

ISSN 0100-736X

Volume 1 Número 1
Jan/Mar 1981

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

Editora: Armando Amorim Publicidade, Rio de Janeiro, Brasil

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, é revista bilingual trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal e publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia animal no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica. Como complemento traz resumos selecionados de trabalhos de ciências veterinárias publicados recentemente no Brasil. Os autores devem fazer com que seus trabalhos, quando a ela destinados, sejam datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

Pesquisa Veterinária Brasileira, a bilingual quarterly journal, edited by the Brazilian College of Animal Pathology, publishes original articles and review papers on all aspects of veterinary science. Contributions on animal pathology and related subjects, mainly diseases of economic importance, are particularly welcomed. Reviews should be written in support of original investigations. The editors assume that papers submitted are not being considered for publication in other journals and do not contain material which has already been published.

Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Assistentes:** Oswaldo Duarte Gonçalves, Cheryl Ann Rowe. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adayr Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

Assessoria Científica (Advisory Board)

Carlos Cypriano P. Arteché, Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, Pedro Gonçalves Cabral, A.F. Pestana de Castro, Milton de Souza Dayrell, Gerrit Dirksen, Laerte Grisi, Eberhard Grünert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Michael R. Honer, Mario Mariano, Anton Mayr, Francisco Megale, Gonzalo E. Moya Borja, Ronaldo Reis, Carlos H. Romero, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr.

O Colégio Brasileiro de Patologia Animal, inicialmente, está recebendo um auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para editar a revista que, gradativamente, deve tornar-se financeiramente independente através de publicidade e assinaturas.

Interessados na colocação de anúncios na revista queiram se dirigir à firma Armando Amorim Publicidade, Av. Presidente Vargas 590, grupos 2105/06/14, 20074 Rio de Janeiro, RJ (tel. 243-9816 e 243-7541).

Aos interessados em receber a revista solicitamos preencher o cupom inserido neste exemplar, e remetê-lo à (*All subscription orders should be sent to*): Direcional Mala Direta Ltda, Rua Teixeira Soares 49, 20271 Rio de Janeiro, RJ (Brazil).

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada ao (*All editorial communications, including typescripts, should be addressed to*): Dr. Jürgen Döbereiner, Revista "Pesquisa Veterinária Brasileira", 23460 Seropédica, Rio de Janeiro (Brazil).

SOLICITAMOS PERMUTA. Pedimos escrever à Biblioteca da Embrapa - Patologia Animal, Km 47, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro.

WE ASK FOR EXCHANGE. Please, write to the Library of Embrapa - Patologia Animal, Km 47, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil.

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

— uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

Brazilian Journal of Veterinary Research, a publication of the Brazilian College of Animal Pathology

Editora: Armando Amorim Publicidade, Rio de Janeiro, Brasil

Volume 1

Janeiro/Março 1981

Número 1

SUMÁRIO

Tratamento da tuberculose bovina com isoniazida. <i>J. Langenegger, C.H. Langenegger & J. Oliveira</i>	1
Intoxicação por <i>Arrabidaea japurensis</i> (Bignoniaceae) em bovinos. <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	7
<i>Leptospira interrogans</i> in several wildlife species in southeast Brazil. [<i>Leptospira interrogans</i> em diversas espécies de animais silvestres na região sudeste do Brasil]. <i>F. Cordeiro, C.R. Sulzer & A.A. Ramos</i>	19
Colangiocarcinomas em gatos com parasitismo de dutos biliares por <i>Platynosomum fastosum</i> . <i>J.A. Santos, M.A.F. Lopes, A.C. Schott, A.E. Santos, L.C. Porfírio & L. Passos</i>	31
Estudos sobre a transmissão congênita do vírus da leucose linfóide aviária. <i>F.S. Rocha, C.H. Romero, C.A. Rowe, A.G. Silva, O.A. Resende, P.G.O. Dias & M.W. Santos</i>	37
Resumos	43

CONTENTS

Treatment of bovine tuberculosis with isoniazide. <i>J. Langenegger, C.H. Langenegger & J. Oliveira</i>	1
Poisoning of cattle by <i>Arrabidaea japurensis</i> (Bignoniaceae) in Roraima, northern Brazil. <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	7
<i>Leptospira interrogans</i> in several wildlife species in southeast Brazil. <i>F. Cordeiro, C.R. Sulzer & A.A. Ramos</i>	19
Cholangiocellular carcinoma with biliary parasitism by <i>Platynosomum fastosum</i> . <i>J.A. Santos, M.A.F. Lopes, A.C. Schott, A.E. Santos, L.C. Porfírio & L. Passos</i>	31
Studies on the congenital transmission of avian lymphoid leukosis virus. <i>F.S. Rocha, C.H. Romero, C.A. Rowe, A.G. Silva, O.A. Resende, P.G.O. Dias & M.W. Santos</i>	37
Abstracts of the current Brazilian literature in veterinary science (in Portuguese)	43

ISSN 011-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.1-46, jan./mar. 1981

Pesquisa veterinária brasileira =

Brazilian journal of veterinary research.

v. 1 - n. 1 - 1981 - Rio de Janeiro:

Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 1981 -

v. trim. ISSN 0100-736X

1. Pesquisa veterinária — Periódicos — Brasil.

I. Colégio Brasileiro de Patologia Animal, *ed.*

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em original e *uma cópia*, escritos em português ou inglês, devem ser enviados ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short communications") sob forma de "Notas Prévias", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

São de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, contudo, o Corpo Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, SINOPSE, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinações destes três últimos), AGRADECIMENTOS, REFERÊNCIAS e ABSTRACT:

- o TÍTULO do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;
- a SINOPSE deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação;
- ABSTRACT, um resumo em inglês, deverá incluir a versão do título do trabalho e, no final, terá a indicação dos "index terms".
- a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;
- em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;
- o capítulo RESULTADOS deve conter uma apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados superfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;
- na DISCUSSÃO os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;
- as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;
- AGRADECIMENTOS devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;
- a lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as instruções de "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC.), como por exemplo:

Flores C. & Houssay B.A. 1917. Estudios sobre el mio-mio, nio o romerillo (*Baccharis coridifolia* DC.). Revta Inst. Bacteriol. Dep. Nac. Hygiene, B. Aires, 1(1):59-100.

Hanson R.P. 1972. Newcastle disease, p. 619-656. In Hofstad M.S. (ed.) Diseases of poultry. 6th ed. Iowa State Univ. Press., Ames.

