade nasal e no palato. Atividade motora reduzida, com perda de tônus muscular generalizado, principalmente da língua, boca e ânus.

Devido às condições avançadas da enfermidade e ao prognóstico desfavorável, a recomendação foi a eutanásia do animal, que foi autorizado pelo proprietário, para realização de necropsia e coleta de material para exames complementares.

Achados de necropsia: Animal com grande reserva de gordura, musculatura da parede abdominal ventral de coloração brancacenta, com estriações evidentes; fígado aumentado de volume e congesto; bexiga repleta de urina, de coloração castanha; cérebro com vasos congestos e córtex cerebral com coloração rósea; pulmão com enfizema intersticial.

Coleta de material:

- Clap de cérebro, fígado e baço para pesquisa de hemoparasitas: resultado negativo (realizado na fazenda).
- Material para raiva (córtex, hipocampo, cerebelo, ponte e medula): resultado negativo (Instituto Mineiro de Agropecuária - IMA)
- Histopatologia: material encaminhado para um laboratório comercial. Os resultados da histopatologia não revelaram nenhuma alteração inflamatória ou degenerativa cerebral e as lesões renais observadas podem estar relacionadas com o quadro de mioglobinúria resultante da lesão muscular pelo decúbito prolongado. Assim, estes resultados descartaram doenças inflamatórias do encéfalo como raiva e meningoencefali-

te por herpes vírus tipo 5 e degenerativas como polioencefalomalácia. Além disso, não foram descritos nenhum achado digno de nota nos outros órgãos.

- Pesquisa de toxina botulínica: material encaminhado ao LANAGRO (Laboratório Nacional Agropecuário): resultado negativo.

- Urinálise: resultado apresentou mioglobinúria.

TOURO D

Os parâmetros vitais encontrados durante o exame clínico foram, temperatura retal de 38,4 °C, frequência cardíaca de 60 batimentos por minuto e frequência respiratória de 12 movimentos por minuto.

Animal se encontrava no redondel com comportamento apático, permanecendo a maior parte do tempo em decúbito esternal (Foto 2-A). Quando estimulado levantou-se sem auxílio, porém, vagarosamente. Em estação o animal permanecia com os membros anteriores abertos, aumentando a base de sustentação, apresentando respiração abdominal e superficial. Tônus de boca, língua, cauda e ânus diminuídos. Mastigação lenta e pouco progressiva. Rúmen apresentando hipomotilidade com pouco conteúdo, sem estratificação, porém apresentava momentos de ruminação e apetite presente. No flanco direito, na auscultação com percussão, havia presença de quantidade moderada de gás.

Quando era empurrado corrigia a postura. Sensibilidade superficial e profunda preservadas, visão e propriocepção normal.

No dia 21/08 foi administrado enrofloxacin intramuscular, por decisão dos funcionários, pelo fato de já ter ocorrido

casos de anaplasiose em alguns animais.

Esfregaço Sanguíneo: Negativo para hemoparasitoses.

TOURO E

Os parâmetros vitais encontrados durante o exame clínico foram, temperatura retal de 38,5°C, frequência cardíaca de 72 batimentos por minuto e frequência respiratória de 16 movimentos por minuto.

Animal foi trazido da baia para o redondel, no caminho apresentou-se alerta ao ambiente, contudo, com letargia ao caminhar. Globo ocular retraído. Diminuição do tônus de cauda, boca e língua, movimentos ruminais incompletos e diminuídos, extratificação do rúmen ausente. A palpação retal rúmen vazio com conteúdo mais firme, fezes com presença de muco e fibras bem pequenas.

Esfregaço sanguíneo: Negativo para hemoparasitoses.

TOURO F

Os parâmetros vitais encontrados durante o exame clínico foram, temperatura retal de 38,7°C, frequência cardíaca de 68 batimentos por minuto, frequência respiratória de 24 movimentos por minuto.

No dia 20/08 havia sido tratado com Dipropionato de imidocarb e Oxitetraciclina. Este tratamento foi instituído pelos funcionários, sem conhecimento dos técnicos, pelo fato de ter ocorrido um surto de tristeza parasitária, babesiose e anaplasiose, no rebanho no passado.

