



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**



**ALTERNATIVAS PARA CORREÇÃO DE FATORES
LIMITANTES E ALTERNATIVAS PARA O AUMENTO DA
EFICIÊNCIA DO DIAGNÓSTICO NOS LABORATÓRIOS DE
DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO**

CAROLINA DE CASTRO GUIZELINI

**Campo Grande – MS
2024**

CAROLINA DE CASTRO GUIZELINI

**ALTERNATIVAS PARA CORREÇÃO DE FATORES
LIMITANTES E PARA O AUMENTO DA EFICIÊNCIA DO
DIAGNÓSTICO NOS LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO
VETERINÁRIO**

***Alternatives for correcting limiting factors and increasing
the efficiency of diagnosis in Veterinary Diagnostic
Laboratories***

CAROLINA DE CASTRO GUIZELINI

Orientador: Ricardo Antonio Amaral de Lemos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Veterinárias.

**Campo Grande – MS
2024**

DEDICATÓRIA

A Deus e aos meus anjos da guarda, sei que me sustentaram a todo o instante; meu futuro é cuidado por vocês, e por isso sigo adiante fazendo o melhor que posso e evoluindo, sempre. A jornada até aqui só foi possível devido ao meu grupo de apoio e agradeço a todos vocês pelo zelo e companheirismo de anos: minha família e minhas amigas, Mariana, Raiza, Fernanda, Rayane, Eduarda, Danielle e Andreia. Vocês foram e são minha inspiração. Ao meu orientador, professor Ricardo Lemos, saiba que nesses 10 anos busquei crescer profissionalmente me espelhando no senhor, que é um dos melhores médicos veterinários, conselheiros, professores e seres humanos que conheci, e é (sempre será) o melhor orientador que eu poderia ter. Dedico esta tese ao senhor, pois ela foi fruto do nosso trabalho durante todo este tempo. Obrigada pelo tempo dedicado à minha formação e pelas oportunidades oferecidas a mim. Fui imensamente feliz por isso e por poder ajudá-lo da melhor forma que consegui. Orgulho-me de ter feito parte da sua equipe. Ao Laboratório de Anatomia Patológica da UFMS e a toda sua equipe, obrigada por serem meu lar durante tantos anos e me ajudarem a me tornar a profissional que sou hoje. Finalmente, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro durante todo o meu doutorado.

"Que a tua vida não seja estéril. Sê útil. Deixa rasto."

São Josemaria Escrivá

Sumário

RESUMO	8
Abstract	9
CAPÍTULO 1	10
1.1. Introdução	10
1.2. Objetivos	11
1.3. Metodologia	12
1.4. Resultados	15
1.5. Bibliografia	21
CAPÍTULO 2 – Clinical and anatomopathological aspects of <i>Stryphnodendron fissuratum</i> poisoning in cattle and sheep	25
CAPÍTULO 3 – Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle	42
CAPÍTULO 4 – Conduta diagnóstica em doenças de bovinos de corte	49
CAPÍTULO 5 – Atividades complementares	51
5.1. Treinamentos para médicos-veterinários	51
5.2. Administração e coordenação de um grupo de WhatsApp® para médicos veterinários	53
5.3. Boletins anuais do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul	56
CONSIDERAÇÕES GERAIS	58
IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO	59

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Clinical and anatomopathological aspects of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle and sheep

- Figure 1. Macroscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle..... 31
- Figure 2. Microscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle. Esophagus. The mucosal epithelium is absent (ulceration) and the submucosa is substituted by an eosinophilic mass interspersed with neutrophilic and cell debris (necrosis). A blood vessel is necrotic and diffusely recovered by a fibrillar eosinophilic mass (arrow). HE..... 32
- Figure 3. Microscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle. Kidney. There are multiple and discrete foci of tubular epithelial cell disorganization, degeneration and necrosis. In the affected tubules, the lumen is filled by eosinophilic proteinaceous material interspersed with cellular and neutrophil debris. HE..... 33

CAPÍTULO 3

Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle

- Figure 1. Tick infestation as cause of death in cattle. (A) Skin of sternal and abdominal regions with multiple areas of alopecia and moderately infested by *R. microplus* specimens of different sizes. (B) Accentuated infestation by *R. microplus* on skin in medial portion of right pelvic limb..... 45
- Figure 2. Daily precipitation and temperature data in microregion of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, between April and August 2020, period of occurrence of deaths caused by *R. microplus* infestation. Available in agritempo.gov.br..... 45

CAPÍTULO 5

- Figura 1. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Jardim, julho de 2023. Fase teórica do treinamento..... 52
- Figura 2. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Costa Rica, junho de 2023. Fase teórica do treinamento e reunião com os médicos veterinários da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de Mato Grosso do Sul (IAGRO), Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa) e Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA)..... 52
- Figura 3. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Costa Rica, junho de 2023. Fase prática do treinamento, com realização de necropsia e orientação sobre coleta, armazenamento e envio de amostras de tecido a laboratórios de diagnóstico veterinário..... 53
- Figura 4. Grupo de WhatsApp® voltado a médicos veterinários do Brasil, onde são publicadas notas técnicas e diversos informativos sobre as doenças de bovinos que acontecem em Mato Grosso do Sul..... 55

Figura 5. Nota técnica “Sanidade em animais de produção” publicada mensalmente no grupo de WhatsApp® para médicos veterinários do Brasil. Esta nota técnica foi enviada em fevereiro de 2024.....	55
Figura 6. Capa do Boletim anual de diagnóstico do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2022.....	57
Figura 7. Capa do Boletim anual de diagnóstico do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2023.....	57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.	Causas dos diagnósticos inconclusivos oriundas de amostras de tecidos bovinas encaminhadas por médicos veterinários externos ao LAP-FAMEZ, durante o período de janeiro de 2020 a dezembro de 2023.....	15
Tabela 2.	Causas dos diagnósticos inconclusivos oriundas de necropsias realizadas pela equipe do LAP-FAMEZ, durante o período de janeiro de 2020 a dezembro de 2023.....	16
Tabela 3.	Diagnósticos inconclusivos em artigos de estudos retrospectivos das doenças de bovinos diagnosticadas em laboratórios de diagnóstico veterinário do Brasil.....	18

CAPÍTULO 2
Clinical and anatomopathological aspects of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle and sheep

Table 1.	Design of the two phases of <i>Stryphnodendron fissuratum</i> experimental poisoning in sheep.....	28
Table 2.	Epidemiological data of <i>Stryphnodendron fissuratum</i> poisoning outbreaks in the northern central region of Mato Grosso do Sul.....	29
Table 3.	Clinical data of affected cattle in the three <i>Stryphnodendron fissuratum</i> poisoning outbreaks.....	30
Table 4.	Serum activities of liver and kidney enzymes of cattle spontaneously poisoned by <i>Stryphnodendron fissuratum</i>	30

CAPÍTULO 3
Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle

Table 1.	Results of hematological exam of cattle clinically examined by LAP-FAMEZ team during visit to the farm.....	44
----------	---	----

RESUMO

GUIZELINI, C.C. ALTERNATIVAS PARA CORREÇÃO DE FATORES LIMITANTES E PARA O AUMENTO DA EFICIÊNCIA DO DIAGNÓSTICO NOS LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO. 2024. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

O controle das doenças desempenha um papel relevante para o aumento da produtividade nas propriedades de criação de bovinos. Para que este controle seja eficiente, é necessário que o diagnóstico de doenças seja preciso, e isso só é possível, a partir da utilização de um sistema integrado de diagnóstico, dentro do qual se destacam os Laboratórios de Diagnóstico Veterinário (LDVs), que são responsáveis pelo diagnóstico de diversas enfermidades. A identificação das causas de diagnósticos inconclusivos por parte das equipes dos LDVs constitui uma importante medida analítica que permite reconhecer erros pré-analíticos e após o exame histopatológico, para que seja possível elaborar medidas que minimizem tais erros ou equívocos cometidos, principalmente, durante a necropsia, pois o diagnóstico de diversas doenças só é possível quando ela é realizada de forma completa. O objetivo deste estudo foi identificar pontos críticos na rotina dos laboratórios de diagnóstico veterinário e formular métodos para sua correção. Para atendê-lo, o trabalho foi dividido em três etapas: a) estudos retrospectivo e prospectivo das causas de diagnóstico inconclusivo no Laboratório de Anatomia Patológica (LAP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, durante janeiro a maio de 2020 e junho de 2020 a dezembro de 2023, respectivamente; b) revisão de literatura para estratificação das causas de diagnóstico inconclusivo nos LDVs localizados no Brasil; e c) preparação do livro denominado “Conduta diagnóstica de doenças de bovinos – Guia Prático”, publicado pela Editora Life em 2022. Durante janeiro de 2020 a dezembro de 2023, foram protocolados laudos oriundos de 1368 amostras de tecidos de bovinos. Desses, 543 (39,7%) resultaram em diagnósticos inconclusivos, dentre os quais 91,1% e 8,9% dos diagnósticos inconclusivos ocorreram quando médicos veterinários externos ao LAP e médicos veterinários da equipe do LAP realizaram a necropsia, respectivamente, e que 44,5% de todas as amostras encaminhadas por veterinários externos ao LAP foram inconclusivas, enquanto 18,7% dos animais necropsiados pela equipe da Instituição não possuem diagnóstico definitivo. Amostras encaminhadas de forma incompleta foi o principal motivo que resultou nos diagnósticos inconclusivos. Na revisão bibliográfica, a quantidade de diagnósticos inconclusivos variou entre 2,9% e 58,23% e foi maior quando médicos veterinários externos ao LDV realizou a necropsia; o principal motivo dos diagnósticos inconclusivos foi semelhante ao encontrado no presente estudo. As principais falhas que induzem a erros no diagnóstico e à impossibilidade na realização do diagnóstico são as pré-analíticas, especialmente, o desconhecimento por parte dos profissionais em relação à coleta e acondicionamento de amostras de tecidos durante a necropsia, e ao reconhecimento de lesões macroscópicas. A elaboração de materiais práticos voltados ao diagnóstico e que têm como objetivo auxiliar médicos veterinários que atuam diretamente no campo a se aperfeiçoarem nas práticas de diagnóstico a campo, como o Guia Prático desenvolvido neste estudo, constitui uma das maneiras que podem reduzir os prejuízos causados pela morte de bovinos.

Palavras-chave: controle, doenças de bovinos, inconclusivos, patologia

Abstract

GUIZELINI, C.C. ALTERNATIVES FOR CORRECTING LIMITING FACTORS AND INCREASING THE EFFICIENCY OF DIAGNOSIS IN VETERINARY DIAGNOSTIC LABORATORIES. 2024. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

Disease control plays an important role in increasing productivity in cattle raising properties. For this control to be efficient, accurate diagnosis of diseases is necessary. The use of an integrated diagnostic system to meet this requirement is sufficient, within which the Veterinary Diagnostic Laboratories (VLDs) stand out and are responsible for the diagnosis of various diseases. The identification of the causes of inconclusive diagnoses by the LDVs' team is an important analytical measure that allows the recognition of pre-analytical errors and after the histopathological examination, so that it is possible to develop measures that minimize such errors or mistakes made mainly during the necropsy, because the diagnosis of several diseases is only possible when it is performed in a complete way. The objective of this study was to identify critical points in the routine of veterinary diagnostic laboratories and formulate methods for their correction. The study was divided into three stages: a) retrospective and prospective studies of the causes of inconclusive diagnosis at the Laboratory of Pathological Anatomy (LAP) of the Federal University of Mato Grosso do Sul, during June 2020 to December 2023 and January to May 2020, respectively; b) literature review to stratify the causes of inconclusive diagnosis in LDVs located in Brazil; and c) preparation of the book called "Diagnostic conduct of bovine diseases – Practical Guide", published by Life Editorial Service in 2022. From January 2020 to December 2023, reports from 1368 bovine tissue samples were filed. Of these, 543 (39,7%) resulted in inconclusive diagnoses, among which 91,1% and 8,9% of inconclusive diagnoses occurred when field veterinarians and veterinarians from the LAP team performed the necropsy, respectively, and that 44,5% of all samples sent by external veterinarians were inconclusive, while 18,7% of the animals necropsied by the Institution's team did not have a definitive diagnosis. Incompletely sent samples was the main reason that resulted in inconclusive diagnoses. In the literature review, the number of inconclusive diagnoses ranged from 2,9% to 58,23% and was higher when field veterinarians performed the necropsy; the main reason for inconclusive diagnoses was similar to that found in the present study. The main failures that lead to errors in diagnosis and the impossibility of performing the diagnosis are pre-analytical, especially the lack of knowledge of the professionals in relation to the collection and storage of tissue samples during necropsy, and the recognition of macroscopic lesions. The elaboration of practical materials for diagnosis and that aim to help veterinarians who work directly in the field to improve in field diagnosis practices, such as the Practical Guide developed in this study, is one of the ways that can reduce the damage caused by cattle death.

Keywords: control, cattle diseases, inconclusive, pathology

CAPÍTULO 1

1.1. Introdução

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino comercial do mundo, com 224,6 milhões de animais, de acordo com pesquisas realizadas em 2021 (IBGE, 2022a), das quais 33,6% (75,4 milhões) estão localizadas na região Centro Oeste (IBGE, 2022b), que foi responsável por exportar mais de 10 bilhões de dólares em carne bovina no ano de 2023 (ABIEC, 2024). Somente no estado de Mato Grosso do Sul, o abate total de bovinos em 2023 contabilizou 3.020.070 animais (MAPA, 2024), posicionando esse estado como um dos maiores produtores de carne no país, assim como o estado de Mato Grosso, indicando que a região Centro Oeste possui alta relevância na contribuição para a cadeia produtiva nacional e internacional da carne (IBGE, 2020; ABIEC, 2021).

O aumento da produtividade está diretamente relacionado ao controle sanitário nas propriedades, uma vez que o status sanitário dos animais contribui no ganho de peso e na diminuição de prejuízos econômicos relacionados a mortes de bovinos em rebanhos comerciais (SCHULZ et al., 2018). Nesse contexto, o controle das doenças desempenha um papel relevante, pois as perdas produtivas ou a morte de animais por causas evitáveis representam danos sem qualquer benefício, inclusive ambientais (VESCHI et al., 2010). Para que este controle seja eficiente, é necessário que o diagnóstico de doenças seja preciso, e isto só é possível a partir da utilização de um sistema integrado de diagnóstico, dentro do qual se destacam os laboratórios de diagnóstico veterinário (LDVs), responsáveis por contribuírem no sucesso da agropecuária permitindo a movimentação de animais, realizando o diagnóstico, a prevenção e o tratamento de doenças, e monitorando continuamente o status sanitário desses (LEMOS, 1996; SCHULZ et al., 2018).