Hoare R.J. & Claxton P.D. 1972. Observation on *Leptospira hardjo* infection in New South Wales. Aust. Vet. J. 48:228-232. (Vet. Bull. 42, Abstr. 6199)

Jubb K.V.F. & Kennedy P.C. 1970. Pathology of domestic animals. 2nd ed. Academic Press, New York, vol. 2, p. 645.

Lamounier R.D. & Hipólito O. 1949. Tuberculose aviária em Minas Gerais. Arqs Esc. Sup. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 2:33-39.

Perreau P., Gay P. & Botto M.T. 1968. Le pouvoir pathogène de *Dermatophilus congolensis* est-il lié à la diffusion d'une toxine? Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 21(1):59-69.

Roberts D.S. 1963a. Properties of *Dermatophilus dermatonomus* zoospores in relation to transmission of mycotic dermatitis. Aust. J. Agric. Res. 14(3):373-385.

Roberts D.S. 1963b. The release and survival of *Dermatophilus dermatonomus* zoospores. Aust. J. Agric. Res. 14(3):386-399.

Spegazzini C. 1914. Notas y apuntes sobre plantas venenosas para los ganados. Anales Soc. Cient. Argentina 77:459. (Citado por Flores & Houssay 1917, p. 63)

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser datilografados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corriadamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo-ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; para as REFERÊNCIAS, ABSTRACT e relação das legendas das figuras serão iniciadas folhas novas, mesmo que haja espaço na anterior; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; SINOPSE e ABSTRACT deverão ser datilografados sem abertura de parágrafos, apresentação de dados em disposição tabular e inclusão de citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverão constar a qualificação profissional e endereço postal (Instituição) do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocados entre parênteses e precedidos do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de et al. mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (REFERÊNCIAS), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final da respectiva referência, na forma: "(Citado por. . . 19. . .)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es).

3. As figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas prontas para confecção de clichês, em tamanho maior do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados, para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho de uma página (18 x 25 cm) ou tamanhos menores; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída, preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta nanquim preta em papel vegetal; cada figura será identificada, na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; para evitar danos por grampos, as figuras, bem como as fotografias, sem montagem, deverão ser colocadas em envelope.

4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão datilografadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

5. Os quadros deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá, no alto, seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços, poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, começando de a em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço de 12 batidas; à esquerda.

6. Aos autores de cada trabalho publicado serão fornecidas 50 separatas.

EDITORIAL

Se temos hoje em mãos o primeiro número da revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*, deve-se isto à necessidade de se dispor de um veículo de comunicação científica especializada no campo das ciências veterinárias, de âmbito nacional e mesmo internacional. A revista publica trabalhos de pesquisadores ou equipes, que constituem contribuição aos conhecimentos em patologia animal no seu sentido amplo.

A revista propõe-se a manter regularidade de publicação, qualidade de conteúdo e apresentação, e distribuição adequada. Procura-se, assim, estabelecer uma nova ponte de informação entre pesquisadores e outros profissionais, dando estímulo e orientação à própria pesquisa e às atividades de prevenção e controle das doenças de animais, principalmente das de relevância econômica e de interesse à saúde pública. Para isso, cada número conterá também resumos selecionados de trabalhos que foram recentemente publicados em outras revistas brasileiras.

O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), reconhecendo a importância e o alcance de uma revista deste gênero e confiante na atuação do Colégio Brasileiro de Patologia Animal, órgão editor da "*Pesquisa Veterinária Brasileira*", está contribuindo decisivamente, com um auxílio inicial, para a publicação da revista; porém, em pouco tempo, ela deve tornar-se financeiramente independente através de publicidade e assinaturas. O bom desempenho deste periódico, como meio de comunicação, dependerá do interesse e da colaboração dos colegas atuantes em todos os ramos das Ciências Veterinárias, seja através do envio de trabalhos para publicação, seja pela assinatura da revista.

In order to have proper scientific communication, there is an urgent need in our country for a journal which specializes in publishing results of veterinary research, and which will be distributed throughout Brazil as well as to foreign countries. The objective of *Pesquisa Veterinária Brasileira* (Brazilian Journal of Veterinary Research) is to achieve this goal. It is a bilingual journal publishing articles in either Portuguese or English, which contribute to the knowledge of animal pathology in its broadest sense.

The editorial policy to be followed includes quarterly publication, good quality of contents and presentation, and adequate distribution. The aim is to establish a new efficient source of information for research workers and other professionals in Brazil, in order to stimulate research and, at the same time, to give orientation for prevention and control of animal diseases, specifically those of economic importance and in the interest of public health. To this end, each issue will also contain abstracts of related articles which were published recently in other Brazilian journals.

The Brazilian National Research Council (CNPq), understanding the importance of such a journal, is lending financial support to the Brazilian College of Animal Pathology for its publication. In the near future though, the journal should become economically independent, by means of publicity and subscriptions. The success of this undertaking will depend on the interest of colleagues working in all fields of Veterinary Science, both submitting articles for publication and subscribing to the journal.



Editor

RESUMOS

Pesquisa Veterinária Brasileira traz, em cada número, resumos selecionados de trabalhos de ciências veterinárias publicados, recentemente, em outras revistas brasileiras.

(The journal publishes related abstracts of the current Brazilian literature in veterinary science.)

DOENÇAS INFECCIOSAS

1. Godoy A.M., Neves J., Peres J.N. & Barg L. 1979. **Sobre um caso de infecção humana por *Brucella canis* em laboratório.** [Human laboratory infection with *Brucella canis*.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):141-145. Depto Microbiol. ICB, Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Os autores descrevem um caso humano de infecção acidental em laboratório, causada por *Brucella canis*, diagnosticado através de hemocultura e soro-aglutinação (1:100). Todos os sintomas clínicos desapareceram depois de 6 semanas de tratamento com estreptomicina e sulfadiazina, embora a soro-aglutinação tenha-se tornada negativa somente 90 dias após o início do tratamento. Até o momento, foram observados na literatura, somente 6 casos de infecção humana acidental em laboratório, por *B. canis*. Os autores descrevem o primeiro caso observado no Brasil.

2. Soares L.A. & Trabulsi L.R. 1979. **Atividade antibacteriana "in vitro" de Gentamicina, Tobramicina e Sisomicina.** ["In vitro" antibacterial activity of gentamicin, tobramycin and sisomicin.] *Revta Microbiol., S. Paulo*, 10(1):1-5. Depto Microbiol. Bayer do Brasil, Cx. Postal 959, São Paulo, SP 01000.