Animal foi trazido da baia, estava alerta e atento ao ambiente. Tônus de cauda, língua e boca sem alterações. Movimen-

tos ruminais de pouca intensidade, incompletos e com hipomotilidade. Focinho ressecado e fezes ressecadas, indicando desidratação.

Esfregaço Sanguíneo: Negativo para hemoparasitoses.

Procedimento: Este animal apresentava quadro clínico diferente dos demais. Estava em fase de recuperação de uma hemoparasitose, e segundo os resultados do hemograma, estava em recuperação da anemia. Desta forma foi realizada hidratação oral (20 litros) e recomendou-se um transplante de suco de rúmen. Este procedimento foi realizado no dia seguinte pelo médico veterinário responsável pelos animais.

NOVILHA A

O parâmetro vital avaliado e durante o exame clínico foi, temperatura retal de 39,0°C.

Um dia anterior ao exame clínico do rebanho, este animal foi tratado para tristeza parasitária (Dipropionato de imidocarb e Oxitetraciclina), pelo mesmo motivo que os demais animais receberam esta medicação.

Segundo relato dos funcionários, dois dias antes do exame, a novilha apresentou diminuição no consumo de alimentos. Ao exame clínico apresentou-se muito alerta e responsiva aos estímulos, no entanto apresentava diminuição de tônus de língua e cauda e rúmen vazio com atonia.

Esfregaço Sanguíneo: Negativo para hemoparasitoses.

NOVILHA B

O parâmetro vital avaliado durante o exame clínico foi temperatura retal de 39,0°C. Animal sem alterações clínicas

dignas de nota. Movimentos ruminais presentes, completos e rúmen cheio. Esfregaço Sanguíneo: Negativo para hemoparasitose.

Tratamento

Aplicação de soro antibotulínico C e D em todos os animais de baia. Apesar dos casos de morte e doença se concentrarem no grupo dos 41 animais que foram para a exposição, decidiu-se aplicar o soro em todos os animais de baia, uma vez que se alimentavam com a mesma fonte de silo e concentrado. Desta forma cerca de 117 animais receberam soro na dose de duas ampolas por animal por via subcutânea como esquema preventivo. Outros três animais (Touro D, Touro E e Novilha A) que apresentavam sinais clínicos compatíveis com botulismo, foram tratados com 40 ampolas de soro cada um também por via subcutânea. Após a aplicação do soro os animais foram monitorados e os animais que receberam 200.000 UI, apresentaram algum tipo de reação, cerca de 40 minutos após a aplicação, apresentando: sialorréia, taquipnéia, tosse, depressão, pelos arrepiados e aumento de temperatura. Esses animais foram tratados com 20 mg de dexametasona e 2,2 mg/kg de peso vivo de flunixin meglumine, se recuperando em seguida.



FOTO 1 – Touro B – A e B - Animal com cabeça flexionada e membros estendidos, quando manipulado permanecia na posição em que era colocado. C e D – animal demonstrando pouca tonicidade muscular, deixando ser manipulado sem resistência.

Quadro 1 – Relação de animais com sinais clínicos, curso da doença, evolução clínica e tratamento.

ANIMAL	IDADE	CURSO	EVOLUÇÃO	TRATAMENTO	SINAIS
TOURO A	26 MESES	SUPERAGUDO (< 24 horas)	ÓBITO	SEM TRATAMENTO	Convulsões
TOURO B	30 MESES	CRÔNICO (> 7 dias)	ÓBITO	SEM TRATAMENTO	Paralisia generalizada
TOURO C	33 MESES	SUBAGUDO (5 dias)	ÓBITO	SEM TRATAMENTO	Paralisia generalizada
TOURO D	29 MESES	CRÔNICO (> 7 dias)	CURA	200.000 UI	Letargia, diminuição de tônus muscular
TOURO E	21 MESES	AGUDO (< 48 horas)	CURA	200.000 UI	Letargia
VACA A	37 MESES	SUPERAGUDO (<24 horas)	ÓBITO	SEM TRATAMENTO	Paralisia geneneralizada
NOVILHA A	11 MESES	AGUDO (< 48 horas)	CURA	200.000 UI	Letargia