Outro papel importante que os LDVs desempenham é na elaboração de estudos retrospectivos de doenças diagnosticadas por eles, os quais permitem análise minuciosa dos dados, a fim de:

- a) reconhecer o cenário das enfermidades mais importantes no estado e no país em cada espécie animal;
- b) identificar novos padrões epidemiológicos e/ou clínicos em doenças já conhecidas;

- c) diagnosticar doenças nunca relatadas na região; e
- d) apontar falhas nas metodologias diagnósticas.

Todos esses itens auxiliam na elaboração e na melhoria de técnicas que contribuam no aumento dos níveis de diagnóstico, buscando reduzir os números relacionados aos prejuízos por mortes causadas pelas enfermidades passíveis de controle, profilaxia e tratamento (WATSON et al., 2008; COSTA et al., 2009; LUCENA et al., 2010).

A identificação e as causas de diagnósticos inconclusivos, ou seja, diagnósticos em que não foi possível a detecção da causa da morte dos animais, constitui uma importante medida analítica que permite reconhecer erros nos procedimentos realizados antes (erros pré-analíticos, ou seja, durante a necropsia e encaminhamento das amostras de tecidos ao LDV) e após o exame histopatológico.

Minimizar erros ou equívocos cometidos durante as etapas anteriormente mencionadas, principalmente durante o exame de necropsia, contribui no aumento do diagnóstico de doenças, pois sabe-se que só é possível diagnosticá-las, em sua maioria, quando a necropsia é realizada de forma completa, e isto inclui a remessa adequada das amostras de tecidos dos animais necropsiados (ORLANDO et al. 2013; WRONSKI et al. 2021).

1.2. Objetivos

Objetivos gerais: identificar pontos críticos na rotina dos laboratórios de diagnóstico veterinário e formular métodos para sua correção.

Objetivos específicos: 1. Estabelecer métodos de correção para os pontos críticos identificados na rotina de diagnóstico dos laboratórios;

2. Elevar o nível de diagnóstico conclusivo a partir das amostras de bovinos remetidas por médicos veterinários de campo a partir da padronização de condutas para a realização do diagnóstico;

3. Elaborar artigos científicos sobre doenças que apresentem padrões clínico-patológicos e epidemiológicos distintos dos conhecidos atualmente, para publicação em periódicos especializados.

4. Realizar treinamentos e utilizar ferramentas de propagação de

informações, como o WhatsApp® e boletins anuais, para elevar o nível de diagnósticos conclusivos a partir de animais necropsiados por médicos veterinários que atuam no campo.

1.3. Metodologia

Para atender todos os objetivos propostos, o trabalho foi dividido em quatro etapas:

1. *Estudos retrospectivo e prospectivo das causas de diagnóstico inconclusivo no Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul*

O estudo retrospectivo baseou-se na revisão dos protocolos de necropsia e exames histopatológicos de bovinos registrados durante janeiro a maio de 2020, no Laboratório de Anatomia Patológica (LAP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), localizada na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), e o estudo prospectivo aconteceu entre junho de 2020 e dezembro de 2023, e envolveu as amostras de bovinos que foram remetidas ao LAP e bovinos necropsiados por sua equipe. De ambos os estudos, analisou-se os diagnósticos inconclusivos, dos quais foram destacadas as seguintes informações: a) procedência da amostra, ou seja, se a necropsia foi realizada por médicos veterinários externos ao LAP-FAMEZ (no presente estudo, os protocolos desta categoria foram identificados como “**amostras recebidas**”) ou por médicos veterinários patologistas que atuam nele (identificados como “**necropsias realizadas pela equipe do LAP**”); e b) motivo(s) responsável(s) pelo diagnóstico inconclusivo (coleta e armazenamento inadequados de órgãos, envio de amostras autolisadas ou congeladas, e encaminhamento ausente ou incompleto de histórico referente ao caso atendido).

2. *Revisão de literatura para estratificação das causas de diagnóstico inconclusivo nos laboratórios de diagnóstico veterinário*

Foram revisados artigos científicos de estudos retrospectivos referentes às causas de mortes de bovinos diagnosticadas por meio de exame anatomopatológico e publicados em periódicos nacionais entre os anos 2000 e 2023. A busca por esses artigos incluiu pesquisas nas bases de dados Scielo,

PubMed e Google Scholar, por meio das seguintes palavras-chave: “estudo retrospectivo”, “veterinária”, “bovinos”, “doenças”, “cattle”, “retrospective” e “diseases”. Artigos de mesma finalidade que não foram encontrados durante esta busca, mas que foram referenciados por autores de artigos acessados, também tiveram sua pesquisa incluída nesta revisão.

O material de estudo desta revisão foram os diagnósticos dados como “inconclusivo”. De todos os artigos, levou-se em consideração o número de diagnósticos inconclusivos, a quantidade de amostras inconclusivas associadas às necropsias realizadas por médicos veterinários de campo e médicos veterinários da equipe de pesquisa dos autores do estudo, além de suas causas, quando mencionadas.

3. Guia prático de diagnóstico a campo

Para a redução dos diagnósticos inconclusivos decorrentes de amostras de tecidos bovinos encaminhadas por médicos veterinários de campo, o “Guia Prático de Diagnóstico de Doenças de Bovinos”, iniciado por Guizelini (2020) foi continuado e modificado. A partir deste, além das condições já redigidas (raiva, botulismo, carbúnculo sintomático e intoxicação por abamectina), foram incluídas mais 33, nesta ordem: meningoencefalite por Herpesvírus bovino, polioencefalomalacia, babesiose, leucose enzoótica bovina, intoxicações por *Senna obtusifolia*, *Stryphnodendron fissuratum*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Vernonia rubricaulis*, *Amorimia pubiflora*, *Tetrapteryx multiglandulosa*, *Simarouba versicolor*, ureia, oxalatos e polpa cítrica, hipotermia, tétano, hérnia e infecções umbilicais, salmonelose septicêmica, diarreia em bezerros, hemoncose, acidose ruminal, infecções respiratórias, urolitíase, cetose, deficiência de cobalto, febre catarral maligna, febre aftosa, dermatofilose, otite parasitária, ruptura de músculo gastrocnêmio, obstrução gastrointestinal por *Stylosanthes* sp., abortos e diarreia viral bovina. Todo o conteúdo adicionado consistiu da descrição de situações reais atendidas pela equipe do LAP-FAMEZ, incluindo a conduta utilizada para a realização do diagnóstico conclusivo em passos sequenciais. Além disto, informações a respeito dos diagnósticos diferenciais, os pontos necessários para excluir tais diagnósticos, quais órgãos e qual sua forma de armazenamento para que sejam encaminhados aos laboratórios de diagnóstico e os exames

complementares que devem ser solicitados para a exclusão e/ou confirmação das doenças foram incluídas, assim como ilustrações dos sinais clínicos e achados de necropsia. Este material foi disponibilizado em formato de livro físico publicado pela Editora Life, ISBN 978-65-5887-000-0, intitulado “Conduta diagnóstica em doenças de bovinos de corte”. A divulgação foi voltada aos médicos veterinários da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal (IAGRO), médicos veterinários autônomos e aos alunos de graduação em medicina veterinária, por meio de treinamentos em diagnóstico de doenças de bovinos a campo.

4. Publicação de artigos científicos

A partir da rotina de diagnóstico do LAP-FAMEZ, doenças que apresentassem padrões clínico-patológicos e epidemiológicos distintos dos conhecidos atualmente ou que ainda não haviam sido diagnosticadas no Estado de Mato Grosso do Sul seriam estudadas separadamente para a elaboração e publicação de artigos científicos em periódicos especializados. O intuito dessas publicações é de contribuir no número de informações acerca de doenças importantes na bovinocultura de corte, uma vez que o conhecimento dessas por parte dos médicos veterinários que atuam diretamente no campo constitui uma das possíveis medidas de redução no número de diagnósticos inconclusivos. Os resultados desta etapa estão descritos nos capítulos 2 e 3.

5. Ferramentas de propagação de informações, como o WhatsApp® e boletins anuais

A partir dos resultados obtidos nos itens de 1 a 3, foi criado um grupo no aplicativo WhatsApp® exclusivamente para médicos-veterinários que atuam em empresas privadas e no serviço público. A criação do grupo teve como objetivo aumentar a transmissão de informações sobre as principais doenças de bovinos que acontecem em Mato Grosso do Sul, a partir de informativos e notas técnicas, que são elaboradas mensalmente pela equipe do LAP-FAMEZ e por médicos veterinários convidados.

Para atender a esse mesmo objetivo, boletins anuais sobre as doenças diagnosticadas pela equipe do LAP-FAMEZ em animais de produção foram elaborados em 2022 e 2023. Nele, além de um estudo retrospectivo sobre os diagnósticos mencionados, foram inseridos casos clínicos e artigos referentes aos

assuntos de maior relevância em Mato Grosso do Sul, no ano em que o boletim foi redigido.

1.4. Resultados

1. Estudo retrospectivo e prospectivo das causas de diagnóstico inconclusivo no Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Durante janeiro de 2020 a dezembro de 2023, foram protocolados laudos oriundos de 1368 amostras de tecidos de bovinos. Desses, 543 (39,7%) resultaram em diagnósticos inconclusivos, representados por 495 amostras recebidas e 47 animais necropsiados pela equipe do LAP. Os resultados demonstraram que 91,1% e 8,9% dos diagnósticos inconclusivos ocorreram quando médicos veterinários externos ao LAP e médicos veterinários da equipe do LAP realizaram a necropsia, respectivamente, e que 44,5% de todas as amostras encaminhadas por veterinários externos ao LAP são inconclusivas, enquanto 18,7% dos animais necropsiados pela equipe da Instituição não possuem diagnóstico definitivo. As causas dos diagnósticos inconclusivos e sua frequência estão listadas nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Causas dos diagnósticos inconclusivos oriundas de amostras de tecidos bovinas encaminhadas por médicos veterinários externos ao LAP-FAMEZ, durante janeiro de 2020 a dezembro de 2023

Causa	Frequência da causa no total de diagnósticos inconclusivos
Amostras encaminhadas de forma incompleta ^a	362/543 (66,7%)
Autólise avançada ^b	82/543 (15,1%)
Ausência de alterações histológicas significativas	66/543 (12,1%)
Tecidos congelados	33/543 (6,1%)

^a Entende-se por amostras incompletas: não encaminhamento de todos os órgãos ou de porções essenciais para a realização do diagnóstico e ausência de descrição macroscópica e/ou histórico clínico-epidemiológico; ^b Devido ao mal acondicionamento em recipientes com pouco formol ou à necropsia de animais em avançado estágio de autólise.

Os motivos que se destacaram em frequência na categoria “amostras encaminhadas de forma incompleta” puderam ser divididos em três subcategorias:

- Ausência de tecidos essenciais para a confirmação ou exclusão das suspeitas diagnósticas do médico-veterinário requisitante. Esta foi a

subcategoria mais frequente. Alguns exemplos incluíram o não encaminhamento de encéfalo, pulmão, rúmen e músculo esquelético quando a suspeita era de, por parte do médico-veterinário, doença neurológica, pneumonia, acidose ruminal e carbúnculo sintomático, respectivamente. A remessa incompleta de órgãos, como a ausência de medula espinhal, cerebelo e gânglio trigêmeo em suspeita de raiva, também foi frequente; este caso foi bem exemplificado em uma situação, na qual a porção de encéfalo bovino encaminhado às provas de imunofluorescência direta e inoculação intracerebral em camundongo foi positiva, confirmando o diagnóstico de raiva, enquanto porções distintas de encéfalo do mesmo animal não apresentou alterações histológicas compatíveis com a doença;

- b) Histórico clínico e/ou epidemiológico incompleto ou ausente, dando ênfase nos casos em que a suspeita se tratava de intoxicação por plantas e botulismo, e equívocos na interpretação de sinais clínicos, como confusão entre os termos “paralisia flácida”, “paralisia espástica” e “morte súbita”;
- c) Equívocos na interpretação de alterações macroscópicas durante a necropsia. Em alguns casos, alterações pós-mortais eram descritas com frequência, enquanto outras consideradas importantes, como a linha de timpanismo que está presente no esôfago de bovinos com acidose ruminal, não. Nesta situação, o encaminhamento de imagens durante a necropsia à equipe do LAP permitiu que o diagnóstico fosse realizado. Em outras ocasiões, apenas alguns órgãos foram analisados.

Tabela 2. Causas dos diagnósticos inconclusivos oriundas de necropsias realizadas pela equipe do LAP-FAMEZ, durante janeiro de 2020 a dezembro de 2023

Causa	Frequência da causa no total de diagnósticos inconclusivos
Sem alterações	37/543 (6,81%)
Cadáver encaminhado em estágio avançado de autólise	7/543 (1,3%)
Sugestivo de diarreia viral bovina ^a	2/543 (0,4%)
Feto abortado encaminhado congelado; placenta ausente	1/543 (0,2%)

^a Exames complementares confirmatórios não foram realizados

Dentre os animais necropsiados pela equipe do LAP-FAMEZ e que tiveram

diagnóstico inconclusivo, 77% não apresentaram alterações macroscópicas e microscópicas significativas que pudessem ser atribuídas a um diagnóstico conclusivo. Em quatro situações, a epidemiologia e os sinais clínicos sugeriam a neuropatia periférica (SANTOS et al. 2023) como condição, mas os nervos periféricos não foram analisados.

Três casos apresentavam epidemiologia e sinais clínicos sugestivos de botulismo, mas as provas laboratoriais confirmatórias para esta doença (soroneutralização e inoculação intraperitoneal da toxina botulínica em camundongos) foram negativas, o que impossibilitou a conclusão do diagnóstico; em outras três, os animais tinham entre dois e três dias de vida, mas não havia informações referentes à mamada de colostro em nenhum deles.

Nos demais casos, os sinais clínicos mencionados no histórico eram incompatíveis com os achados anatomopatológicos, que estavam ausentes ou eram pouco significantes para a condição geral do bovino.

Em algumas dessas situações, as suspeitas principais após a realização da necropsia eram condições que não causam lesões macroscópicas e microscópicas – alguns exemplos incluem intoxicação por abamectina e organofosforados ou hipocalcemia (GUIZELINI et al. 2022) - e, portanto, necessitariam de investigação epidemiológica minuciosa para a resolução do caso, o que muitas vezes não era possível, visto que os cadáveres eram enviados ao LAP-FAMEZ e não havia deslocamento da equipe até a propriedade.