Foi determinada a concentração inibitória mínima de sisomicina, gentamicina e tobramicina, para 534 amostras de bactérias, isoladas recentemente de material clínico, incluindo *Pseudomonas*, enterobactérias e cocos Gram-positivos. Para um número (80) representativo dessas amostras, foi determinada também a concentração bactericida mínima dos três antibióticos. A atividade anti-bacteriana dos três antibióticos foi semelhante, mas a sisomicina se revelou mais ativa do que a gentamicina e a tobramicina, para a maioria das amostras estudadas.

3. Oliveira E.P.T., Hogashi H.G. & Lizuka H. 1979. **Algumas modificações na técnica de titulação das toxinas e anatoxinas tetânicas "in vitro".** [A few modifications in the titration technique "in vitro" of tetanus toxins and anatoxins.] *Revta Microbiol., S. Paulo* 10(1):6-9. Soc. Bras. Microbiol., Cx. Postal 4005, São Paulo, SP 01000.

Algumas modificações na técnica clássica de titulação de toxinas e anatoxinas tetânicas "in vitro"; permitem abreviar o tempo de floculação (kf) da reação. Estas modificações, consistindo no acerto do pH e no resfriamento prévio da mistura antígeno-anticorpo tetânico, possibilitaram também a obtenção de uma única zona de floculação.

4. Carvalho E.P. & Costa L.C.G. 1979. **Diferentes temperaturas e meios de cultura para o isolamento de *Salmonella* sp. e outras bactérias, em rações iniciais para fran-**

gos de corte. [Different temperatures and culture media for isolation of *Salmonella* sp. and other microorganisms in broiler starter rations.] *Revta Microbiol., S. Paulo*, 10(1):10-13. Depto Ciência dos Alimentos, Esc. Sup. Agricultura, Lavras, MG 37200.

Visando a recuperação de *Salmonella* sp. com vistas a eliminar a competição de outros microorganismos, fez-se estudo de 30 amostras de rações, variando-se meios de cultura para recuperação e utilizando-se três temperaturas de incubação, 35, 37 e 43°C. Foram identificados dois sorotipos de *Salmonella* (*S. agona* e *S. anatum*), em uma única ração, à temperatura de 43°C, nos meios selenito cistina, verde brilhante e SS agar. O selenito cistina se mostrou mais eficiente na recuperação de colônias, sendo superior ao tetratonato em 14,19%, com alto índice de microorganismos competidores.

5. Goyal S.M. & Hoadley A.W. 1979. **Salmonellae and their associated R-plasmids in poultry processing wastes.** [Salmonelas e plasmídios R associados, em abatedouros de aves.] *Revta Microbiol., S. Paulo*, 10(2):50-58. Depto Virology and Epidemiology, Baylor College for Medicine, Houston, Texas 77030, U.S.A.

Investigação dos despejos de dois abatedouros de aves, em Georgia, E.U.A., para reconhecimento de sua extensão, como reservatório de salmonelas resistentes a antibióticos e seus respectivos plasmídios R. Cerca de 80.000 aves são abatidas diariamente, em cada matadouro, cujo despejo é tratado em lagoas de estabilização. Salmonelas são facilmente demonstráveis nos resíduos, com mais de 90% de redução, após tratamento nos sistemas de estabilização. Em uma das unidades abatedouras, a relação de salmonelas para coliformes fecais foi consistentemente 1:500. Na segunda, cujo sistema de lagoa de retenção dura 44 dias, a relação diminuiu para 1:30.800, no resíduo não tratado, para 1:3.086, sugerindo que as salmonelas sobrevivem mais do que os coliformes fecais, através do sistema de lagoas de tratamento. Os sorotipos de salmonelas variam de tempos em tempos, em ambos os sistemas de lagoas de tratamento. Os resíduos avícolas podem atuar como reservatório de salmonelas resistentes a drogas, que não são reduzidas em relação a coliformes fecais durante o tratamento. Resistência, a pelos menos um, entre 12 antibióticos, foi demonstrada em 37,2% dos isolados, em um abatedouro; e em 65,1% na segunda unidade. Das linhagens resistentes testadas, respectivamente 86% e 92% exibiram resistência múltipla. O mais frequente foi encontrar resistência à tetraciclina, estreptomicina e colistina. Das 173 amostras com resistência múltipla, no segundo abatedouro, 72,3% foi capaz de transferir seus determinantes de resistência, no todo ou em parte, para *E. coli*-ATCC 27622, *S. choleraesuis* var. *kunzendorf* 460 S.1-2, ou para ambas linhagens.

6. Cardoso C.L. & Gontijo Filho P.P. 1979. Ocorrência de micobactérias em águas poluídas com resíduos industriais e domésticos. [Occurrence of mycobacteria in water polluted with industrial and domestic residues.] *Revta. Microbiol., S. Paulo*, 10 (2) : 59-65. Fundação Univ. Maringá, Maringá, PR 87100.

Foram isoladas 158 cepas de micobactérias a partir de amostras de água poluída, notadamente com resíduos de petróleo, após a depuração com hidróxido de sódio a 4% (111 cepas), ou cloreto de benzalcônio a 0,34% (47 cepas). A maioria das micobactérias isoladas comportou-se como pertencente ao grupo III de Runyon (78 cepas), seguindo-se as de crescimento rápido (61 cepas) e as escotocromogênicas, de crescimento lento (19 cepas). Aproximadamente 32% das cepas foi caracterizada como micobactérias potencialmente patogênicas, incluindo *M. avium-intracellulare* (3,8%), *M. scrofulaceum* (6,3%) e *M. fortuitum* (22,2%). Conclui-se que a água do Rio Jacaré está contaminada com micobactérias potencialmente patogênicas, podendo servir como fonte de doença humana.