FOTO 2 – A – Touro D – decúbito esternal, membros estendidos em posição anormal; B – Vaca A - Membros estendidos em posição anormal e ausência de resistência ao ser manipulada, devido a baixa tonicidade muscular

Discussão

A história clínica, evolução, curso e os sinais clínicos apresentados, são sugestivos de um quadro de botulismo, causado pela silagem ensacada, levada para exposição. Para raiva, foram enviados para diagnóstico materiais de todos animais necropsiados (córtex, hipocampo, cerebelo e medula), com resultados negativos, o que exclui esta possibilidade. Para lesões causadas pelo herpesvírus, raiva e polioencefalomalacia, os exames de histopatologia foram incompatíveis. Foram enviados materiais para diagnóstico de botulismo dos animais necropsiados (conteúdo do rúmen, abomaso e intestino delgado e fragmento de fígado) e foram negativos. Vale a pena destacar que os exames laboratoriais para detecção de toxinas botulínicas se negativo, não são confirmatórios.

Segundo informações do médico veterinário responsável pela propriedade, mais uma vaca do grupo que foi para exposição, apresentou quadro clínico a partir de 25/08/12. Foi medicada com soro antibotulínico (200.000 UI) e estava apresentando evolução satisfatória do quadro clínico inicial. Esta vaca foi examinada posteriormente e apresentou um flegmão no membro anterior em decorrência de uma escara de decúbito comprometendo bastante seu quadro clínico. É interessante observar que este animal não havia tomado as duas ampolas de SAB preventivamente no dia da visita, pois não estava nas baias como as demais. Ainda segundo informações, o restante dos animais enfermos apresentaram boa evolução e os outros animais das baias permaneceram normais.

5.2- CASO 2

Histórico

No dia 27/11/12 foram enviadas ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais – HV-UFMG, duas vacas oriundas de uma fazenda em Mariana, Minas Gerais, com queixa de alta mortalidade no rebanho leiteiro, com curso agudo. O rebanho era constituído de aproximadamente 40 vacas, mestiças zebu x taurino, em lactação, 25 bezerros e 3 touros.

Segundo informações do proprietário, nos últimos 15 dias morreram 28 vacas, com curso agudo, sendo que alguns animais morriam sem apresentar nenhum sinal clínico. Os animais recebiam somente vacinação contra brucelose e aftosa segundo o plano vigente dos órgãos de defesa sanitária. O rebanho permanecia em pastos de *brachiaria* e as vacas em lactação recebiam suplementação com cana-de-açúcar e ração comercial, após a ordenha. Com o intuito de aumentar a produção de leite e com a diminuição de forrageira disponível na propriedade, quarenta dias antes do início da mortalidade, o proprietário comprou silagem de milho, que foi armazenada em sacos com aproximadamente cinquenta quilos de silagem cada um. Essa silagem era fornecida somente as vacas em lactação. Não houve relato de caso de doença ou mortalidade em animais jovens. Assim que se iniciou a mortalidade dos animais a silagem de milho não foi mais oferecida.

Exames clínicos

VACA 1

Este animal chegou em decúbito no caminhão, e ao ser auxiliada levantou-se e correu, porém sem equilíbrio e com fraqueza nos membros posteriores. Estava alerta, responsiva aos estímulos do ambiente e não permanecia por muito tempo em estação. Apresentava taquipnéia com movimentos respiratórios bifásicos com predominância de respiração abdominal. Escore corporal ruim (2,0), e grau de desidratação severo. Tônus de língua, reflexo de ânus e cauda diminuídos.

O animal foi hidratado e colocado em uma baia, no primeiro dia comeu e bebeu água normalmente, no entanto, no dia seguinte o animal apresentou decúbito esternal e no dia seguinte (29/11/12) veio a óbito. Foi realizada necropsia onde não se observou nenhuma alteração macroscópica.

Foi coletado material para diagnóstico complementar de raiva e herpesvírus tipo 5 (córtex cerebral, hipocampo, cerebelo e medula), material para diagnóstico de botulismo (conteúdo rumenal, conteúdo intestinal e fígado), além de material para histopatologia, sendo os resultados negativos para raiva, herpesvírus tipo 5 e botulismo, e sem alterações na histopatologia.