2. Revisão de literatura para estratificação das causas de diagnóstico inconclusivo nos laboratórios de diagnóstico veterinário

Foram encontrados, durante o período incluído na busca, 14 estudos retrospectivos e um estudo prospectivo que citam e contabilizam os diagnósticos inconclusivos das doenças de bovinos. Os estudos são redigidos por médicos veterinários que atuam predominantemente em LDVs localizados em vários estados do Brasil. A tabela 3 ilustra a quantidade de diagnósticos inconclusivos analisada por cada autor durante o período estudado. Alguns autores também incluíram em seus estudos o total de diagnósticos inconclusivos oriundos apenas de necropsias realizadas por médicos veterinários externos aos laboratórios de

diagnóstico e que encaminharam as amostras de tecidos a esses.

Tabela 3. Diagnósticos inconclusivos em artigos de estudos retrospectivos das doenças de bovinos diagnosticadas em laboratórios de diagnóstico veterinário do Brasil

Referência	Período estudado	Diagnósticos inconclusivos totais	Diagnósticos inconclusivos em amostras encaminhadas por médicos veterinários de campo	Diagnósticos inconclusivos em necropsias realizadas por equipe especializada em diagnóstico
Sanches et al. (2000)	35 anos	44,75%	NI ^a	NI
Lemos (2005)	3 anos	37%	NI	NI
Galiza et al. (2010)	8 anos	20,13%	NI	NI
Lucena et al. (2010)	45 anos	37,7%	88%	12%
Brasil et al. (2013)	11 anos	28,1%	NI	NI
Ribas et al. (2013)	4 anos	46,25%	NI	NI
Camargo et al. (2014)	2 anos	31%	NI	NI
Oliveira et al. (2016)	6 anos	60,18%	NI	NI
Mello et al. (2017)	14 anos	14,17%	72,9%	27,1%
Rondelli et al. (2017)	9 anos	50,71%	82,8%	17,19%
Queiroz et al. (2018) ^b	6 anos	5,9%	NI	NI
Terra et al. (2018)	7 anos	58,23%	NI	NI
Pupin et al. (2019)	24 anos	53,79%	89,94%	11,06%
Molossi et al. (2021)	10 anos	21,3%	66,5%	33,5%
Bromberger et al. (2023)	9 anos	2,9%	NI	NI

^a não informado; ^b estudo prospectivo

De acordo com os autores mencionados, os motivos dos diagnósticos inconclusivos referentes às amostras obtidas por médico-veterinário de campo foram: não encaminhamento ou encaminhamento insuficiente (ou inadequado) de partes anatômicas pertinentes ao diagnóstico, conforme o histórico clínico-epidemiológico e/ou anatomopatológico disponibilizado pelos médicos veterinários, amostras em avançado estágio de autólise; histórico epidemiológico, clínico e/ou anatomopatológico não encaminhado, incompleto ou equivocado; órgãos sem alterações macroscópicas e microscópicas; e amostras encaminhadas congeladas.

Em muitas situações observadas pelos autores e a partir do presente estudo, sinais clínicos comuns a várias doenças são confundíveis e, em se tratando de manifestação clínica neurológica, a raiva é o principal diagnóstico diferencial, o que induz o médico-veterinário a realizar coletas direcionadas, sem a análise macroscópica dos demais sistemas orgânicos. Isto resulta na retirada completa ou parcial apenas do encéfalo, para encaminhamento às provas oficiais de diagnóstico (SANCHES et al. 2000; OLIVEIRA et al. 2016). Entretanto, quando a raiva não é a causa da morte dos animais na propriedade, esta prática direcionada leva a numerosos equívocos, pois os demais órgãos não são analisados e as chances de conclusão do diagnóstico reduzem drasticamente, caso nenhum outro bovino adoça.

O contrário também é verdadeiro: apesar de a principal doença suspeitada ser a raiva, muitos profissionais encaminham porções incompletas de encéfalo e medula espinhal para exame histopatológico e provas oficiais de diagnóstico, aumentando as chances de resultados inconclusivos. Sabe-se que as taxas de diagnóstico conclusivo reduzem significativamente quando fragmentos de óbex, cerebelo, tálamo, hipocampo, telencéfalo, medula espinhal (todos os segmentos) e/ou gânglio trigêmeo (GRH) não são remetidas a esses exames (RIBAS et al. 2013; BASSUINO et al. 2016).

Além da raiva, o não envio de porções do telencéfalo ao exame histopatológico prejudica o diagnóstico de outras doenças, como foi demonstrado em estudos retrospectivos de encefalite por herpesvírus bovino.

Nos mencionados acima, a ausência do telencéfalo impossibilitou a padronização das lesões analisadas em todos os animais presentes nos estudos, pois é o local onde há maior concentração de DNA viral em comparação às demais regiões do encéfalo (COLODEL et al. 2002; CAGNINI et al. 2017).

Inconsistências durante o procedimento de coleta e armazenamento das amostras durante a necropsia foram apontadas com frequência como uma das causas de diagnóstico inconclusivo. Rondelli et al. (2017) observaram que a lesões incidentais e às alterações pós-mortais foi dada grande importância diagnóstica e, conseqüentemente, negligenciou-se a coleta sistematizada de diversos órgãos e tecidos.

Além da coleta insuficiente, o armazenamento em recipientes considerados inadequados, como frascos pequenos em relação à quantidade de órgãos armazenados neles, o acondicionamento errôneo à temperatura ambiente associado à entrega das amostras ao LDV após diversas horas da morte do animal, o congelamento e a imersão de tecidos em soluções de formol com concentrações abaixo de 10% ou em pouca quantidade de formol são erros pré-analíticos que não impedem a autólise tecidual e, posteriormente, contribuem para o surgimento de artefatos no exame histopatológico, inviabilizando o diagnóstico (OLIVEIRA et al. 2016; RONDELLI et al 2017).

A ausência ou o preenchimento incompleto de históricos clínico, epidemiológico e anatomopatológico são prejudiciais a todo processo diagnóstico, especialmente, em doenças que não causam lesões macroscópicas e microscópicas, como botulismo, tétano, intoxicação por ureia, entre outras. Este mesmo raciocínio é válido às informações referentes à faixa etária e raça dos animais afetados, tipo de exploração da propriedade etc., uma vez que diversas condições podem ser incluídas ou excluídas na lista de suspeitas, a depender dessas e de outras características (RIBAS et al. 2013).

A quantidade de diagnósticos inconclusivos presentes nesta revisão variou entre 2,9% e 60,18%, com média de 36,15% entre todos os estudos retrospectivos. Quando este número foi analisado pelos autores que o estratificaram (LUCENA et al. 2010; MELLO et al. 2017; RONDELLI et al. 2017; PUPIN et al. 2019; MOLOSSI et al. 2021), a maior porcentagem de diagnósticos inconclusivos resultou de amostras de tecido oriundas de necropsias realizadas por médicos-veterinários externos ao LDV (34% a 89,94%, com média de 73,52%).

Semelhantemente ao observado nos estudos retrospectivos analisados, no presente estudo, 44,5% das necropsias realizadas por médicos-veterinários externos ao LAP foram inconclusivas. Dependendo do estado onde a propriedade está localizada, a distância entre ela e o LDV associada à coleta e ao acondicionamento inadequados de amostras de tecido são alguns dos fatores que contribuem para que elas sejam entregues em estágio avançado de autólise (RONDELLI et al. 2017; PUPIN et al. 2019).

O número reduzido de diagnósticos inconclusivos em necropsias realizadas

por médicos-veterinários que atuam nos LDVs pode ser explicado pela conduta padronizada e sistematizada em todas as necropsias, incluindo a coleta e o acondicionamento adequado das amostras de tecido e seu encaminhamento, quando necessário, a exames complementares diversos, bem como a obtenção completa do histórico clínico-epidemiológico dos casos atendidos. Isto foi demonstrado no estudo prospectivo realizado por Queiroz et al. (2018), no qual a participação de equipe multidisciplinar e a investigação clínico-patológica realizada pela equipe do LDV diretamente nas propriedades afetadas foram os dois principais fatores atribuídos pelos autores que resultaram no menor número de diagnósticos inconclusivos.

Com base em todos os fatores predominantes responsáveis, Lemos (2005) enfatiza que a quantidade de diagnósticos inconclusivos pode ser reduzida consideravelmente quando são realizadas a coleta completa de dados epidemiológicos e clínicos, a interpretação correta das alterações encontradas durante a necropsia e o envio de amostras de tecido adequadas para exames laboratoriais. Uma das maneiras em que isto pode ser obtido é a partir do treinamento de médicos veterinários que atuam diretamente no campo utilizando ferramentas didáticas e práticas que abordem todos os aspectos anteriormente mencionados. A proposta sugerida pelo presente estudo está descrita no capítulo 4.

3. Guia prático de diagnóstico a campo

O material intitulado “Conduta diagnóstica em doenças de bovinos de corte” está descrito no capítulo 4.

4. Publicação de artigos científicos

Os resultados desta etapa estão descritos nos capítulos 2 e 3.

1.5. Bibliografia

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Exportômetro da carne bovina brasileira. 2023. Disponível em <http://abiec.com.br/>. Acesso em 17 de Janeiro de 2024.

BASSUINO, D.M.; KONRADT, G.; CRUZ, R.A.S.; SILVA, G.S.; GOMES, D.C.;

PAVARINI, S.P.; DRIEMEIER, D. Characterization of spinal cord lesions in cattle and horses with rabies: the importance of correct sampling. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.28, p.455-460, 2016.

BRASIL, N.D.A.; HINNAH, F.L.; FISS, L.; SALLIS, E.S.V.; GRECCO, F.B.; LADEIRA, S.R.L.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A.L. Doenças respiratórias em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 33 surtos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.33, p.745-751, 2013.

BROMBERGER, C.R.; OLIVEIRA, J.P.M.; COSTA, A.M.D.; AMORIM, R.M.; BORGES, A.S.; OLIVEIRA-FILHO, J.P. Main diseases of cattle in the midwestern region of São Paulo state. **Pesq. Vet. Bras.**, v.43, p.1-7, 2023.

CAGNINI, D.Q.; ANDRADE, D.G.A.; CUNHA, P.H.J.; OLIVEIRA-FILHO, J.P.; AMORIM, R.L.; ALFIERI, A.A.; BORGES, A.S. Retrospective study of Bovine herpesvirus 5 meningoencephalitis in cattle from São Paulo state, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.69, p.299-304, 2017.

CAMARGO, M.C.; WISSER, C.S.; WICPOLT, N.S.; BORELLI, V.; EMMERICH, T.; TRAVERSO, S.D.; GAVA, A. Doenças de bovinos diagnosticadas no Laboratório de Patologia Animal CAV/UDESC, no período julho/2012 a julho/2014. In: Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, 2014, Cuiabá. **Anais VII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário**.

COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R.M.; SILVA, R.R.P.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA FILHO, J.A. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por Herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso, Brasil. **Cienc. Rural.**, v.32, p.293-298, 2002.

COSTA, V.M.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Doenças parasitárias em ruminantes no Semiárido brasileiro. **Pesq. Vet. Bras.**, v.29, p.563-568, 2009.

GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso central de bovinos no Semiárido nordestino. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.267-276, 2010.

GUIZELINI, C.C. **Sistema integrado de diagnóstico em doenças de bovinos: do sinal clínico ao diagnóstico conclusivo**. 2020. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PPM 2020: rebanho bovino cresce 1,5% e chega a 218,2 milhões de cabeças. 2021. Disponível em <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31722-ppm-2020-rebanho-bovino-cresce-1-5-e-chega-a-218-2-milhoes-de-cabecas>. Acesso em 19 de novembro de 2021.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PPM 2021: em 2021, o rebanho bovino bateu recorde e chegou a 224,6 milhões de cabeças. 2022a. Disponível em <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/34983-em-2021-o-rebanho-bovino-bateu-recorde-e-chegou-a-224-6-milhoes-de-cabecas>. Acesso em 16 de janeiro de 2023.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rebanho de bovinos (bois e vacas). 2022b. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/explica/producao->

agropecuaria/bovinos/br. Acesso em 16 de janeiro de 2023.

LEMOS, R.A.A. **Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro Oeste e Sudeste do Brasil**. 2005. 150p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.

LEMOS, R.A.A. Prefácio. In: I ENCONTRO DE LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO DO CONE SUL, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 1996. p. 9.

LUCENA, R.B.; PIEREZAN, F.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; FIGHERA, R.A.; BARROS, C.S.L. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.30, p.428-434, 2010.

MELLO, L.S.; BIANCHI, M.V.; BANDINELLI, M.B.; SONNE, L.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S.P. Causas de morte em vacas leiteiras no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v.37, p.916-920, 2017.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório de abates por ano e UF. 2023. Disponível em https://sistemas.agricultura.gov.br/pgs_sigsif/pages/view/sigsif/abateporano/indexAbatePorAno.xhtml. Acesso em 16 de janeiro de 2024.

MOLOSSI, F.A.; CECCO, B.S.; POHL, C.B.; BORGES, R.B.; SONNE, L.; PAVARINI, S.P.; DRIEMEIER, D. Causes of death in beef cattle in Southern Brazil. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.33, p.677-683, 2021.

OLIVEIRA, T.S.; BULL, V.; FURTINI, R.; DRUMMOND, S.R.M.; COSTA, E.A.; SANTOS, R.L.; PAIXÃO, T.A. Neurological diseases of cattle diagnosed by histopathology in Minas Gerais. **Braz. J. Vet. Pathol.**, v.9, p.62-69, 2016.

ORLANDO, D.R.; COSTA, R.C.; SOARES, B.A.; OLIVEIRA, N.S.C.; NASCIMENTO, L.C.; PECONICK, A.P.; RAYMUNDO, D.L.; VARASCHIN, M.S. Abortos por *Neospora caninum* em bovinos do sul de Minas Gerais. **Pesq. Vet. Bras.**, v.33, p.1332-1338, 2013.

PUPIN, R.C.; LEAL, P.V.; PAULA, J.P.L.; GUIZELINI, C.C.; MÖCK, T.B.M.; LEMOS, R.A.A.; GOMES, D.C. Cattle diseases in Mato Grosso do Sul, Brazil: a 24-year survey (1995-2018). **Pesq. Vet. Bras.**, v.39, p.686-695, 2019.

QUEIROZ, G.R.; OLIVEIRA, R.A.M.; FLAIBAN, K.K.M.C.; DI SANTIS, G.W.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.A.; LISBÔA, J.A.N. Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. **Pesq. Vet. Bras.**, v.38, p.1264-1277, 2018.

RIBAS, N.L.K.S.; CARVALHO, R.I.; SANTOS, A.C.; VALENÇOELA, R.A.; GOUVEIA, A.F.; CASTRO, M.B.; MORI, A.E.; LEMOS, R.A.A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.33, p.1183-1194, 2013.

RONDELLI, L.A.S.; SILVA, G.S.; BEZERRA, K.S.; RONDELLI, A.L.H.; LIMA, S.R.; FURLAN, F.H.; PESCADOR, C.A.; COLODEL, E.M. Doenças de bovinos em Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). **Pesq. Vet. Bras.**, v.37, p.432-440, 2017.

SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do Sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.20, p.113-118, 2000.

SANTOS, A.C.; LEMOS, R.A.A.; SILVA, T.X.; SOUZA, L.L.; PUPIN, R.C.; ARAÚJO, M.A.; SILVA, E.A.S.; GUIZELINI, C.C. **Neuropatia periférica em bovinos**. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2023. 8p. (Nota Técnica, 01/2023).

TERRA, J.P.; BLUME, G.R.; RABELO, R.E.; MEDEIROS, J.T.; ROCHA, C.G.N.; CHAGAS, I.N.; AGUIAR, M.S.; SANT'ANA, F.J.F. Neurological diseases of cattle in the state of Goiás, Brazil (2010-2017). **Pesq. Vet. Bras.**, v.38, p.1752-1760, 2018.

VESCHI, J.L.A.; BARROS, L.S.S.; RAMOS, E.M. Impacto ambiental da pecuária. In: Brito, L.T.L.; Melo, R.F.; Giongo, V. (eds.). **Impactos ambientais causados pela agricultura no Semiárido brasileiro**. Petrolina, Brasil: Embrapa Semiárido, p.171-187, 2010.

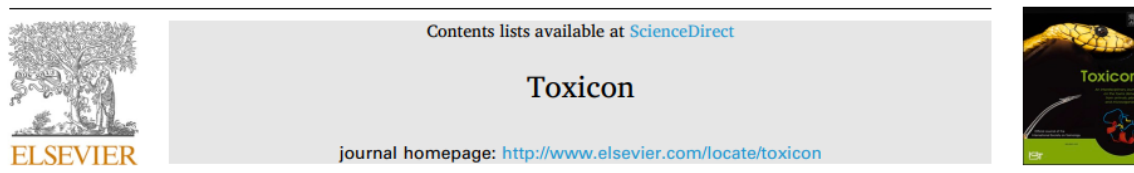
WATSON, E.N.; DAVID, G.P.; COOK, A.J.C. Review of diagnostic laboratory submissions of adult cattle "found dead" in England and Wales in 2004. **Vet. Rec.**, v.163, p.531-535, 2008.

WRONSKI, J.G.; CECCO, B.S.; LORENZETT, M.P.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S.P.; SONNE, L. Major defects in cattle in Southern Brazil: retrospective study of necropsies over 20 years (2000-2019). **Cienc. Rural.**, v.51, e20201106, 2021.

CAPÍTULO 2 – Clinical and anatomopathological aspects of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle and sheep

Artigo publicado no periódico *Toxicon* e normatizado segundo suas regras.

Toxicon 194 (2021) 11–16



Case report

Clinical and anatomopathological aspects of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle and sheep

Carolina C. Guizelini^a, Rayane C. Pupin^b, Juan A.C. Arredondo^c, Letícia L. Robalinho^c,
Raffaella N. Bernardo^c, Westerly J. Silva^d, Gumercindo L. Franco^e, Ricardo A.A. Lemos^{b,*}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Filinto Müller, 2443, Campo Grande, MS, 79074-460, Brazil

^b Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), FAMEZ, UFMS, Brazil

^c Programa de Iniciação Científica, LAP, FAMEZ, UFMS, Brazil

^d Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, FAMEZ, UFMS, Brazil

^e Laboratório de Nutrição Animal, FAMEZ, UFMS, Brazil

Abstract

Spontaneous and experimental *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle have been documented in the scientific literature. However, clinical and anatomopathological aspects of such poisoning are not fully understood. Thus, the objective of this study was to describe the clinical, biochemical, gross and microscopic findings of spontaneous *Stryphnodendron fissuratum* poisoning in cattle as well the experimental poisoning by this plant in sheep. Three outbreaks in cattle from different farms were analyzed. From these farms, *S. fissuratum* fruit specimens were collected and subsequently administered to six sheep. Some cattle showed clinical signs of poisoning such as blindness, apathy, dysphagia, excessive drooling, weight loss and photodermatitis. In the experimental poisoning condition, one sheep received only the peel of the fruit, one received the seed, and the others received the whole fruit. The whole fruit caused fatal poisoning in one sheep, which showed anorexia, excessive drooling, nystagmus, and paddling. Necropsies and clinical, histopathological, and pathological examination of poisoned cattle and

sheep showed that the plant may cause acute renal failure along with extrarenal uremic lesions.

Keywords: ulcerative lesions; uremia; plant poisoning; acute renal failure

1. Introduction

Stryphnodendron fissuratum is a tree that grows in areas bordering the Cerrado region (Occhioni, 1990) and causes spontaneous poisoning in cattle of the Midwestern region of Brazil (Ferreira et al., 2009; Lazaro et al., 2018). Poisoning of cattle typically occurs in August and September, around the time when the fruit, which is the toxic part, falls to the ground (Ferreira et al., 2009). Poisoned animals present clinical signs of digestive disorders and renal and hepatic insufficiency (Lazaro et al., 2018). Experimentally, the fruit is known to cause abortions and fetal malformations in guinea pigs (Macedo et al., 2015).

The epidemiology, anatomopathological aspects and the pathogenesis have been described in several reports of spontaneous (Ferreira et al., 2009; Furlan et al., 2012; Lazaro et al., 2018) and experimental poisonings by this plant (Rodrigues et al., 2005; Mendonça et al., 2010; Aguiar-Filho et al., 2013). Some of the active principles potentially responsible for poisoning have also been studied, as triterpene glycosides stryphnosides (Yokosuka et al., 2008), triterpenoid saponins and tannins (Aguiar-Filho et al., 2013), although some aspects of this mechanism are not well understood.

The objective of this study was to report the epidemiological, clinical, biochemical and pathological findings observed in outbreaks of *S. fissuratum* poisoning in cattle in Mato Grosso do Sul, Brazil. Additionally, we also described the findings of experimental poisoning in sheep.

2. Materials and Methods

2.1. Spontaneous poisoning

Epidemiological and clinical data were obtained from visits to three farms where the spontaneous outbreaks occurred. Morbidity, mortality, and lethality rates were calculated for all outbreaks according to the farm owner reports, considering the number of cattle at risk as the total number of cattle sharing the environment with

the sick animals (Thrusfield, 2004). Even though not confirmed by necropsy, the other deaths were attributed to this poisoning and included in the rates. During clinical examinations, blood was collected directly from the jugular vein of four sick cattle from two farms. These samples were stored in two Vacutainer® tubes (Becton, Dickinson and Company – BD, New Jersey, USA), with and without ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), for subsequent biochemical analysis of urea, creatinine, and the enzymes aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), and creatine kinase (CK) (Cobas C111®, Roche Diagnostics – Indianapolis, USA). During the visits, interviews with producers were conducted, and necropsies were performed on cattle found dead or sick and euthanized *in extremis*. Samples from the main organs of the thoracic and abdominal cavities, as well as the brain and spinal cord, were collected in buffered 10% formalin and routinely processed for histopathology.

2.2. Experimental poisoning

The experiment was approved by the CEUA/UFMS ethics committee under protocol no. 1078/2019.

S. fissuratum samples used for the experimental poisoning of sheep were collected at the farms where the spontaneous outbreaks occurred and administered fresh to sheep. The experiment was divided into two phases with different purposes. The experimental animals included six (one male and five female) sheep with, in average, one year old, that were housed in individual brickwork pens and fed with corn silage and commercial sheep feed (250g/sheep), commercial mineral salt (30g/sheep), fresh *Brachiaria* sp., and water *ad libitum*. Four sheep were used in the first phase to identify the toxic parts of the plant; these sheep were identified Sheep 1 to 4. The remaining two sheep were used in the second phase to evaluate the adaptation to plant consumption; these were identified Sheep 5 and 6. The experimental design is described in Table 1.

Table 1. Design of the two phases of *Stryphnodendron fissuratum* experimental poisoning in sheep

Sheep	Part of the fruit administered	Route of administration	Dose, days of administration	Total dose (g/kg BW ^a)
1 ^b	Whole fruit	Oral	2g/kg, 6 days	12
2	Whole fruit	Intraruminal	5g/kg, 2 days	10
3	Seeds	Intraruminal	5g/kg, 2 days ^c	10
4	Fruit peel	Intraruminal	5g/kg, 2 days ^c	10
5	Whole fruit	Intraruminal	1g/kg, 5 days + 2g/kg, 5 days + challenge with 10g/kg on the 11 th day	25
6	Whole fruit	Oral	1g/kg, 5 days + 2g/kg, 5 days + challenge with 5g/kg on the 11 th day	20

^aAnimal body weight; ^bPositive control; ^cDoses in grams corresponding to the whole fruit.

Sheep underwent daily physical examinations to evaluate heart and respiratory rates, and ruminal movement parameters. Additionally, blood was collected every day, before the fruits administration, directly from the jugular vein and stored in two types of Vacutainer® tubes (Becton, Dickinson and Company – BD, New Jersey, USA), one tube contained EDTA for blood count (blood count was performed only before the beginning of experiment), and the other was used for biochemical analysis of urea, creatinine, and the enzymes AST and GGT (Cobas C111®, Roche Diagnostics – Indianapolis, USA). Animals with ruminal cannula also had their rumen content characteristic and pH evaluated using universal pH stripes (Merck®; Frankfurter Str. Darmstadt, Germany). When clinical signs of acute ruminal acidosis such as anorexia, diarrhea, dehydration, sialorrhea, prolonged decubitus, and foamy and/or yellowish ruminal content (Pupin et al., 2017) were observed and/or the ruminal pH reached a level of 5.5 or less, the sheep would be intraruminally or orally treated with 1g/kg of body weight (BW) of sodium bicarbonate (Oliveira et al., 2009). Sheep that showed a debilitated condition, during or at the end of the experiment, were humanely euthanized and subsequently necropsied. Euthanasia was performed by intravenous lethal dose of tyopenthal and potassium chloride

(KCl). Samples from the main organs of abdominal and thoracic cavity, as well as the brain, were collected, fixed in and routinely processed for histopathology. Sheep that survived had vital parameters monitored until the 46th day after experiment.

3. Results

3.1. Spontaneous poisoning

Three outbreaks occurred in three different farms between July and October 2019, of which two were in the same municipality (Rio Negro, latitude 19°26'58" S, longitude 54°59'13" W), and the third was in the city of Rio Verde de Mato Grosso (latitude 18°55'04" S, longitude 54°50'38" W). All three farms were located in the northern central region of Mato Grosso do Sul. The epidemiological data of the three outbreaks are described in Table 2.

Table 2. Epidemiological data of *Stryphnodendron fissuratum* poisoning outbreaks in the northern central region of Mato Grosso do Sul

Outbreak	Occurrence month	Cattle at risk	Sick cattle	Dead cattle	Morbidity (%)	Mortality (%)	Lethality (%)	Necropsied cattle
01	July	1.620	43	21	37.7	1.3	48.8	A/B
02	July	1.000	22	7	2.2	0.7	32	C/D/G ^a
03	September and October	45	30	8	6.6	18	26.6	E/F

^aOnly underwent to physical examination and blood collection and was not necropsied.

All farms had Nelore cattle (*Bos taurus indicus*) that were kept in paddocks containing *S. fissuratum* trees, with fruits on the branches and the ground, and apparently inadequate availability of forage mass. Cattle from different paddocks became sick, except in the outbreak on the third farm, in which only one group of animals was moved to a single paddock containing *S. fissuratum* trees. Ages of the affected animals and their clinical signs are described in Table 3.

Table 3. Clinical data of affected cattle in the three *Stryphnodendron fissuratum* poisoning outbreaks

Outbreak	Age (months)	Clinical signs	Progression
1	13–15	Weight loss, rough hair coats, photosensitization ^a , decubitus	Death within 4 days ^b
2	12	Weight loss, apathy, photosensitization ^a , decubitus	Death within 3 days ^b
3	26	Found dead; apathy, sialorrhea, anorexia, weight loss, decubitus, difficulty apprehending feed, blindness	Death within 2 days ^b

^aOnly in cattle that recovered from the acute phase; ^bafter the onset of clinical signs

Serum activities of liver and kidney enzymes are described in Table 4. Increase of AST, GGT, CK and creatinine were detected in many animals. Changes in the values of creatinine were individualized and did not follow a standard response.

Table 4. Serum activities of liver and kidney enzymes of cattle spontaneously poisoned by *Stryphnodendron fissuratum*

Enzyme	Animal ^a				Reference values ^b
	C	D	E	G ^c	
AST (IU/L)	12.8	196.4	195.4	141.7	20-34
GGT (IU/L)	533.7	15.3	84.9	18.3	6.1-17.4
Creatinine (mg/dL)	19.4	1.2	9	16.1	1.2-2.0
Urea (UI/L)	NP ^d	NP	286.2	NP	42.8-64.2
CK (IU/L)	4180.8	4309	1369	1315.1	4.8-12.1

^aCattle A and B were found dead; ^bKaneko et al., 2008; ^cnot necropsied; ^dnot performed.

Six animals were submitted for postmortem examination in total, two in each farm. Histopathological and necropsy findings were similar in the six cattle. Macroscopic findings included multiple coalescent or linear ulcers covered by yellowish or white material on the mucous membranes of the oral cavity, tongue, esophagus (predominantly linear in this organ), rumen, omasum, and/or abomasum in all six animals. Enlarged brownish or yellowish liver, with an evident lobular pattern (5/6) and pale kidneys with multiple small white spots on the capsular surface (4/6) were also observed. Additionally, seeds morphologically compatible with *S. fissuratum*

were found in the food content of the pre-stomachs and abomasum of four out of six animals, and the abomasal mucosa was dark red (3/6) (Figure 1). One animal presented clinical signs of photodermatitis characterized by extensive foci of alopecia, erosions, and ulcers. These foci were covered with white material in the thoracic and pelvic limbs, abdomen, and areas of the ventral thorax region with white hair.



Figure 1. Macroscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle. A. Multiple coalescent and slightly depressed ulcers in the lower lip and gums. B. Esophageal mucosa showing multiple large linear ulcers, covered by white to yellowish material and hemorrhagic foci. C. Abomasal folds and mucosa are interrupted by extensive ulceration, partially covered by yellowish-white fibrillar material (arrows). The mucosa shows multiple hemorrhagic foci. Seeds morphologically compatible with *S. fissuratum* collected from the digestive tract of cattle are visible in the upper right highlight. D. Diffusely pale kidney with multiple white spots, which are slightly elevated on the capsular surface.