7. Moreira E.C., Silva J.A., Viana F.C., Santos W.L. M., Anselmo F.P. & Leite R.C. 1979. Leptospirose bovina. I. Aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais. [Bovine leptospirosis. I. Antileptospiras in serum of cattle of Minas Gerais State. Brazil.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(3):375-388. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Foram testados para pesquisa de aglutininas antileptospiras 3.727 soros sanguíneos de vacas acima de três anos de idade. Esse material foi obtido de rebanhos de Minas Gerais, através de amostragem probabilística e constituiu o grupo I. Nesse grupo, os resultados revelaram que 16,29% dos soros foram reagentes para *L. pomona*; 12,10% para *L. wolffii*; 11,11% para *L. hardjo*; 5,85% para *L. grippothyphosa*; 5,15% para *L. icterohaemorrhagiae* e 2,20 para *L. canicola*. No grupo II, foram examinados 2.702 soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais, predominando animais acima de três anos de idade, de ambos os sexos, remetidos à Escola de Veterinária da UFMG para exames de diagnóstico clínico. Os resultados revelaram 27,83% de soros reagentes para *L. wolffii*; 24,12% para *L. hardjo*; 11,54 para *L. pomona*; 4,48% para *L. icterohaemorrhagiae*; 3,61% para *L. canicola* e 2,20 para *L. grippothyphosa*.

8. Baruffaldi R., Penna T.C.V., Colombo A.J. & Cunha B.C.A. 1979. Levantamento das condições sanitárias da carne fresca moída vendida no varejo. [The knowledge of sanitary conditions of grounded fresh meat sold in the market.] *Anais Farm. Quim. S. Paulo*, 19(1):139-148. Depto Tec. Bioq. Farm., Fac. Ciências Farmacêuticas, USP, Cidade Universitária, SP 05568.

Quando da introdução da carne congelada no mercado, período de agosto a dezembro de 1976, estudou-se a qualidade bacteriológica de 36 amostras de carne fresca moída, de 12 estabelecimentos diferentes. Conclui-se pela necessidade de adoção de medidas enérgicas de higiene, no manuseio do material e na limpeza dos equipamentos que entram em contato com o produto. A refrigeração associada à higiene permite prevenir ou diminuir o crescimento de bactérias prejudiciais à saúde.

DOENÇAS PARASITÁRIAS

9. Echevarria F.A. & Pinheiro A.C. 1979. Ação do Disofenol e do Niclofolan em bovinos. [Anthelmintic efficiency of Disofenol and Niclofolan in cattle.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 14(2):155-157. UEPAE/Bagé, EMBRAPA, Cx. Postal 242, Bagé, RS 06400.

Foi avaliada a ação anti-helmíntica do Disofenol, empregado a 20%, na dose de 8,27 mg/kg, e do Niclofolan a 4%, na dose de 0,86 mg/kg, contra *Fasciola hepatica* (Lin. 1758) de bovinos. Em fasciola madura, o Disofenol apresentou uma atividade de 55,9%, e o Niclofolan evidenciou uma ação de 96,9%.

10. Gomes A. & Bianchini I. 1979. Disofenol em nematódeos gastrintestinais e pulmonares de bovinos. [Disophenol in bovine gastrointestinal and lung nematodes.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília* 14(3):283-289. Centro Nac. Pesq. Gado de Corte, EMBRAPA, Cx. Postal 154, Campo Grande, MS 79100.

O efeito do uso do Disofenol aplicado de dois em dois meses foi estudado em 48 bezerros mestiços (Zebu x Holandês), desmamados, com seis a nove meses de idade, e portadores de infestação natural por nematódeos gastrintestinais e pulmonares. Os animais foram divididos, ao acaso, em quatro grupos de doze (A, B, C e D) e mantidos em quatro piquetes de aproximadamente 8.300 m². Nos grupos B e D, utilizou-se, como anti-helmíntico, Disofenol na dose de 10 mg/kg de peso vivo e os grupos A e C ficaram sem tratamento anti-helmíntico, sendo que nos grupos C e D foi introduzido um cavalo em cada grupo para outros estudos. Foram feitos exames coprológicos semanais e duas necrópsias mensais em cada grupo, de maio a outubro de 1977. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado. Verificou-se que o Disofenol reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) o número de adultos de *Haemonchus placei*, *Oesophagostomum radiatum* e *Bunostomum phlebotomum*, atuou regularmente sobre as larvas de quarto estágio final, e não teve ação sobre as larvas de quarto estágio inicial de *H. placei*. Não atuou, tanto em adultos como em formas imaturas, de *Trichostrongylus axei*, *Oxtertagia ostertagi*, *Ostertagia lyrata*, *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Strongyloides papillosus* e *Dictyocaulus viviparus*.

11. Matos M.S., Leite M.L.A.S., Pedreira E.D., Costa A.A. & Eloy E.E. 1979. Estudo cronológico da frequência de ovos de helmintos gastrintestinais em fezes de cães (*Canis familiaris*). [Chronological frequency study of gastrointestinal helminth eggs in dog faeces.] *Arqs Esc. Med. Vet. UFBA, Salvador*, 4(1):36-58. Esc. Med. Vet. UFBA, Av. Adhemar de Barros 500, Ondina, Salvador, Bahia 40000.

No período de 1970-71 e 1972-78 examinou-se as fezes de 1.609 cães de ambos os sexos, idade variada e pertencentes a diversas raças. As fezes foram examinadas pelos métodos de sedimentação, flutuação e direto. As amplitudes das frequências observadas foram: *Ancilostomídeos*: 45,6 a 67,4%; *Toxocara canis*: 10,9 a 19,3%; *Trichuris sp.*: 2,3 a 6,5%; *Dipylidium caninum*: 3,4 a 7,4%; *Strongyloides sp.*: 0,4 a 4,3%; *Taenia sp.*: 0 a 1,1% e as amostras negativas variaram entre 17,7 a 54,3%. Os anos exerceram influência significativa apenas sobre a frequência de ancilostomídeos e sobre o número de amostras com resultados negativos.

A maior frequência de ancilostomídeos e *Trichuris sp.* ocorreu no período de abril a novembro, enquanto a de *Toxocara canis* no período de março a novembro.

12. Matos P.F. & Costa J.O. 1979. **Efeitos do cruformato, haloxon e levamisole sobre o hemograma, atividade da colinesterase e desidrogenase sorbitol em eqüinos.** [Effects of cruformate, haloxon and levamisole on the hemogram, cholinesterase activity and sorbitol dehydrogenase in horses.] *Arqs Esc. Med. Vet. UFBA, Salvador*, 4(1):74-91. Depto Patologia e Clínicas, Esc. Med. Vet. UFBA, Av. Adhemar de Barros 500, Ondina, Salvador, Bahia 40000.