VACA 2

A vaca 2 também chegou em decúbito lateral, porém não se levantou, e não se apoiava quando suspensa com o auxílio de uma talha. Escore corporal bom (3,5). A única alteração clínica apresentada foi a postura. Permaneceu por 7 dias em decúbito lateral, consciente,

com presença de apetite, desidratação, apresentando também movimentos de pedagem. Diante do quadro clínico, a evolução do quadro e o prognóstico desfavorável o animal foi eutanasiado no 7º dia de internação.

Foi encaminhada para a necropsia onde não se observou alterações dignas de nota.

O material de coleta para diagnóstico complementar, foi o mesmo do coletado na vaca 1. Foi coletado material para diagnóstico de raiva e herpesvírus tipo 5 (córtex cerebral, hipocampo, cerebelo e medula), material para diagnóstico de botulismo (conteúdo rumenal, conteúdo intestinal e fígado), além de material para histopatologia, sendo os resultados negativos para raiva, herpesvírus tipo 5 e botulismo, e sem alterações na histopatologia.

Conduta empregada

Visto o histórico e os sinais clínicos dos animais trazidos ao hospital, foi decidido ir a fazenda, a fim de se conhecer o ambiente do rebanho. Em visita a propriedade, no dia 03/12/2012, observou-se que o terreno era muito inclinado e havia vários pastos onde se encontravam plantas invasoras e acesso a matas fechadas onde continham carcaças de animais que morreram no surto (carcaças em decomposição) e carcaças mais antigas (ossos secos), inclusive próximas a coleções de água onde os animais tinham acesso (FIGURA 3). Na propriedade havia ainda 4 vacas que apresentavam algum tipo de sinal clínico como: andar letárgico, fraqueza nos membros posteriores, diminuição de consumo, diminuição de tônus de cauda, esfíncter anal e língua. Havia também uma bezerro de aproximadamente quatro meses de

idade e 60 quilos, que permanecia a maior parte do tempo em decúbito, levantava quando ajudada, com andar incoordenado não permanecendo muito tempo em estação. Não tinha tônus de cauda, língua e diminuição das respostas motoras (FIGURA 3-E).

As recomendações deixadas durante a visita foram:

_ Cessar o oferecimento da silagem de milho;

_ Recolher e incinerar as carcaças espalhadas pela propriedade;

_ Cercar as áreas de mata para evitar o consumo de plantas potencialmente tóxicas;

_ Revisão do calendário sanitário, com esquema de vacinação de todo rebanho com vacinas que incluíssem proteção contra clostridioses (incluindo botulismo).

A silagem que restava na propriedade estava armazenada em sacos plásticos em um cômodo fechado, e vários desses sacos estavam com silagem escura, mal cheirosa e com grande quantidade de fungos.

Diagnóstico

As vacas encaminhadas ao HV-UFMG foram necropsiadas e nenhuma alteração digna de nota foi encontrada nas necropsias. Para pesquisa dos agentes virais, raiva e herpesvírus tipo 5, o material enviado para pesquisa são os mesmos, pequenos fragmentos de córtex cerebral, hipocampo, gânglio trigeminal, cerebelo e medula espinhal e são conservadas sob refrigeração. Para diagnóstico de raiva o método mais utilizado é a imunofluorescência direta em campo escuro como triagem e o teste

biológico em camundongos como confirmatório, e para o diagnóstico de herpesvírus utiliza-se o teste da reação da polimerase em cadeia (PCR). Para diagnóstico de botulismo foram coletadas amostras de conteúdo de abomaso, intestino delgado e fragmento de fígado, para teste biológico em camundongos. Além das amostras citadas foram feitos *clap* e *squash* cerebrais para diagnóstico de hemoparasitas. Todos os testes realizados foram negativos.