Histologically, the esophageal lesions were characterized by multifocal to coalescent areas of mucosal epithelial cell necrosis, with replacement by cellular debris, degenerated neutrophils, and fibrin. In the submucosa, the lumen of multiple

vessels was obliterated by fibrin thrombi, and the endothelium was replaced by an amorphous eosinophilic mass (fibrinoid necrosis) (Figure 2). The kidneys exhibited multiple discrete foci of tubular epithelial cell degeneration and necrosis, and the lumen was filled by eosinophilic proteinaceous material occasionally interspersed with cellular and neutrophil debris (Figure 3). The liver exhibited random individual necrosis and cholestasis in three out of six animals, as well as loss of hepatocytes cords arrangement in one animal.

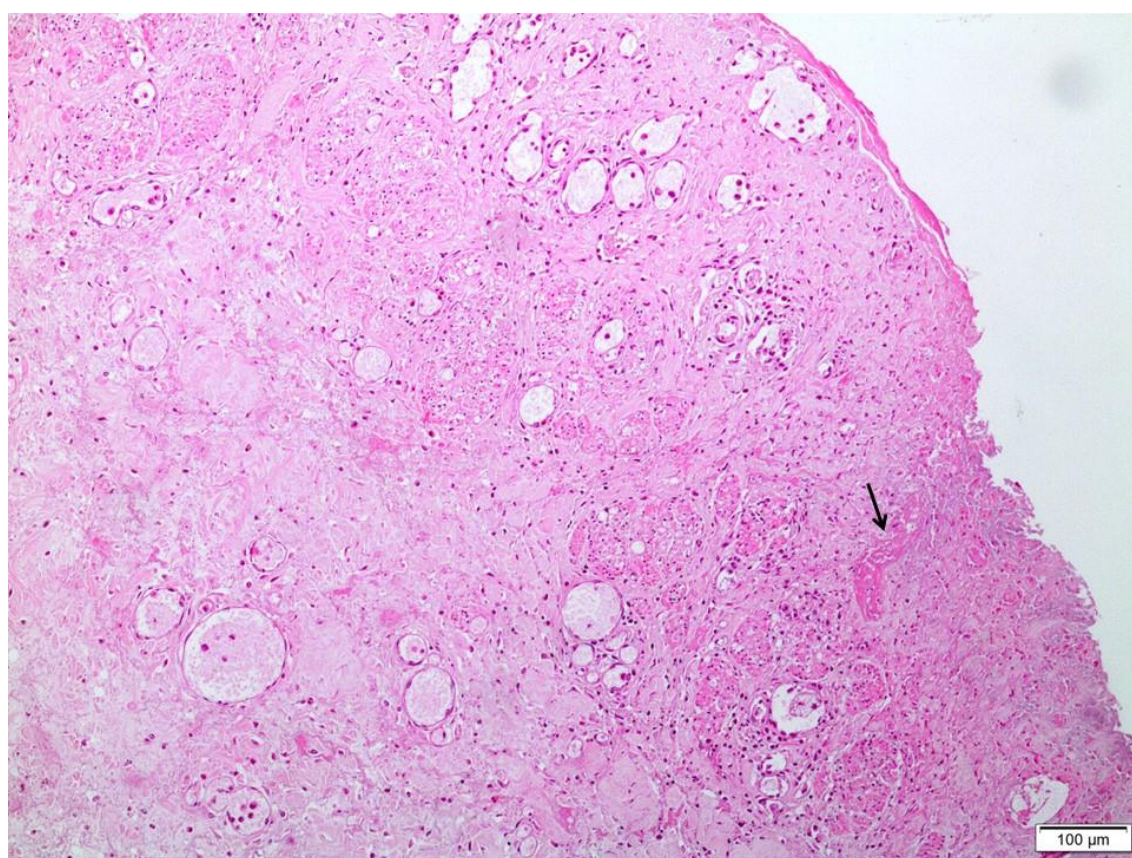


Figure 2. Microscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle. Esophagus. The mucosal epithelium is absent (ulceration) and the submucosa is substituted by an eosinophilic mass interspersed with neutrophilic and cell debris (necrosis). A blood vessel is necrotic and diffusely recovered by a fibrillar eosinophilic mass (arrow). HE.

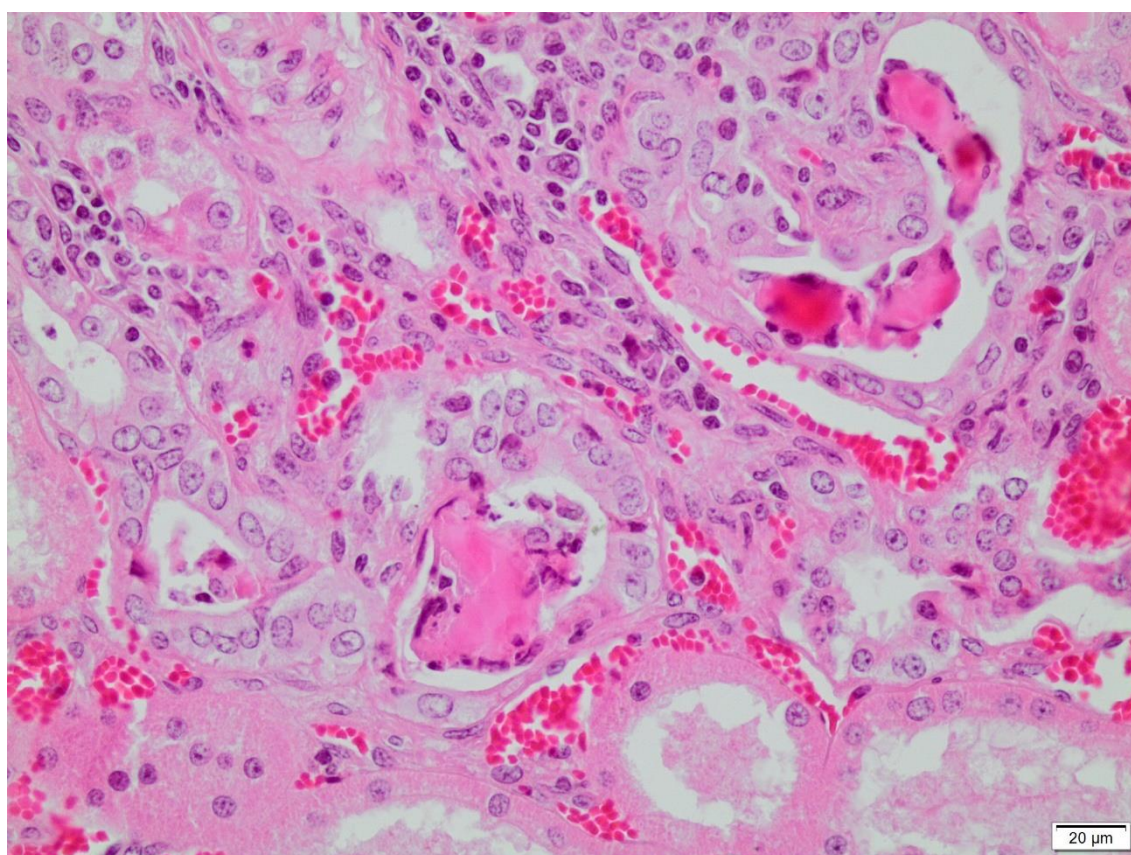


Figure 3. Microscopic findings of *Stryphnodendron fissuratum* spontaneous poisoning in cattle. Kidney. There are multiple and discrete foci of tubular epithelial cell disorganization, degeneration and necrosis. In the affected tubules, the lumen is filled by eosinophilic proteinaceous material interspersed with cellular and neutrophil debris. HE.

3.2. Experimental poisoning

In the first phase of the experiment, three out of four sheep showed clinical signs; two of them were euthanized. Sheep 1 presented mild hyporexia and reduction of ruminal movements three days after the beginning of daily plant administration. After six days, it developed severe apathy, anorexia, sialorrhea, prolonged sternal decubitus, nystagmus, dyspnea, paddling, and an inability to remain in the quadrupedal position. This sheep was euthanized *in extremis* on the tenth day of the experiment. Sheep 3, which was only fed seeds of the fruit, had mild and transient hyporexia on the fourth day and recovered on the sixth day. No abnormalities in vital and ruminal parameters were observed in this sheep, however, it showed no considerable weight gain after returning to the routine diet. Sheep 2 and 4, which received the whole fruit and the peel, respectively, showed a decrease

in ruminal pH to 5.0 on the second and fourth day after the plant ingestion, respectively. Both clinical signs of hyporexia and apathy were more severe in Sheep 4, which also exhibited loss of ruminal fluid through the mouth during the rumination process. Ruminal acidosis was reversed in both animals after treatment with sodium bicarbonate, and Sheep 2 was completely recovered after the sixth day of the experiment. Sheep 4 was euthanized *in extremis* on the 46th day after the first dose administration due to its inability to eat without support therapies.

In all sheep no changes were observed in the hemogram and leukogram. In laboratory tests conducted on the seventh day of the experiment, was observed changes only in Sheep 1, which showed higher urea (44.6mg/dL) and creatinine (4mg/dL) activities as compared to the reference values.

Macroscopically, Sheep 1 presented marked linear and round ulcers covered by yellowish material in the esophageal, abomasal, ruminal, reticular and omasal mucosa, red and enlarged corniculate cartilage, mucous membranes with extensive red areas, and orange liver, with evident lobular pattern. In Sheep 4, the ulcers in the esophageal, omasal and reticular mucosa were mild and there were abundant superficial ulcers on the soft palate of the oral cavity, some of them in scarring stage. Histological lesions were seen only in Sheep 1. In the liver, there was moderate hepatocyte cytoplasmic vacuolization and periportal lymphocytes and plasma cells infiltrates. Mild changes were present in ruminal and omasal mucosa: cytoplasmic vacuolization of the epithelial cells, and vesicles and blisters expanded the mucosal spinous and basal stratum. In the kidney, the tubular lumen was obliterated by moderate amounts of protein casts; the epithelial tubular cells were occasionally degenerated or necrotic.

In the second phase of the experiment, none of sheep (Sheep 5 and 6) showed any physical or clinical changes during the period that they received daily doses of 1g/kg of the fruit. No changes were observed in Sheep 6, even after higher daily doses (2g/kg BW) and a challenge dose of 5g/kg BW were administered. Sheep 5 showed decreased ruminal pH (pH 5.0) with foamy, yellowish, and acid ruminal content after the third dose of 2g/kg BW. The animal was treated with 1g/kg BW of sodium bicarbonate and was completely recovered. Subsequently, it received a dose of 2g/kg of the fruit for two days before the challenge dose of 10g/kg was administered.

A further decrease in ruminal pH (pH 5.0) and muscle tremors were observed on the day that the challenge dose was administered. The animal was treated with sodium bicarbonate but showed reduced appetite for the next three days. Transfaunation was performed every day in an attempt to return the animal to its original condition. Over the next six days, it exhibited anorexia, weight loss, muscle tremors and prolonged decubitus. Due to the poor prognosis, euthanasia was performed nine days after the challenge dose administration. In contrast, Sheep 6 did not exhibit clinical signs throughout the study period.

The biochemical parameters of the two animals remained within the normal range. No significant changes were found in Sheep 5 from the necropsy or histopathological analysis.

4. Discussion

The diagnosis of spontaneous *S. fissuratum* poisoning was made based on clinical and anatomopathological findings, the presence of the plant in the affected pastures, and the detection of its seeds in the digestive tract of the necropsied animals. Spontaneous cases occurred in cattle of different ages between July and October, a period when the fruits fall to the ground (Brito et al., 2001; Ferreira et al., 2009). Morbidity and lethality rates were higher than those seen in the last outbreak reported in the state (Lazaro et al., 2018), but similar or slightly higher than those observed in previous outbreaks in the state of Mato Grosso (Ferreira et al., 2009). It demonstrates that the presence of this plant can cause great economic losses. Although the macroscopic and microscopic analysis of the liver of the cattle revealed only mild changes, an increase in the AST and GGT enzymes was observed. The animals that recovered from the acute clinical phase developed photosensitization, similar to previous outbreaks (Lazaro et al., 2018). The hepatogenic origin of photosensitization is reinforced by the high serum level of enzymes associated with it (Lazaro et al., 2018), and the photodermatitis lesions. The raise level of AST associated with the absence of histologic lesion could be associated to formation of membrane blebs which disrupt or are released as vesicles into the blood where they eventually broken down, releasing their contents and preserving the cell viability (Hoffmann and Solter, 2008).

Although ulcers in the upper alimentary tract were already described in experimental poisoning by *S. fissuratum* (Aguiar-Filho et al., 2013) and *S. obovatum* (Brito et al., 2001), these findings had not yet been described in natural cases of *S. fissuratum* poisoning. The ulcers observed in the esophageal mucosa, tongue and oral cavity during the necropsy of the six animals explain their excessive sialorrhea and inability to eat. The marked increase in the creatinine activity is indicative of decrease in glomerular filtration rate and azotemia, which is associated to acute renal failure, despite the absence of significative renal lesions histologically (Braun and Lefebvre, 2008). This increase in serum creatinine may be related to pre-renal azotemia, which is mainly associated with dehydration (Cianciolo and Mohr, 2016), and it can be very severe, with creatinine levels reaching up to 6mg/dL (Stämpfli and Oliver-Espinosa, 2015). Although histological lesions were not seen in the glomeruli, the significant increase in serum creatinine activity observed in cattle from the outbreak suggests acute renal failure (Ostermann and Joannidis, 2016), since the activity of this biomarker do not change until a significant amount of renal function is lost (Kaneko et al., 2008). Increases of more than 0.3g/dL in the creatinine activity should be considered significative because physiologically, the concentration is constant due to the muscle mass (Radostits et al. 2006).

The lesions found in the abomasum and forestomachs were also described by other authors (Rodrigues et al., 2005) and could be attributed to cases of ruminal acidosis or the supposed irritating action of the plant on the digestive tract mucosa (Aguiar-Filho et al., 2013).

In the experimental poisoning section of our study, Sheep 1, which was used as a positive control, became seriously ill three days after the end of the experiment, although it had started to show mild signs of hiporexia on the third day of fruit administration. Nystagmus, paddling, and the inability to stay in the anatomical standing position were also observed in other experimental cases (Rodrigues et al., 2005), corroborating the present study. However, there was no brain lesion that could be explain the neurological signs.

In the first phase of the experiment, Sheep 3 showed no clinical signs but did not return to its initial body score. As the dose and the experimental protocol were similar for the four sheep, we may infer that the seed is the least toxic part of the *S.*

fissuratum fruit, and it cannot poison animals at the same dosage levels as the whole fruit and the peel. In the second phase of the experiment, Sheep 6 remained healthy despite being administered doses up to 5g/kg BW, and Sheep 5 only presented clinical signs when the dose was increased to 10g/kg BW. This suggests that the daily intake of non-toxic doses may induce some degree of adaptation in the animals.