Foram estudados os efeitos provocados pelos antihelmínticos cruformato, haloxon e levamisole sobre o hemograma, atividade da colinesterase e desidrogenase sorbitol em eqüinos com verminose gastrointestinal. Para fins experimentais foram utilizados 16 eqüinos de 2 a 12 anos de idade, de ambos os sexos, naturalmente infectados por parasitos gastrointestinais, cuja confirmação foi feita através de exames de fezes (OPG), previamente realizados. Os eqüinos foram divididos em quatro grupos de quatro animais, sendo que cada grupo recebeu um determinado tratamento. Grupo I — recebeu cruformato na dose de 125,0 mg/kg de peso vivo, aplicado na região dorso lombar. Grupo II — tratado com haloxon na dose de 100,0mg/kg de peso vivo, administrado na ração. Grupo III — recebeu cloridrato de levamisole na dose de 10,0 mg/kg de peso vivo, via subcutânea. Apenas no Grupo I observou-se uma redução da atividade da colinesterase a qual ocorreu uma hora após o tratamento progredindo até o quinto dia e somente começando a aumentar no décimo dia.

PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

13. Santos J.A., Pires A.R. & Silva Junior J.F. 1979. **Hiperplasias da cortical da supra-renal em cavalos.** [Hyperplasias of the adrenal cortex in horses.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 14 (1) : 1-9. Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24000.

Entre 149.394 cavalos abatidos para consumo no Brasil, havia 32 casos de hiperplasia das supra-renais (0,02%). Em quatro casos, o processo era nitidamente nodular e em 28, a lesão era de caráter difuso. Nas formas nodulares, as nódulos se localizavam nos polos da glândula, atingindo até o volume de um ovo de galinha. Nas formas difusas, a glândula se mostrava uniformemente hipertrofiada, apresentando o seu parênquima, aspectos variados. Microscopicamente verifica-se predominância de processos de hiperplasia simples; em certos casos, a hiperplasia culminava com a libertação de cristais de colesterol e sua calcificação; em um número limitado de casos, a glândula exibia necrose. As células hiperplásicas mostravam-se ricas em lipídeos, assumindo aspecto escumoso ou comparável ao da célula adiposa. Tais lipídeos eram sudanófilos. O processo estudado deve estar correlacionado com a castração, já que a maioria dos animais observados era constituída de indivíduos castrados. Entretanto, provindo o material trabalhado de animais de sela e eventualmente de tração, não se pode desprezar a possibilidade da participação do "stress" por intenso trabalho muscular na gênese de tais hiperplasias.

14. Silveira D., Nogueira R.H.G., Nascimento E.F., Souza H.C.A., Chquiloff M.A.G. & Silva J.M.L. 1979. **Inclusões citoplasmáticas do vírus da cinomose.** [Cytoplasmatic inclusionbodies of canine distemper.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31 (2) : 107-111. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Pesquisou-se a presença de inclusões citoplasmáticas do vírus da cinomose em esfregaços de sangue e de células epiteliais do sedimento urinário e das mucosas da boca, nariz e conjuntiva. Usaram-se 25 animais com diagnóstico clínico da doença, todos procedentes da região de Belo Horizonte, com idade oscilando de três a 60 meses, sendo 17 machos e oito fêmeas e 20 racialmente definidos. O exame citológico mostrou a presença de inclusões em 20 deles, sendo o diagnóstico confirmado em 14 dos 16 animais necropsiados, pelo encontro das mesmas em células de vários órgãos. Um animal, dentre os cinco com exames citológicos negativos, apresentou o corpúsculo no epitélio da bexiga e nas células de Purkinje. A pesquisa ao contrário do que ocorre com as células descamadas do sedimento urinário, constitui eficiente recurso para o diagnóstico precoce da cinomose.

15. Nascimento E.F., Silva J.M.L. & Nogueira R.H.G. 1979. **Alterações testiculares e epididimárias em cães. V. Neoplasias, hiperplasia de células intersticiais e adenomiose.** [Testicular and epididymal alterations in dogs. V. Tumors, hyperplasia of interstitial cells and adenomyosis.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):113-118. Esc. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Os exames anátomo-histopatológicos nos testículos e epidídimos de 158 cães de diferentes raças e idades, procedentes da região de Belo Horizonte, revelaram 17,72% de alterações progressivas, sendo 12,03% relativas a tumores (5,7% de seminomas, 3,8% de leydigocitomas e 2,53% de sertoliomas), 1,9% à hiperplasia de células intersticiais e 3,8 à adenomiose. As razões de casos e percentagens nos grupos etários de animais novos (1-2 anos), adultos (3-7 anos) e velhos (8-13 anos) foram respectivamente 2:48 (4,17%), 9:96 (9,38%) e 8:14 (57,14%). Em dois dos quatro casos de sertolioma, os testículos eram criptórquios (criptorquidia unilateral direita), apresentando um deles sinais de feminização: alopecia simétrica, ginecomastia, pele delgada e hipotrofia do testículo oposto. Em um dos seis casos de adenomiose havia complicação com granuloma espermático.

16. Marchevky R.S., Nascimento E.F., Chagas W. A., Chquiloff M.A.G. & Magalhães C.M. 1979. **[Colpocitologia em cadelas comuns.** [Vaginal cytology during the canine oestrous cycle.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):119-123. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal, 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Dez cadelas jovens, sem raça definida, foram submetidas à colpocitologia, estando oito delas em proestro e duas em anestro. Na esfoliação epitelial sob estímulo estrogênico (proestro e estro), houve aumento do número de células superficiais, ao passo que a maior descamação das células profundas do epitélio vaginal (parabasais) correspondeu às fases de formação e atividade do corpo lúteo (metaestro e diestro). Já no diestro houve decréscimo do número de células superficiais e aumento das parabasais e das intermediárias. Nas fases de diestro e anestro evidenciou-se

leucocitose, enquanto a presença de eritrócitos foi máxima na fase de proestro e decresceu lentamente nas fases seguintes.

17. Silva Filho O.R. & Real C.M. 1979. Prevalência de intersexualidade em *Capra hircus*, L. na zona da caatinga, Bahia, Brasil. [Prevalence of intersexuality in *Capra hircus*, L. raised in caatinga zone of Bahia, Brazil.] *Arqs Esc. Med. Vet. UFBA, Salvador*, 4 (1) : 11-28. EPABA, Av. Adhemar de Barros 967, Ondina, Cx. Postal 1222, Salvador, Bahia 40000.