Tratamento

Nos animais com sinais clínicos foi administrado soro antitoxinico (200.000 UI) por via subcutânea, simultaneamente esses animais receberam tratamento de suporte, como hidratação oral, melhoria nas condições ambientais e auxílio para levantar. Nos demais animais, que não apresentavam sinais clínicos, mas foram expostos aos fatores de risco, foram administradas duas ampolas (10.000 UI) subcutâneo, com o intuito de impedir que potenciais toxinas circulantes se ligassem aos neuroreceptores, essa conduta visa prevenir o aparecimento de sinais clínicos. A bezerra que apresentava sinais clínicos, de aproximadamente quatro meses, apresentou uma reação durante a aplicação da 23ª ampola, então optou por não administrar mais soro e manter o animal em um ambiente mais calmo. Após o tratamento os animais não apresentaram evolução dos sinais clínicos, e dentro de algumas semanas os sinais desapareceram.



FOTO 3 – A,B,C e D- carcaças encontradas em áreas de pastejo. E - bezerra após cair e não conseguir se levantar, devido a sua diminuição de tônus muscular.

Discussão

A mortalidade cessou assim que houve a retirada da silagem da alimentação dos animais. Assim como no caso anterior os animais tratados apresentaram melhora do quadro clínico. Os exames para os diagnósticos diferenciais foram negativos, apesar dos vários fatores de risco, que possam colaborar com um surto de mortalidade, como presença de grande quantidade de carcaças espalhadas pelas pastagens, acesso a fontes de água parada e matas com possíveis plantas tóxicas. O quadro leva ao fechamento de um surto de botulismo causado pela silagem ensacada. Não houve relato de novos casos no rebanho.

5.3- CASO 3

Histórico

Propriedade localizada em Sete Lagoas, Minas Gerais. Nesta propriedade se encontravam os animais de maior valor genético do proprietário, o gado comercial permanecia em outra fazenda, e havia deslocamento de animais entre as duas propriedades. A atividade predominante era a produção de leite, e os animais eram alimentados com silagem de milho, ração comercial e permaneciam parte do dia em piquetes de *tifton* e a noite em baias.

O atendimento foi feito em uma novilha da raça gir, com 30 meses, 450 quilos e com gestação de aproximadamente 150 dias.

Segundo relato do funcionário, no dia 11/02/2014 ao fornecer a alimentação aos animais, percebeu que a novilha permaneceu deitada. Estava com o pelo arrepiado e se levantando com dificuldade. Na tarde do mesmo dia foi retirada do piquete de *tifton*, onde ficavam com outras cinco vacas, e levada para baia. No caminho o funcionário percebeu que o animal andava com dificuldade e não tinha equilíbrio nos membros posteriores. Quando chegou na baia deitou e não se levantou mais. Segundo o gerente os animais são vacinados contra raiva, aftosa, enterotoxemia e mio-necroses.

Conduta empregada:

Durante inspeção no piquete observou-se, que havia água limpa no cocho, e este era de fácil acesso aos animais. No entanto havia ao lado do piquete duas lagoas e os animais tinham acesso a uma delas. A outra lagoa abrigava um ninhal de aves (garças). No piquete ao lado havia grande quantidade de carcaças dessas aves, também sendo encontrada uma carcaça no piquete das vacas.

Exame clínico

Durante a inspeção o animal, apresentava escore corporal 5, se encontrava em decúbito esternal, alerta e responsivo ao ambiente, apetite presente, com sensibilidade superficial e profunda. Quando estimulada a mesma levantou-se com dificuldade sendo necessário auxílio do funcionário da fazenda. Apresentou

dificuldade em se manter em estação com incoordenação dos membros posteriores, ficando poucos segundos em estação. Temperatura retal de 38,7 °C, frequência cardíaca de 82 batimentos por minuto, frequência respiratória de 28 movimentos por minuto, com movimentos bifásicos predominantemente abdominais. Tônus muscular presente porém diminuído, movimentos ruminais e intestinais normais, fezes e urina sem alteração, ataxia dos membros posteriores e diminuição discreta no tônus dos membros anteriores e dos movimentos mastigatórios.

Tratamento

Na novilha com sinais clínicos foi administrado 200.000 UI de soro antitoxinotóxico e três dias consecutivos de 20 ml de flunixin meglumina. E nas outras cinco vacas que ficavam no mesmo piquete foram administradas duas ampolas de soro (10.000 UI) em cada animal.