Sheep 4, which received the fruit peel, showed more severe clinical signs than those of Sheep 2, although this animal also recovered. The marked feeding difficulty and the regurgitation of ruminal contents observed in Sheep 2, which received the whole fruit, were previously described in experimental *S. obovatum* (Brito et al., 2001) and *S. fissuratum* poisoning (Rodrigues et al., 2005).

Apart from control sheep (Sheep 1), none of the animals exhibited increased activity of renal or liver enzymes. Despite the increased urea and creatinine activities, the kidney lesions were mild and centered in the tubules. The lesions found during necropsy and histopathological examination of Sheep 1 and 4 were similar to the lesions observed in spontaneously poisoned cattle. Although there is not enough scientific evidence to relate the isolated components to the pathogenesis of the lesions, previous studies suggested that tannins cause liver and renal tubule necrosis (Reed, 1995), and triterpenoid saponins could be involved in the formation of these lesions (Yokosuka et al., 2008; Aguiar-Filho et al., 2013). *Cistus salviifolius*, a toxic plant found in Portugal, Italy, Greece, and other European and North African countries, causes chronic and acute renal failure, leading to cystitis, interstitial nephritis, and neurological clinical signs in cattle (Mignacca et al., 2019). *C. salviifolius* also has tannins, which could be one of the components responsible for cattle poisoning (Mignacca et al., 2019). Consistent with the outbreaks examined in this study, the renal injury observed in the current study was insufficient to cause changes in biochemical parameters and the histopathology of the kidney. However, we cannot exclude the possibility that the main clinical and pathological findings in the experimental and spontaneous cases reported here may be due to acute renal failure, even though only minor lesions were found.

Two sheep (Sheep 4 and 5) showed no abnormalities in their biochemical parameters or histopathology but exhibited significant weight loss. They did not

regain this weight, even after the routine diet was re-established at the end of the experiment. Similar patterns have been described in experimental poisoning of other animal species (Brito et al., 2001; Mendonça et al., 2010; Lazaro et al., 2018), though it is not clear why this occurs. One hypothesis is that tannins present in the fruit may decrease nutrient absorption in the rumen and induce morphological changes in protozoa and intraruminal enzymes, resulting in decreased feed intake and feeding efficiency when the animal is not adequately adapted to these phytochemicals (Reed, 1995; Naumann et al., 2017).

S. fissuratum causes higher increases in serum activity of creatinine and urea, and ulcerative lesions in the alimentary tract of cattle and sheep naturally and spontaneously poisoned, respectively. The experimental ingestion of the whole fruit in multiple non-toxic doses was not able to poison sheep.

Conflicts of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgments

This study was made with the support of Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brazil, and was partially funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brazil (CAPES) – Finance Code 001 and by Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul. One of the authors (Ricardo A.A. Lemos) had a fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil (309074/2018-5).

References

Aguiar-Filho, C.R., Albuquerque, R.F., Rocha, B.P., Colodel, E.M., Lemos, R.A.A., Riet-Correa, F., Evêncio-Neto, J., Mendonça, F.S., 2013. Avaliação da toxicidade das favas de *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em vacas gestantes. *Pesq. Vet. Bras.* 33, 607-612. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500010>.

- Braun, J.P, Lefebvre, H.P. Kidney function and damage. 2008. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. (Eds.), Clinical biochemistry of domestic animals, sixth ed. Academic Press, San Diego, pp.485 – 528.
- Brito, M.F., Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., Silva, H.K., Nogueira, M., 2001. Intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendron obovatum* (Leg. Mimosoideae) em bovinos. 1. Caracterização do quadro clínico. Pesq. Vet. Bras. 21, 9-17. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2001000100004>.
- Cianciolo, R.E., Mohr, F.C., 2016. Urinary System. In: Maxie M.G. (Ed.), Pathology of Domestic Animals. Third vol, sixth ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, pp.377-464.
- Ferreira, E.V., Boabaid, F.M., Arruda, L.P., Lemos, R.A.A., Souza, M.A., Nakazato, L., Colodel, E.M., 2009. Intoxicação por *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 29, 951-957. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009001100015>.
- Furlan, F.H., Colodel, E.M., Lemos, R.A.A., Castro, M.B., Mendonça, F.S., Riet-Correa, F., 2012. Poisonous plants affecting cattle in Central-Western Brazil. IJPPR. 2, 1-13.
- Hoffmann, W.E., Solter, P.F. 2008. Diagnostic enzymology of domestic animals. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. Clinical biochemistry of domestic animals, sixth ed. Academic Press, San Diego, pp.351-412.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, sixth ed. Academic Press, San Diego.
- Lazaro, D.N., Bacha, F.B., Pupin, R.C., Paula, J.P.L., Leal, P.V., Pott, A., Gomes, D.C., Lemos, R.A.A., 2018. Photosensitization in cattle caused by spontaneous and experimentally ingestion of *Stryphnodendron fissuratum*. Acta Sci. Vet. 46, 1-8. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81829>.
- Macedo, J.S., Rocha, B.P., Colodel, E.M., Freitas, S.H., Dória, R.G.S., Riet-Correa, F., Evêncio-Neto, J., Mendonça, F.S., 2015. Congenital malformations caused by *Stryphnodendron fissuratum* (Leg. Mimosoideae) in guinea pigs (*Cavia porcellus*). Toxicon. 106, 68-71. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.09.003>.
- Mendonça, F.S., Evêncio-Neto, J., Estevão, L.R.M., Melo, L.E.H., Freitas, S.H., Arruda, L.P., Boabaid, F.M., Colodel, E.M., 2010. Aspectos clínicos da intoxicação

- experimental por *Stryphnodendron fissuratum* (Leg. Mimosoideae) em caprinos. Pesq. Vet. Bras. 30, 203-210. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000300003>.
- Mignacca, S.A., Mucciarelli, M., Colombino, E., Biasibetti, E., Muscia, S., Amato, B., Lo Presti, V.M., Vazzana, I., Galbo, A., Capucchio, M.T., 2019. *Cistus salviifolius* toxicity in cattle. Vet. Path. 20, 1-7. <https://doi.org/10.1177/0300985819880346>.
- Naumann, H.D., Tedeschi, L.O., Zeller, W.E., Huntley, N.F., 2017. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. R. Bras. Zootec. 46, 929-949. <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017001200009>.
- Occhioni, E.M.L., 1990. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. Acta Bot. Bras. 4, 153-158. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-478>.
- Oliveira, D.M., Medeiros, J.M.A., Assis, A.C.O., Neves, P.B., Galiza, G.J.N., Simões, S.V.D., Dantas, A.F.M., Riet-Correa, F., 2009. Acidose láctica ruminal aguda em caprinos. Ciênc. Anim. Bras. 1(Suppl), 117-122.
- Ostermann, M., Joannidis, M., 2016. Acute kidney injury 2016: diagnosis and diagnostic workup. Critical Care. 20: 299. <http://doi.org/10.1186/s13054-016-1478-z>.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2006. Diseases of the urinary system. In: Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D. (Eds.), Veterinary Medicine – a textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. Saunders Elsevier, tenth ed., pp.543-551.
- Reed, J.D., 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. J. Anim. Sci. 73, 1516-1528. <http://doi.org/10.2527/1995.7351516x>.
- Rodrigues, A.S., Chaves, N.S.T., Damasceno, A.D., Trindade, B.R., Martins, G.H.L., Arantes, A.F., 2005. Aspectos clínicos da intoxicação experimental de bovinos pelos frutos de *Stryphnodendron fissuratum* MART. (“Rosquinha”). Ciênc. Anim. Bras. 6, 119-126.
- Stämpfli, H., Oliver-Espinosa, O. 2015. Clinical chemistry tests. Clinical chemistry tests. In: B.P. Smith (Ed.), Large Animal Internal Medicine, fifth ed., Elsevier Mosby, St. Louis, MO, pp. 350-373

Thrusfield, M.V., 2004. Describing disease occurrence. In: Thomas C.C. (Ed.), *Veterinary Epidemiology*, Roca, São Paulo, pp.46-74.

Yokosuka, A., Kawakami, S., Haraguchi, M., Mimaki, Y., 2008. Stryphnosides A-F, six new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Tetrahedron*. 64, 1474-1484. <http://doi.org/10.1016/j.tet.2007.11.041>.

CAPÍTULO 3 – Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle

Artigo publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira e normatizado segundo suas regras.

**PESQUISA
VETERINÁRIA
BRASILEIRA**
Brazilian Journal of
Veterinary Research
ISSN 0100-736X (Print)
ISSN 1678-5150 (Online)



Pesq. Vet. Bras. 43:e07373, 2023
DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7373

Original Article
Livestock Diseases



Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle¹

Carolina C. Guizelini¹ , Dyego G.L. Borges² , Fernando A. Borges³ ,
Welber D.Z. Lopes⁴ , Rayane C. Pupin⁵  and Ricardo A.A. Lemos^{5*} 

ABSTRACT. Guizelini C.C., Borges D.G.L., Borges F.A., Lopes W.D.Z., Pupin R.C. & Lemos R.A.A. 2023. [Natural infestation by ticks as cause of death in beef cattle]. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Muller 2443, Bairro Vila Ipiranga, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil. E-mail: ricardo.lemos@ufms.br

Although infestation by *Rhipicephalus microplus* is mentioned as the cause of death among cattle, there are only studies with artificial infestations in which intense parasitism led to the death of cattle due to severe anemia. This study is the first to describe the epidemiology, clinical-pathological condition and diagnostic conduct of infestation by *R. microplus* as the cause of death of European breed calves introduced in shady, enclosed pastures in regions with rainfall prior to the onset of the outbreak. The affected calves presented apathy, anorexia and anemia and were severely infested by *R. microplus*. The lethality rate of the outbreak was 36.5%. After the rainy period, the dry season facilitated a decrease in the nutritional status of the affected cattle. The delay in the definitive diagnosis contributed to the economic loss of the farm due to the cost of erroneous treatments and the number of dead cattle. The main factors that contributed to the deaths were climatic, environmental and individual. This study demonstrates that severe infestations by *R. microplus* in low quality pasture-raised calves are fatal and emphasizes the importance of diagnostic tools to reduce the economic loss caused by death due to infestation by ticks.

INDEX TERMS: animal production, *Rhipicephalus microplus*, fatal disease, economic loss, anemia

RESUMO.- [Infestação natural por carrapatos como causa de morte em bovinos de corte]. Embora a infestação por *Rhipicephalus microplus* seja mencionada como causa de morte em bovinos, existem apenas estudos com infestações artificiais em que o intenso parasitismo levou à morte de bovinos por anemia severa. O presente trabalho é o primeiro a descrever a epidemiologia, o quadro clínico e patológico e a conduta diagnóstica da infestação por *R. microplus* como causa de mortes em bezerros de sangue europeu introduzidos em pastagens sombreadas e vedadas oriundas de regiões em que houve chuvas 30 a 60 dias antes do início dos casos clínicos. Os bezerros afetados apresentaram apatia, palidez das mucosas oral e oculares, anorexia, anemia e estavam severamente infestados por exemplares de *R. microplus*. A taxa de letalidade do surto foi de 36,5%. Macroscopicamente, carcaça pálida e baixo escore corporal foram as alterações predominantes no bovino necropsiado. Após os períodos chuvosos, a temporada de seca facilitou a queda no estado nutricional dos bovinos afetados. A demora na realização do diagnóstico definitivo contribuiu para o prejuízo econômico da propriedade decorrente de custos com tratamentos equivocados e pelo aumento no número de bovinos mortos. Os principais fatores que contribuíram para as mortes foram climáticos, ambientais (pastagens sombreadas, vedadas e em estágio

de seca) e individuais (bezerros de raças europeias foram a categoria afetada). Este trabalho demonstra que infestações severas por *R. microplus* em bezerros criados em pastagens que possuem baixa qualidade são fatais devido a quadros graves de anemia, e enfatiza a importância das ferramentas diagnósticas na redução dos prejuízos econômicos causados pelas perdas decorrentes da infestação por carrapatos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: produção animal, *Rhipicephalus microplus*, doença fatal, perda econômica, anemia

INTRODUCTION

Rhipicephalus microplus is an ectoparasite distributed throughout the world in countries situated between the 32° North and 32° South parallels (Andreotti et al. 2019). Due to its feeding habit, the spoliation of cattle by ticks causes debility, anemia, weight loss and adverse effects on the ingestion, metabolism and digestion of foods and on the immune system (Jonsson 2006). Besides direct losses, there are costs with treatments, labor (Grisi et al. 2014, Miraballes & Riet-Correa 2018) and market restrictions due to acaricide residues on the carcasses. Moreover, *R. microplus* is a vector of cattle tick fever (CTF) agents, which causes severe economic loss in different regions of the world due to the death of affected animals (Pupin et al. 2019, Martins et al. 2020).

Although infestation by *R. microplus* is mentioned as a cause of death among cattle (Jonsson 2006), there are only studies that use artificial infestations in which intense parasitism led to the death of cattle due to severe anemia (Johnston & Haydock 1971, Johnston et al. 1981 APUD Jonsson 2006). To the best knowledge of the authors, there are no reports of the spontaneous death of cattle directly related to natural infestation by *R. microplus* and not by agents of CTF. This study describes the epidemiologic, clinical-pathologic and diagnostic aspects of the death in cattle due to infestation by *R. microplus*.

MATERIALS AND METHODS

1. Clinical and epidemiological data

During a visit by the team of the Pathological Anatomic Lab (LAP) of Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS), the epidemiological, clinical and management data about cattle and the farm where the outbreak occurred were obtained through interviews with the veterinarian and zootechnician responsible for the animals.

The cases occurred on an extensive-ranging farm located in the municipality of Paraíso das Águas (latitude 19°1'33" South, longitude 53°0'37" West), which is situated in the microregion of Cassilândia of Mato Grosso do Sul state, Midwest region of Brazil. The management partially consists of a rotated pasture system; the second management form is the change of paddocks when the foraging availability is insufficient. In this study, the cattle were introduced into fenced paddocks. The herd consisted of 4300 male and female Nelore (*Bos taurus*), Angus (*Bos indicus*) and crossbreed (½ Taurine x ½ Zebuine) cattle between eight and 12 months of age introduced on the farm in April to July 2020.

On June 2020, two months after introduction on the farm, six calves (Brangus and Angus) died after presenting apathy, reluctance to move, fatigue, hyporexia to anorexia, weight loss and pallid mucosa for 15 to 30 days. Deaths continued to occur after one month. At the end of the outbreak, 52 animals had become ill and 19 died (1.2% morbidity, 0.44% mortality and 36.5% lethality). Prior to the visit to the farm by the LAP/FAMEZ team, as the veterinarian in charge of the herd suspected of CTF, cattle who became ill received an intramuscular injection of 1 ml/20 kg of live weight (LW) of diminazene diaceturate (Ganaseg™ 7%; Elanco), 1 ml/10 kg LW of oxytetracycline (Terramycin LA®, Zoetis) and 1 ml/10 kg LW of ferric hydroxide (Valléefer®, Merck & Co.). None of the animals recovered.