Essa pesquisa envolveu 500 cabritas nativas, sem raça definida com idade variando de 01 a 60 dias, oriundas de 22 propriedades da caatinga do sertão baiano, municípios de Uauá, Curaçá, Juazeiro e Jaguarari, no Estado da Bahia. As cabritas foram examinadas e submetidas a mensurações da distância ano-genital e profundidade vaginal na tentativa de um diagnóstico precoce da ocorrência de anomalias genitais externas, objetivando detectar a prevalência de intersexualidade no rebanho caprino nordestino. Os resultados obtidos permitiram concluir que foi inexpressiva (7,8%) a ocorrência de cabritas mochas, atribuindo-se a esse fato, a inexistência de anomalias genitais externas e de qualquer outro indício de intersexualidade na população. Em cabritas nativas com 01 a 60 dias de idade, registrou-se um aumento proporcional da distância ano-genital (0,0103 cm/dia) em relação à idade, havendo também tendência de um acréscimo, na proporção de 2:1, da profundidade vaginal em relação à distância ano-genital.

18. Nunes V.A., Viana J.A.C., Nunes I.J., Carvalho A.U., Santos B.M., Ribeiro H.M. & Teixeira T. 1979. Doença periodontal ("Cara inchada") em bovinos no Estado de Goiás. I. Aspectos morfológicos. [Cattle periodontal disease ("Cara inchada") in Goiás State, Brazil. I. Morphological aspects.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(3):283-296. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Estudaram-se sete animais, com idade variando de sete a treze meses e provenientes do Estado de Goiás, todos acometidos da doença denominada vulgarmente "cara inchada", afecção periodontal de etiologia desconhecida, comumente observada nos Estados de Mato Grosso e Goiás, Brasil. Ao exame clínico, observaram-se abaulamentos na face, odor fétido na boca, perda dentária e cavidades alveolares alargadas e preenchidas por alimentos nos pontos de abaulamento da face. O exame radiológico revelou osteopenia generalizada, de intensidade maior ao nível dos alvéolos. Ao microscópio, os achados indicaram a existência de osteodistrofia fibrosa generalizada, causada por hiperparatireoidismo secundário nutricional em associação com osteoporose e hipotireoidismo. Assim, a "cara inchada", ou doença periodontal em bovinos, é parte de um quadro de alterações ósseas generalizadas, microscopicamente caracterizado por severa osteopenia, decorrente sobretudo de uma osteodistrofia fibrosa de origem nutricional.

ANATOMIA E FISIOLOGIA

19. Ferreira Neto J.M. 1979. Hemograma de suínos da raça Yorkshire do nascimento aos 15 meses de idade. [Yorkshire swine hemogram from birth to 15 months of

age.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):125-132. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Trabalhou-se com 57 suínos machos da raça Yorkshire do nascimento até a idade de 15 meses. Foi determinado o hemograma para estudar a influência do clima nestes animais comparados com parâmetros normais de seu país de origem. Os dados encontrados foram semelhantes aos encontrados na literatura. A análise estatística revelou uma equação quadrática para o volume globular com diminuição até 2,63, para segmentados com aumento até 4,67 e para linfócitos com aumento até 4,25 meses de idade.

20. Ferreira Neto J. M. & Vieira R.S. 1979. Proteína total e eletroforese de suínos da raça Yorkshire do nascimento até aos 15 meses de idade. [Serum total protein and electrophoresis of pigs from birth to fifteen months of age.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):133-139. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Foi feito um estudo das proteínas totais e de seu fracionamento eletroforético em 57 suínos da raça Yorkshire do nascimento até 15 meses de idade. Os resultados foram submetidos à análise estatística apresentando para proteínas totais uma equação quadrática com aumento até a idade de 13,78 meses. Para albumina também apresentou a mesma equação com aumento até 13,22 meses. Para os demais elementos estudados não houve alterações estatísticas significativas.

21. Cóser A.M.L., Godinho H. P. & Fonseca V.O. 1979. Efeitos de altas temperaturas sobre a espermatogênese de carneiros brancos deslanados em condições experimentais. [Effect of high temperatures on the spermatogenesis of the Brazilian white woolless sheep under experimental conditions.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31(2):147-154. Esc. Vet. UFMG, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Estudaram-se características físicas, morfológicas e bioquímicas do sêmen de carneiros brancos deslanados, antes e após o aquecimento local dos testículos a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ e acima de 43°C . O tratamento a 43°C , ou mais, induziu a um decréscimo na qualidade do sêmen, com as primeiras alterações aparecendo por volta do 15º dia e manifestando-se com maior intensidade entre o 25º e o 30º dia. As características seminais retornaram a normalidade aproximadamente no 60º dia. O tratamento a $40 \pm 1^\circ$, aparentemente, não teve efeito nocivo sobre a qualidade do sêmen, sugerindo que a espermatogênese em carneiros deslanados deve ser mais resistente aos efeitos adversos de altas temperaturas que em carneiros lanados.

TRATAMENTO DA TUBERCULOSE BOVINA COM ISONIAZIDA¹

JEROME LANGENEGGER², CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER² E JOÃO DE OLIVEIRA³

ABSTRACT. Langenegger J., Langenegger C.H. & Oliveira J. 1981. [Treatment of bovine tuberculosis with isoniazide.] Tratamento da tuberculose bovina com isoniazida. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):1-6. Projeto de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, RJ 23460 Brazil.

In a herd of 210 Holstein cattle, the intradermal tuberculin test revealed 149 positive reactors (70.9%). Tuberculosis was clinically evident in 21 animals (14.1%), the diagnosis being confirmed by both histology and the isolation of *Mycobacterium bovis*. The disease was treated with pure crystalized isoniazide, administered orally in doses of 25 mg/kg/day. The initial 60 doses were given on consecutive days and the remaining 60 doses three times a week on alternating days. During the medication, five clinically ill animals with advanced tuberculous lesions died, while the remaining sick animals recovered slowly. The efficacy of the therapeutic treatment was monitored for three years. Necropsy and bacteriological testing were done on 28 animals that died from other causes during the experimental period. Shrunken tuberculous lesions were found in eight of the animals necropsied, surrounded and invaded by an intense reaction of fibrous connective tissue. Direct culture and inoculation of suspect material into guinea pigs proved negative in all cases. Tuberculin testing, begun one month after the termination of the medication and continued at intervals of two, three and four month periods, permitted the accompaniment of the allergic desensitization over a period of 28 months. The mean of the increased thickness of the skin fold at the site of tuberculin inoculation of 149 animals was 7.5 mm before treatment with isoniazide and gradually fell to 1.4 mm by the end of the observations. At the termination of the experiment, only five animals showed reactions above 3 mm. Considering these animals and the five that died during medication as incured, the therapeutic efficacy of the treatment with isoniazide was 93.28%.