Discussão

Neste caso a novilha foi acompanhada, apresentando melhoras nos sinais clínicos, não apresentou nenhuma reação a aplicação do soro e manteve-se gestante. No dia seguinte a aplicação do soro o funcionário relatou que uma das vacas que ficava no mesmo piquete da novilha estava letárgica, mas não apresentou outros sinais clínicos e no dia seguinte estava normal, e nenhum outro animal apresentou nenhum comportamento anormal.

6 - Discussão

O diagnóstico do botulismo por isolamento é difícil nos métodos atuais de pesquisa da toxina botulínica, e os diagnósticos se baseiam no histórico, sinais clínicos e evidências de fatores de risco. Medidas de prevenção contra botulismo devem ser implementadas nas fazendas, pois há vários fatores de risco presentes, uma vez que se utilizam alimentos conservados e, além disso, os animais estão em constante deslocamento entre exposições onde não se tem o controle dos fatores predisponentes.

Em dois casos houve reação de alguns animais a aplicação do soro, no entanto não houve grandes danos ao prognóstico. Os animais que tiveram algum tipo de reação são animais jovens, e segundo orientação do Ministério da Saúde, em humanos o soro não é recomendado para crianças o que corrobora com os achados.

7- Considerações finais

Há pouca informação na literatura sobre o tratamento de botulismo em bovinos, e diferentemente do descrito, com o advento do soro antitoxinotóxico o tratamento se torna interessante financeiramente principalmente por permitir que os animais que ainda não apresentaram sinais não venham adoecer. A vacinação ainda é o método mais eficiente em relação a viabilidade econômica e proteção contra o botulismo. O histórico, sinais clínicos, curso da doença, achados de necropsia, histopatológicos e exames complementares são compatíveis com o quadro de botulismo nos três casos relatados. O tratamento foi eficaz nos casos atendidos, no entanto há ne-

cessidade de mais estudos para o uso do soro e tratamento em casos de botulismo.

8 - Referências bibliográficas:

ALVES, G.G.; SILVA, R.O.S.; PIRES, P.S.; SALVARANI, F.M.; LOBATO, F.C.F. *et al.* Surto de botulismo tipo C em frangos na cidade de Pancas, Espírito Santo. Brasil. Ciências Agrárias, 34(1), 355-358, 2013.

AOKI, K.R.; SMITH, L.A.; ATASSI, M.Z. *Mode of action of botulinum neurotoxins: current vaccination strategies and molecular immune recognition.* Crit. Rev. Immunol., 30, 167-187, 2010.

BALDASSI, L.; HIPOLITO M.; PORTUGAL, M.A.S.C.; CALIL, B.E.M.; MOULIN, A.A.P.; PIRES, D.C. *Bovine botulismo: laboratorial confirmation of clinical diagnosis during the period 1986-1989.* Rev Saude Publica., 25, 371-374, 1991.

BIENVENU, J. G.; MORIN, M.; FORGET, S. *Poultry litter associated botulism (type C) in cattle.* Canadian Veterinary Journal, 31, 111, 1990.

BRASIL, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), disponível em

<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2002/agosto/bn.2004-125.4697773704>, 2002, acessado em 15/02/2014.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde Departa-

mento de Vigilância Epidemiológica – *Manual Integrado de Vigilância Epidemiológica do Botulismo.* Série A Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2006.

BRÜGGEMANN, H. *Genomics of clostridial pathogens: implication of extrachromosomal elements in pathogenicity.* Cur Opin Microbiol., 8, 601-605, 2005.

CHAUDHRY, R. *Botulism: a diagnostic challenge.* Indian J Med Res., 134, 10-12, 2011.

CUPO, P.; AZEVEDO MARQUES, M.M.; MENEZES, J.B.; HERING, S.E. *Reações de hipersensibilidade imediatas após uso intravenoso de soros anti-venenos: valor prognóstico dos testes de sensibilidades intradérmicos.* Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 32(2), 115-122, 1991.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; LANGENEGGER, J.; DUTRA, I.S. *Epizootic botulism of cattle in Brazil.* Dtsch. Tierärztl. Wschr., 99, 188-190, 1992.