2. Anatomopathological procedures

In the beginning of July, one calf was sent dead to the LAP/UFMS to necropsy and histopathologic exams. During necropsy, fragments of all organs were collected, fixed in 10% formalin and routinely processed for histopathology. On July 10th, after the calf being necropsied, the LAP/UFMS team visited the farm and examined clinically 35 animals. All cattle underwent to body temperature measurement and evaluation of the ocular and oral mucosa, as well as the degree of infestation by ticks. Blood samples were taken from the jugular vein of four animals and stored in Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company – BD, New Jersey, USA) tubes containing EDTA for hematological exam and investigation of parasites in blood smears. After the diagnosis, the treatment protocol was instituted and the animals were followed up until complete recovery.

3. Weather and precipitation analysis

Data on weather and precipitation in the region where the farm is located were obtained from the Meteorological Monitoring System of the federal government (Agritempo) during the period of the outbreak.

This study was approved by the CEUA/UFMS ethics committee under protocol no. 1215/2022.

RESULTS

1. Clinical and epidemiological data

During the visit to the farm, cattle severely infested by ticks were found in all pens. The highest intensity of infestation was on animals located in previously fenced pens and in pens located near of native forests. To control the ticks, a product containing 25% diflubenzuron (Difly S3®, Champion, Goiás, Brazil) was administered in the diet at a quantity of 1 g of product/animal/day. After the diagnosis of the cause of the deaths, severely infested animals were sprayed using medications with cypermethrin, fenthion + chlorpyrifos (Colosso FC30, Ourofino, São Paulo, Brazil) and cypermethrin + chlorpyrifos (Texvet® Max pour on, Bimeda, São Paulo, Brazil) every 15 days – both at the dose recommended by the manufacturer.

The LAP-UFMS team examined 35 Angus crossbred calves from pens with high tick infestation. These animals had severely tick infestation and were removed from the pasture to be allocated in nursery for treatment with the previously mentioned protocol. All calves had highly pale ocular and oral mucosa, poor body score and excessively long hair coat. The body temperature ranged from 37 to 37.5°C, which is considered within physiological parameters (Terra & Reynolds 2015). At the end of the outbreak, all 35 calves recovered.

The hematological exams of the blood samples from four animals demonstrated microcytic anemia (Table 1). No blood parasites were found in any of the blood smears analyzed.

Table 1. Results of hematological exam of cattle clinically examined by LAP-FAMEZ team during visit to the farm

Erythrogram	Cattle				Reference value*
	A	B	C	D	
Red blood cells	4.16	5.54	4.82	5.16	5.5 to 8.5 million/mm ³
Hemoglobin	7.4	7.5	8.6	7.2	12 to 18 g/dL
Hematocrit	25	24	27.5	23	37 to 55%
MCV	60.1	43.3	57.1	44.5	60 to 77 fl

* Kaneko et al. 2008

2. Anatomopathological findings

A male 10-month-old ½ Nelore x ½ Angus calf was sent dead to LAP-UFMS and necropsied. The animal was in a poor nutritional condition (ribs and bone prominences were evident) and had accentuated quantity of specimens of *R. microplus* in different evolutive stages (Fig. 1) dispersed throughout the skin of the inguinal and axillary regions. The carcass and the ocular and oral membranes were pale, and the liver was slightly enlarged, with rounded edges and an evident lobular pattern. Microscopically, no significant abnormalities were found. Due to the absence of findings such as jaundice, splenomegaly, hemoglobinuria, dark red kidneys and thick, lumpy bile, which would be suggestive of CTF, the diagnosis of anemia secondary to tick spoliation was instituted. The lack of specimens of *Haemonchus* spp. in the abomasum and the absence of cavitory or subcutaneous edema also excluded haemonchosis from the differential diagnosis.



Fig. 1. Tick infestation as cause of death in cattle. (A) Skin of sternal and abdominal regions with multiple areas of alopecia and moderately infested by *R. microplus* specimens of different sizes. (B) Accentuated infestation by *R. microplus* on skin in medial portion of right pelvic limb.

3. Weather and precipitation analysis

Regarding meteorological data, peak rainfall in the microregion where the farm is located occurred in May (138.6 mm), together with temperatures of 21.2 to 24.5°C. April had the second highest rainfall index among all months analyzed. June (onset of the outbreak) was the beginning of a severe decrease in rainfall, which reached a minimum of 0.1 mm until the month of August. In June, the temperature ranged from 21.9 to 29.5°C (Fig. 2).

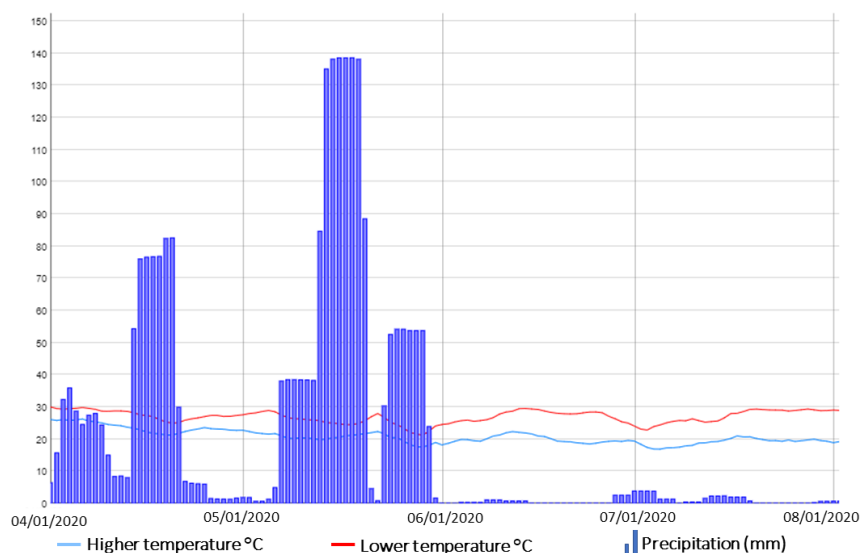


Fig. 2. Daily precipitation and temperature data in microregion of Cassilândia, Mato Grosso do Sul, between April and August 2020, period of occurrence of deaths caused by *R. microplus* infestation. Available in agritempo.gov.br.

DISCUSSION

The diagnosis of anemia due to severe infestation by ticks as the cause of death was based on the clinical parameters (high tick infestation and severe anemia), macroscopic and microscopic findings, exclusion of other possible causes and the recovery of adequately treated animals. In all cattle,

microcytic anemia was detected. This finding is compatible with chronic blood loss (Constable et al. 2017), which reinforces parasitism by ticks as the cause of death.

Infection by *Babesia* spp. and *Anaplasma* sp. were excluded based on the absence of suggestive gross findings (Almeida et al. 2006, Pupin et al. 2019) and the absence of these agents in blood smears of the necropsied calf as well as of other cattle with clinical signs. Haemoncosis was excluded based on the lack of *Haemonchus* sp. specimens in the abomasum and the absence of findings such as submandibular, cavitary, mesenteric and mucosal edema (Lima et al. 2022) in the necropsied animal. Moreover, no edema was found in any cattle clinically examined on the farm.

The epidemiology of this outbreak is related to other conditions that favor infestation by *R. microplus*, such as aspects of the animals (breed and age) and the environment (temperature, humidity and vegetation). It is noteworthy that even with severe infestation, well-fed animals with adequate nutritional status do not present anemia, making the death by ticks unlikely (Jonsson 2006). During the outbreak, mineral supplementation was adequate and forage was available, but it was dry due to the season of the year. This suggests that low quality foraging was an environmental factor that contributed to the severity of the clinical condition and anemia in affected animals.

Due to its climatic conditions, the Cerrado (savannah) biome facilitates the development of four *R. microplus* generations annually (Siqueira et al. 2021). In years when higher temperatures occur in winter, as in the present case, there can be five generations per year (Cruz et al. 2020, Nicaretta et al. 2021), with the highest challenge by ticks occurring in autumn (Nicaretta et al. 2021). As this is one of the main risk factors of high tick parasitism and their losses, when European cattle are allocated in this region, as occurred in the present case, the odds of infestation and diseases due to ectoparasites increase (Wambura et al. 1998, Jonsson et al. 2014).

Affected animals presented a clinical course of 15 to 30 days until death characterized by signs that culminated in weight loss and reduction in animal development, commonly related to intense parasitism by ticks and the consequent anemia (Jonsson 2006). The high lethality (36.5%) recorded at the end of the outbreak occurred mainly due to the delay in the establishment of a definitive diagnosis. As CTF was the initial suspicion, cattle were treated specifically for this condition, even without confirmation of the diagnosis through the investigation of *Babesia* spp. and *Anaplasma* sp. in affected animals. This demonstrates the importance of confirmatory exams in suspected cases of CTF. Along with the equivocal treatment, the delay in conclusion of the diagnosis led to the illness and death of more calves. Besides the causes of economic loss mentioned above, the cost of unnecessary treatments and the death of animals when the diagnosis is not performed in a timely manner also have to be included in that list.

The pens with had the greater number of severely infested animals were fenced or had parts of native forest. Both situations are favorable to the development of the tick free-living stage by ensuring shelter to the females, eggs and larvae, protecting them from exposure to direct sunlight and providing the necessary humidity and temperature (Nava et al. 2013, Canevari et al. 2017, Mastropaolo et al. 2017). Moreover, the rainfall peak index in the region occurred 30 to 60 days prior to the onset of the outbreak, followed by 21 to 24°C temperatures, which are considered favorable to the larval development of *R. microplus* and possibly contributed to its lifecycle (Sungirai et al. 2018).

The acaricidal protocols used are based on the continuous administration of diflubenzuron in the diet and tactical treatments involving spraying with active ingredients belonging to the groups of pyrethroids and organophosphates in cases of high infestation. Despite spraying every 15 days, treatment was not effective, as cattle still became ill. The established control program had failed and an emergency treatment was required. Based on several reports in Brazil (Reck et al. 2014, Higa et al. 2015), we cannot discard the possibility of resistance to the acaricides used. However, only an *in vitro* sensitivity test, which was not performed in the present study, would enable confirming the occurrence of resistance and the determination of whether acaricides were inappropriately used on the farm.

The necropsied calf did not have significant macroscopic or microscopic abnormalities beyond the indication of anemia demonstrated by the pallor of the ocular and oral mucous membranes and carcass. Based on the pathological and clinical findings, the absence of hyperthermia in the animals clinically examined and the absence of parasites in the blood samples contributed to exclude babesiosis and anaplasmosis from the differential diagnosis. Cattle that died by *Babesia* spp. and *Anaplasma* sp. frequently present jaundice, splenomegaly and hepatomegaly during necropsy. Specifically, with babesiosis, diffusely dark red kidneys and red urine are found. In case of infection by *B. bovis*, the telencephalic cortex have a cherry red color (Pupin et al. 2019). None of these findings was present in the necropsied animal. This reinforces the importance of performing necropsies and collecting blood for

investigation of blood parasites in cases of suspected CTF (Parodi et al. 2021) to confirm or exclude this condition from the differential diagnosis.

The annual economic losses caused by *R. microplus* on beef cattle are estimated to be US\$2313 million considering only daily weight loss (Grisi et al. 2014). However, the present study suggests that losses could be greater when costs of treatments and deaths of highly infested animals are included.

In summary, the main factors that contributed to the death of cattle highly infested by *R. microplus* in the present study were 1) climatic – rains occurred 30 to 60 days prior to the onset of cases; 2) environmental – use of shady, dry and fenced pastures in the feeding of cattle belonging to the most affected lots; and 3) host – calves of European breeds in poor nutritional condition were the affected category due to their high susceptibility to injuries related to the ticks.

CONCLUSION

High infestations by *R. microplus* in calves raised on low quality pastures can be fatal due to the occurrence of severe anemia. Necropsy and histopathology associated with additional exams, such as hematological exam and investigation of blood parasites, are essential to confirming the cause of death and reducing the economic loss caused by tick infestation.

Acknowledgements.- This study was made with the support of Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brazil, and was partially funded by the “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES), Brazil, finance code 001, and by “Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul” (FUNDECT). Two of the authors (Ricardo A. A. Lemos and Carolina C. Guizelini) have research fellowships from the “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq), Brazil.