INDEX TERMS: Tuberculosis, cattle, therapy, therapeutic efficiency, isoniazide.

SINOPSE. Num rebanho de 210 bovinos de raça holandesa, a tuberculinização intradérmica revelou 149 reagentes positivos (70,9%). A tuberculose manifestou-se, por sintomas clínicos, em 21 animais (14,1%) e foi confirmada por exames anátomo-histopatológicos e pelo isolamento de *Mycobacterium bovis*. O tratamento da doença foi realizado com isoniazida pura cristalizada, administrada por via oral, em doses de 25 mg/kg/dia, sendo as primeiras 60 doses aplicadas em dias consecutivos e outras 60 em dias alternados, 3 vezes por semana. Durante a medicação morreram 5 bovinos dos clinicamente doentes e que eram portadores de lesões tuberculosas evoluídas; os demais recuperaram-se lentamente. A eficiência do tratamento terapêutico foi controlado durante 3 anos através de: a) exames necroscópicos e bacteriológicos de 28 animais que morreram por causas intercorrentes; em 8 bovinos necropsiados foram encontradas lesões tuberculosas encapilhadas, envoltas ou invadidas por intensa reação de tecido conjuntivo fibrótico; a cultura direta e a inoculação de material suspeito em cobaio foram negativas em todos os casos. b) tuberculinizações, a intervalos de 2, depois de 3 a 4 meses, iniciadas um mês após o término da medicação, que permitiram acompanhar a dessensibilização alérgica durante 2 anos e 4 meses. A média do aumento da espessura da dobra da pele no ponto de inoculação da tuberculina

dos 149 animais, que antes da medicação com isoniazida era de 7,5 mm, caiu progressivamente até 1,4 mm.

Na última havia apenas 5 bovinos com reações acima de 3 mm. Considerando estes e os 5 animais que morreram durante a medicação como não curados, a eficiência terapêutica da isoniazida foi de 93,28%.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Tuberculose bovina, terapia, eficiência terapêutica, isoniazida.

INTRODUÇÃO

O uso da isoniazida (hidrazida do ácido isonicotínico) no tratamento quimioterápico da tuberculose bovina teve início na Itália com o trabalho de Moretti e Pedini, publicado em 1952.

O medicamento foi administrado a bovinos com tuberculose evoluída, na razão de 4 mg/kg/dia, por via i.m. e por períodos de 30 a 60 dias. O resultado revelou melhora clínica, no entanto, na necropsia dos animais tratados persistiam as lesões. Observações semelhantes foram feitas, nos anos imediatos, por Mucci (1953), Matus e Pacheco (1953) e Sandro (1954).

O emprego de doses maiores, em torno de 10 mg/kg/dia e durante períodos mais longos de aplicação da isoniazida, proporcionou resultados mais animadores. Nai e Crespi (1958), Kleeberg (1959), Nai e Perini (1960) e Cerruti et al. (1961, 1962) observaram, além da melhora clínica, gradual dessensibilização alérgica, durante e depois da medicação, de até 75% dos animais tratados. Alguns dos animais aparentemente curados voltaram a ser reagentes positivos. Kleeberg (1959) comprovou, por exames anátomo-histopa-

¹ Aceito para publicação em 30 de julho de 1980.

² Pesquisador do Projeto de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

³ Fazenda Campo Verde, Município de Barbacena, Minas Gerais.

tológicos e bacteriológicos, cura de cerca de 50% dos animais tratados.

Os resultados do tratamento terapêutico e profilático obtidos durante a primeira década foram analisados em 1964 por Langenegger que salientou apresentarem eles, nesta fase inicial, grandes restrições para aplicação prática no combate da tuberculose bovina.

Na África do Sul, no entanto, Kleeberg (1963, 1966, 1967a,b), Kleeberg e Weyland (1961), Kleeberg e Worthington (1963) e Kleeberg et al. (1966) ampliaram os estudos sobre vários aspectos da posologia da isoniazida em bovinos, aplicaram, em larga escala, o tratamento em rebanhos altamente infectados e desenvolveram metodologia prática para o combate da tuberculose em áreas de alta prevalência, de cujos resultados cumpre destacar:

a) obtenção de melhores resultados com doses diárias de 20 mg/kg durante os primeiros 4 meses e de 10 mg/kg nos 3 meses subsequentes do que doses menores e durante mais tempo; a administração da isoniazida pura, finamente cristalizada, por via oral, tornou-se mais prática e o nível terapêutico do sangue persiste por mais de 18 horas;

b) a aplicação da isoniazida por períodos de 7 a 8 meses permitiu a cura bacteriológica de 75% dos casos; nos demais, as amostras de *Mycobacterium bovis* isoladas eram resistentes à isoniazida, com exceção de apenas 3%, consideradas patogênicas. Foi comprovado experimentalmente que as amostras resistentes são pouco patogênicas para bovinos, o que parece indicar que o organismo hospedeiro pode eliminar estas formas resistentes após o tratamento;

c) a dessensibilização alérgica gradual observada nos animais após o período da administração da isoniazida traduz alto índice de correlação com a cura da tuberculose;

d) os maiores índices de cura da tuberculose bovina (até 90%) foram obtidos em fazendas nas quais os proprietários colaboravam eficientemente na administração do medicamento, na eliminação dos animais com tuberculose clinicamente muito evoluída e dos casos com mastite e na observação de medidas higiênicas e sanitárias gerais;

e) nas fazendas em que não há possibilidade de isolar os animais infectados, o tratamento profilático, com 10 mg/kg/dia, durante 90 dias, dos animais negativos, permite mantê-los em promiscuidade com os tuberculosos durante o tratamento da doença;

f) quimioterapia e a quimioprofilaxia com o uso da isoniazida, nas condições acima estabelecidas, podem substituir com vantagem o combate da tuberculose pelo método da vacinação e pelo da separação com eliminação dos reagentes, em áreas de alta incidência.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência terapêutica da isoniazida, em rebanhos de alto valor zootécnico do qual não seria permitido eliminar qualquer animal antes, durante e após a medicação.