DÖBEREINER, J.; DUTRA, I. *O botulismo dos bovinos e o seu controle.* Rio de Janeiro: Embrapa, Comunicado Técnico, 4, 7-10, 1995.

DUTRA I.S.; DÖBEREINER J. *Fatos e teorias sobre a doença da vaca caída: botulismo.* Hora Vet., Porto Alegre, 84:7-10, 1995.

DUTRA, I.S.; DÖBEREINER J.; ROSA, I.V.; SOUZA, L.A.A.; NONATO,

- M. Surtos de botulismo em bovinos em Brasil associados a ingestão de água contaminada. *Pesq. Vet. Brasil.*, 21(2), 43-48, 2001.
- DUTRA, I.S., DÖBEREINER, J., SOUZA, M.S. *Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango.* *Pesq. Vet. Bras.*, 25(2), 115-119, abr/jun. 2005.
- Gill, D.M. *Bacterial toxins: a table of lethal amounts.* *Microbiol Mol Biol Rev.*, 46, 86–94, 1982.
- KELCH, W.J.; KERR, L.A; PRINGLE, J.K.; WHITLOCK, R.H. *Fatal Clostridium botulinum toxicosis in eleven holstein cattle fed round bale barley haylage.* *Journal of Veterinary de Medicina Investigation*, 12, 453-455, 2000.
- LINDSTRÖM, M; KORKEALA, H. *Laboratory diagnostics of botulism.* *Clin Microbiol Rev.*,19, 298-314, 2006.
- LOBATO, F.C.F.; SILVA, N.; ALMEIDA, A.C., et al. *Potência de toxóides botulínicos bivalentes C e D produzidos e comercializados no Brasil.* *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 20(1), 35-38, 1998.
- LOBATO, F.C.F.; SALVARANI, F.M.; SILVA, R.O.S.; SOUZA, A.M. et al. *Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama-de-frango.* *Ciência Rural*, Santa Maria, 38(4), 1176-1178, 2008.
- LOBATO, F.C.F., SALVARANI, F.M.; GONÇALVES, L.A.; PIRES, P.S. et al. *Clostridioses dos animais de produção.* *Vet. E Zootec.*, 20, 29-48, 2013.
- MABONI, F.; MONEGO F.; DUTRA I.; MATIUZZI M.C.; VARGAS A.C. *Ocorrência de botulismo em bovinos confinados no Rio Grande do Sul.* *Ci. Anim. Bras.*, Goiânia,11(4), 962-965, out./dez. 2010.
- Moreira, G.H.F.A. *Botulismo bovino: Relato de Casos.* 2011. 23 p. Monografia (Residência Medico-Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- RODLOFF, A.C.; KRÜGER, M. *Chronic Clostridium botulinum infection in farmers.* *Anaerobe*, 18, 226-228, 2012.
- SEIFERT, H.S.; BONHEL, H. *Clostridiosen.* In: *Blobel H., Schlieber T. Handbuch der bakteriellen infektionen bei Tieren.* Stuttgart: Gustav Fisher, 89-153, 1994.
- SOUZA, A.M. *Distribuição de esporos de Cl. Botulinum no solo em torno de cadáveres decompostos de bovinos vítimas de botulismo em pastagens no Sul de Goiás.* 1985. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.
- SWAMINATHAN, S. *Molecular structures and functional relationships in*

clostridial neurotoxins. FEBS J., 278, 4467-4485, 2011.

THEILER, A.; ROBINSON, E.M. *Der Botulismus der Haustiere*. Ztschr. Infektionskr., 31, 165-220, 1927.

TOKARNIA, C.H.; LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C.H.; CARVALHO, E.V. *Botulismo em bovinos no*

Estado do Piauí, Brasil. Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet., 5, 465-472, 1970.

VAN DER LUG, J.J.; DE WET S.C.; BASTIANELLO, S.S.; KELLERMAN, T.S.; VAN JAARVELD, L.P. *Two outbreaks of type C and D botulism in sheep and goats in South Africa*. J. of South Africa Vet. Assoc., 66, 77-82, 1995.