Conflict of interest statement.- The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

REFERENCES

- Almeida M.B., Tortelli F.P., Riet-Correa B., Ferreira J.L.M., Soares M.P., Farias N.A.R., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2006. Tick fever in southern Brazil: a retrospective study of 1978-2005. *Pesq. Vet. Bras.* 26:237-242 (article published in Portuguese). <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000400008>
- Andreotti R., Garcia M.V. & Koller W.W. 2019. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos (Ticks in the cattle production chain). EMBRAPA, Brasília.
- Canevari J.T., Mangold A.J., Guglielmone A.A. & Nava S. 2017. Population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in a subtropical subhumid region of Argentina for use in the design of control strategies. *Med. Vet. Entomol.* 31:6-14. <https://doi.org/10.1111/mve.12199>
- Constable P.D., Hinchcliff K.W., Done S.H. & Grünberg W. 2017. Diseases of the hemolymphatic and immune systems, p.728-740. In: Constable P.D., Hinchcliff K.W., Done S.H. & Grünberg W. (Eds), *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11th ed. Vol. 1. Elsevier, St. Louis.
- Cruz B.C., Mendes A.F.L., Maciel W.G., Santos I.B., Gomes L.V.C., Felippelli G., Teixeira W.F.P., Ferreira L.L., Soares V.E., Lopes W.D.Z., Costa A.J. & Oliveira G.P. 2020. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation of its annual number of generations in a tropical region. *Parasitol. Res.* 119:2421-2430. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06758-5>
- Grisi L., Leite R.C., Martins J.R.S., Barros A.T.M., Andreotti R., Cançado P.H.D., León A.A.P., Pereira J.B. & Villela H.S. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 23:150-156. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- Higa L.O.S., Garcia M.V., Barros J.C., Koller W.W. & Andreotti R. 2015. Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: a literature overview. *Med. Chem.* 5:326-333. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000281>
- Johnston L.A.Y. & Haydock K.P. 1971. The effect of cattle tick (*Boophilus microplus*) on pregnant and lactating Brahman-cross and British-breed cows in Northern Australia. *Aus. Vet. J.* 47:295-299. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1971.tb15496.x>
- Johnston L.A.Y., Leatch G. & Haydock K.P. 1981. The effect of two systems of cattle tick (*Boophilus microplus*) control on tick populations, transmission of *Babesia* spp. and *Anaplasma* spp. and

- production of Brahman crossbred cattle in the dry tropics. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 21:256-267. APUD JONSSON 2006. <https://doi.org/10.1071/EA9810256>
- Jonsson N.N. 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.* 137:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.010>
- Jonsson N.N., Piper E.K. & Constantinoiu C.C. 2014. Host resistance in cattle to infestation with the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasite Immunol.* 36:553-559. <https://doi.org/10.1111/pim.12140>
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, sixth ed. Academic Press, San Diego.
- Lima S.C., Borges D.G.L., Pupin R.C., Guizelini C.C., Paula J.P.L., Borges F.A. & Lemos R.A.A. 2022. Mortality caused by gastrointestinal nematodes in beef cattle submitted to an inadequate sanitary protocol. *Pesq. Vet. Bras.* 42:e07030. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7030>
- Martins K.R., Garcia M.V., Bonatte-Junior P., Duarte P.O., Higa L.O.S., Csordas B.G., Barros J.C. & Andreotti R. 2020. Correlation between *Rhipicephalus microplus* ticks and *Anaplasma marginale* infection in various cattle breeds in Brazil. *Exp. Appl. Acarol.* 81:585-598. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00514-1>
- Mastropaolo M., Mangold A.J., Guglielmone A.A. & Nava S. 2017. Non-parasitic life cycle of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Panicum maximum* pastures in northern Argentina. *Res. Vet. Sci.* 115:138-145. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.03.009>
- Miraballes C. & Riet-Correa F. 2018. A review of the history of research and control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay. *Exp. Appl. Acarol.* 75:383-398. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0278-3>
- Nava S., Mastropaolo M., Guglielmone A.A. & Mangold A.J. 2013. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on the population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. *Res. Vet. Sci.* 95:1046-1054. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.09.013>
- Nicaretta J.E., Zapa D.M.B., Couto L.F.M., Heller L.M., Cavalcante A.S.A., Cruvinel L.B., Melo Júnior R.D., Ferreira L.L., Nascimento R.M., Soares V.E., Borges L.M.F., Monteiro C.M.O. & Lopes W.D.Z. 2021. *Rhipicephalus microplus* seasonal dynamic in a Cerrado biome, Brazil: An update data considering the global warming. *Vet. Parasitol.* 296:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109506>
- Parodi P., Corbellini L.G., Leotti V.B., Rivero R., Miraballes C., Riet-Correa F., Venzal J.M. & Armúa-Fernandez M.T. 2021. Validation of a multiplex PCR assay to detect *Babesia* spp. and *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test. *J. Vet. Diagn. Invest.* 33:73-79. <https://doi.org/10.1177/1040638720975742>
- Pupin R.C., Guizelini C.C., Lemos R.A.A., Martins T.B., Borges F.A., Borges D.G.L. & Gomes D.C. 2019. Retrospective study of epidemiological, clinical and pathological findings of bovine babesiosis in Mato Grosso do Sul, Brazil (1995-2017). *Ticks Tick Borne Dis.* 10:36-42. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.08.015>
- Reck J., Klafke G.M., Webster A., Dall'angol B., Scheffer R., Souza U.A., Corassini V.B., Vargas R., Santos J.S. & Martins J.R.S. 2014. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet. Parasitol.* 201:128-136. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.012>
- Siqueira S.M., Maia R.C., Ramos V.N., Rodrigues V.S. & Szabó M.P.J. 2021. *Rhipicephalus microplus* and *Amblyomma sculptum* (Ixodidae) infestation of Nelore cattle (*Bos taurus indicus*) in a farm of the Brazilian Cerrado: seasonality and infestation patterns. *Exp. Appl. Acarol.* 84:659-672. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00636-0>
- Sungirai M., Moyo D.Z., de Clercq P., Madder M., Vanwambeke S.O. & de Clercq E.M. 2018. Modelling the distribution of *Rhipicephalus microplus* and *R. decoloratus* in Zimbabwe. *Vet. Parasitol.* 14:41-49. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.08.006>
- Terra R.L. & Reynolds J.P. 2015. Ruminant history, physical examination, welfare assessment, and records, p. 2-20. In: Smith B.P. (Ed), Large animal internal medicine. 5th ed. Vol. 1. Elsevier, St. Louis.
- Wambura P.N., Gwakisa P.S., Silayo R.S. & Rugaimukamu E.A. 1998. Breed-associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. *Vet. Parasitol.* 1:63-70. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00229-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00229-X)

CAPÍTULO 4 – Conduta diagnóstica em doenças de bovinos de corte

O livro foi entregue em mãos ou em PDF aos membros da banca avaliadora.



Copyright © by Carolina de Castro Guizelini
Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Direitos Autorais reservados de acordo com a Lei 9.610/98

Coordenação Editorial
Valter Jeronymo

Assistente de coordenação
Alyne Rebeca

Projeto Gráfico
Life Editora

Diagramação
Nágela

Revisão
os próprios autores

Impressão e Acabamento
Life Digital



Life Editora
Rua Américo Vespúcio, 255 - Santo Antonio
CEP: 79.100-470 - Campo Grande - MS
Fones: (11) 3508 1941 - Cel.: (67) 99297-4890
contato@lifeeditora.com.br • www.lifeeditora.com.br

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Guizelini, Carolina de Castro
Lemos, Ricardo Antônio Amaral de

Conduta diagnóstica em doenças de bovinos de corte / Carolina de Castro
Guizelini e Ricardo Antônio Amaral de Lemos – Campo Grande, MS:
Life Editora, 2022.

362p. : il. : 23 cm

ISBN 978-65-5887-000-0

1. Doenças em bovinos 2. Diagnóstico I. Título

CDD - 370

Proibida a reprodução total ou parcial, sejam quais forem os meios
ou sistemas, sem prévia autorização dos autores.

CAPÍTULO 5 – Atividades complementares

5.1. Treinamentos para médicos-veterinários

Durante o doutorado, o livro que consta no capítulo 4 foi utilizado como base para realização de cursos ministrados entre os meses de junho e outubro de 2023 em oito cidades de Mato Grosso do Sul: Aquidauana, Bonito, Campo Grande, Costa Rica, Jardim, Naviraí, Paranaíba e Ponta Porã. Todos os cursos foram treinamentos voltados a médicos-veterinários de empresas privadas e do serviço de defesa animal - Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de Mato Grosso do Sul (IAGRO), Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa) e Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA).

Os treinamentos contaram com um dia inteiro dividido entre fase teórica, geralmente durante a manhã (Figuras 1 e 2), e fase prática (Figura 3), durante o período da tarde. Os assuntos abordados na fase teórica foram selecionados com base nas falhas identificadas durante o doutorado e explicadas no capítulo 1, principalmente em relação à coleta e envio de amostras de tecido animal para exames laboratoriais, e à identificação de lesões observadas em doenças que são comuns em bovinos criados no Centro Oeste. Na fase prática, que aconteceu em propriedades onde havia casos de bovinos doentes ou mortos, o exame de necropsia foi realizado prezando por, além do ensino da técnica (abertura de cadáver, identificação e exame de órgãos, e coleta e acondicionamento de amostras para exames complementares, como histopatologia, cultura microbiológica, PCR, exames parasitológicos, entre outros), a avaliação dos animais em relação às alterações que eles apresentavam, demonstrando como utilizar o raciocínio clínico e a necropsia para o diagnóstico de doenças de rebanho.



Figura 1. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Jardim, julho de 2023. Fase teórica do treinamento.



Figura 2. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Costa Rica, junho de 2023. Fase teórica do treinamento e reunião com os médicos

veterinários da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de Mato Grosso do Sul (IAGRO), Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa) e Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA).



Figura 3. 3º Workshop sobre as principais doenças em MS e seus desafios diagnósticos, Costa Rica, junho de 2023. Fase prática do treinamento, com realização de necropsia e orientação sobre coleta, armazenamento e envio de amostras de tecido a laboratórios de diagnóstico veterinário.

5.2. Administração e coordenação de um grupo de WhatsApp® para médicos veterinários

Com base nas falhas identificadas e demonstradas no capítulo I, um grupo de WhatsApp® (Figura 4) foi criado para médicos-veterinários do estado de Mato Grosso do Sul e outros estados do Brasil. O grupo tem como finalidade a propagação de Notas Técnicas e avisos importantes referentes às doenças de bovinos que acontecem em Mato Grosso do Sul.

Todos os meses, é elaborada uma nota técnica (Figura 5) sobre determinado tema que é relevante naquele momento. Médicos-veterinários de diversas áreas de atuação são convidados a redigirem a nota, a depender do tema abordado no mês. Participaram da redação, até agora, professores e/ou médicos-veterinários

vinculados à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Goiás, iniciativa privada (CIA Pecuária Acessoria, Campo Grande, Mato Grosso do Sul) e IAGRO.

Nas notas técnicas, são explanados conceitos importantes na medicina veterinária (por exemplo, o esclarecimento de termos técnicos que podem ser confundidos e erroneamente utilizados, como morte súbita, clostridioses, enterotoxemia, entre outros), erros comuns no processo de diagnóstico de doenças e como evita-los, casos clínicos comentados, atendidos pela equipe do LAP-UFMS etc. Alertas sobre surtos de doenças que acontecem na região também são encaminhados sempre acompanhados de informações sobre elas, como evita-las, trata-las e controla-las; durante os meses de frio intenso em junho e julho de 2023, casos de hipotermia foram relatados em várias regiões do estado. Por isso, este foi um dos alertas transmitidos a todos os integrantes do grupo, acompanhado de uma nota técnica sobre essa condição.

O grupo de WhatsApp®, além de ser uma fonte de transmissão de informações aos médicos veterinários que trabalham no campo, permite a notificação, por parte deles, sobre casos de doenças que acontecem, mas que não são notificados à equipe do LAP-UFMS. Um dos acontecimentos que exemplificam esta situação foram casos de carbúnculo sintomático – naquela ocasião, um médico veterinário participante do grupo notificou a coordenação deste sobre mortes de bovinos que estavam acontecendo na propriedade onde ele atendia. Após solicitado direcionamento em como realizar o diagnóstico, a coordenação do grupo pode orienta-lo a realizar a necropsia, além de indicar o LAP-UFMS para envio de amostras e investigação adicional do caso. A indicação foi prontamente aceita e, após toda a investigação epidemiológica, clínica e anatomopatológica, o diagnóstico de carbúnculo sintomático foi estabelecido.

A troca de informações que este grupo permitiu até agora conta com 313 membros e 19 notas técnicas, todas disponibilizadas também online, no site do [Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFMS](#).



Figura 4. Grupo de WhatsApp® voltado a médicos veterinários do Brasil, onde são publicadas notas técnicas e diversos informativos sobre as doenças de bovinos que acontecem em Mato Grosso do Sul.



Figura 5. Nota técnica “Sanidade em animais de produção” publicada mensalmente no grupo de WhatsApp® para médicos veterinários do Brasil. Esta nota técnica foi enviada em fevereiro de 2024.

5.3. Boletins anuais do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

A realização de cursos e a criação do grupo de WhatsApp® permitiu a criação de boletins anuais (Figuras 6 e 7), para que os médicos veterinários do estado de Mato Grosso do Sul possam conhecer e permanecer atualizados sobre as doenças que mais foram diagnosticadas pela equipe do LAP-UFMS no ano.

O boletim contém, além de todos os diagnósticos realizados nos animais de produção (bovídeos, equídeos, suídeos, pequenos ruminantes e aves), casos clínicos comentados e artigos sobre assuntos considerados relevantes durante o respectivo ano de atuação.

Como foi iniciado em 2022, possui dois números de publicação (os boletins foram encaminhados na íntegra para os membros da banca examinadora). O primeiro número foi disponibilizado apenas impresso e o segundo, impresso e digitalmente.

Em 2022, seu conteúdo se restringiu às doenças diagnosticadas naquele ano e a dois casos de doenças pouco frequentes no estado. No ano de 2023, além do conteúdo do ano anterior, outros tópicos de interesse foram incluídos, como os artigos intitulados “Botulismo em bovinos em Mato Grosso do Sul: histórico, situação atual e perspectivas” e “Suplementação mineral para equinos”, este escrito por professores convidados, Dr. Gumercindo Lorian Franco e Dr. Marcelo Vedovatto.

A redação dos casos fica sob responsabilidade da equipe do LAP e, eventualmente, outros médicos veterinários são convidados a participarem, como aconteceu em 2023.

2022

**BOLETIM DE DIAGNÓSTICO DO
LABORATÓRIO DE ANATOMIA
PATOLÓGICA**



Ricardo Antonio Amaral de Lemos
Danilo Carloto Gomes
Rayane Chitolina Pupin
Carolina de Castro Guizelini

Figura 6. Capa do Boletim anual de diagnóstico do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2022.

2023

**BOLETIM DE DIAGNÓSTICO DO
LABORATÓRIO DE ANATOMIA
PATOLÓGICA**



Ricardo Antonio Amaral de Lemos
Danilo Carloto Gomes
Rayane Chitolina Pupin
Carolina de Castro Guizelini

Figura 7. Capa do Boletim anual de diagnóstico do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2023.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

As principais falhas que induzem a erros no diagnóstico e à impossibilidade na realização do diagnóstico são as pré-analíticas, especialmente, o desconhecimento por parte dos profissionais em relação à coleta e ao acondicionamento de amostras de tecidos durante a necropsia, e ao reconhecimento de lesões macroscópicas. A elaboração de materiais práticos voltados ao diagnóstico e que têm como objetivo auxiliar médicos veterinários que atuam diretamente no campo a se aperfeiçoarem nas práticas de diagnóstico a campo, como o guia prático desenvolvido neste estudo, constitui uma das maneiras que podem reduzir os prejuízos causados pela morte de bovinos. A necropsia, a investigação clínico-epidemiológica e os demais exames complementares são práticas de diagnóstico que auxiliam no estudo sistematizado das condições, permitindo o reconhecimento de novos aspectos de doenças conhecidas, o que contribui para o aumento do conhecimento dessas e na melhoria dos métodos de prevenção e controle.

IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO

Com a redução dos diagnósticos inconclusivos, será possível estabelecer medidas preventivas eficazes, uma vez que para isto é necessário reconhecer a causa e a epidemiologia das doenças. Este estudo impacta socialmente, pois aumenta a eficiência da atividade pecuária e a torna mais sustentável. O impacto tecnológico e a inovação estão presentes no desenvolvimento e na implantação do material didático intitulado “Conduta diagnóstica de doenças de bovinos – Guia Prático” disponibilizado impresso e digitalmente, que foi desenvolvido focando em novas abordagens práticas de resolução dos problemas relacionados ao diagnóstico de doenças.