MATERIAL E MÉTODOS

O tratamento da tuberculose bovina com isoniazida (hidrazida do ácido isonicotínico) foi realizado num rebanho bovino da raça holandesa, de alto valor zootécnico, mantido em semi estabulação, na "região da mata", no sul do Estado de Minas Gerais.

No início do tratamento, em 15.1.73, o rebanho contava com 210 animais, sendo 6 reprodutores, 118 vacas, 29 novilhas e 57 bezerros, dos quais 70,9% estavam contaminados pela tuberculose. A incidência da doença sobre as várias categorias pode ser visto no Quadro 1.

O diagnóstico da tuberculose no rebanho foi firmado com base nos sintomas clínicos, necropsia de animais doentes,

Quadro 1. Prevalência de tuberculose no rebanho antes do tratamento

Categorias	Nº de bovinos	Nº de positivos	%	Nº de negativos	%
Reprodutores	6	4	66,6	2	33,3
Vacas	118	111	94,0	7	6,0
Novilhas	29	15	51,7	14	48,2
Bezerros	57	19	33,3	38	66,6
	210	149	70,9	61	29,0

tes, isolamento e identificação do *Mycobacterium bovis*; individualmente, pela tuberculinização intradérmica, na região do omoplata, anterior e posteriormente à espinha acromiana, com tuberculina bovina PPD contendo 50.000 UI/ml (5.000 UI/dose) e tuberculina aviária PPD com a concentração de 25.000 UI/ml (2.500 UI/dose) para excluir reações inespecíficas.

A espessura da dobra da pele antes da tuberculinização e as reações alérgicas após 72 horas eram mensuradas com paquímetro da marca Hauptner⁴. A inoculação da tuberculina foi feita com seringa automática da marca McLintock⁵.

Na interpretação das reações era avaliada a sensibilidade dolorosa do local da inoculação, registrando o aspecto da tumefação edematosa e mensurado o aumento da espessura da dobra da pele. Respeitadas as características mencionadas, as reações eram consideradas negativas quando o aumento não atingia a 1,5 mm, suspeito entre 1,5 e 2,9 mm e positivo quando era igual ou superior a 3,0 mm. A reação à tuberculina aviária, quando igual ou maior do que a da bovina, era interpretada como sensibilização alérgica inespecífica.

Foi utilizada isoniazida pura, finamente cristalizada, adquirida em barricas de 50 kg⁶, administrada aos bovinos por via oral na razão de aproximadamente 25 mg/kg de peso vivo, sendo 60 doses iniciais em dias consecutivos e mais 60 doses, em dias alternados, durante 20 semanas. Para facilitar a dosificação (medicação), os animais foram pesados e agrupados em lotes com variação de peso corporal de 40 kg. Em cada lote, todos os animais recebiam a mesma quantidade de isoniazida. Isto fazia variar de 23 a 26 mg/kg de peso vivo a dose, conforme exemplifica o Quadro 2.

A dose diária de isoniazida era misturada em cerca de 1 kg de ração concentrada e assim fornecida a cada animal. Observou-se que 8% dos animais recusaram ingerir espontaneamente a mistura do medicamento com a ração, alguns apenas temporariamente. Nestes casos, a dose de isoniazida era fornecida diretamente na boca do animal, que a deglutia enquanto era mantida elevada sua cabeça.

Mensalmente os animais eram repesados e redistribuídos em lotes para corrigir a posologia.

A eficiência do tratamento da tuberculose com a isoniazida foi acompanhada e controlada por:

a) observações clínicas dos animais doentes: foram registrados a frequência da tosse, o aumento ponderal, o apetite, o aspecto do pelo e a regressão de lesões ganglionares;

⁴ H. Hauptner, Solingen, Alemanha Ocidental.

⁵ C.J. Hewlett & Son LTD, Watford, Herts, Inglaterra.

⁶ Farbenfabriken Bayer-Leverkusen, Alemanha Ocidental.

TRATAMENTO DA TUBERCULOSE BOVINA COM ISONIAZIDA

Quadro 2. *Variação da dose de isoniazida para os animais de cada lote tratado*

Limite de peso para agrupamento dos animais em lotes	Dose diária de isoniazida (g)	Variação da dose de isoniazida (mg/kg peso)
301 – 340	8	23,3 – 26,6
341 – 380	9	23,6 – 26,4
381 – 420	10	23,8 – 26,4
421 – 460	11	23,9 – 26,1
461 – 500	12	24,0 – 26,0
501 – 540	13	24,0 – 26,0
541 – 580	14	24,1 – 25,9
581 – 620	15	24,2 – 25,8

b) exame bacteriológico do leite⁷: após o período da medicação foi coletada uma amostra composta de leite dos 4 quartos de cada vaca em lactação e posteriormente das outras, à medida que entravam em nova lactação; o sedimento do centrifugado foi submetido a exame microscópico em esfregaços corados pelo Ziehl-Neelsen, semeado em meio de Löwenstein sem glicerina e sem aeração e inoculado por via i.m. em cobaios, após descontaminação com solução de ácido sulfúrico a 6%;

c) controle da sensibilidade alérgica: a partir de um mês após o término da administração da isoniazida, foram feitas 11 tuberculizações durante o período de 28 meses de controle, inicialmente com espaços de 2 meses, depois com intervalos maiores, como mostra o Quadro 4;

d) necropsia de bovinos tratados: de julho de 1973 até dezembro de 1975, isto é, após o término da medicação, foram necropsia-

⁷ O exame bacteriológico do leite não pôde ser feito antes do tratamento por falta de tempo e condições materiais.

dos 28 bovinos que morreram por várias causas intercorrentes; lesões suspeitas de tuberculose foram submetidas aos exames histopatológicos, bacteriológico e biológico com o intuito de comprovar ou excluir a infecção por *Mycobacterium bovis*.

RESULTADOS

O rebanho bovino, no início do tratamento, contava com 149 animais reagentes positivos ao teste da tuberculinização, com maior frequência nas vacas, como mostra o Quadro 1.

Dos 149 bovinos reagentes, 21 (14,1%) apresentavam sintomas clínicos denunciando a infecção tuberculosa. Mais frequentemente foi observada a tosse crônica seca em animais ainda em bom estado de nutrição, mas também em outros, em que se evidenciava a progressiva emaciação, com pêlos mal acamados, ásperos e sem brilho. Neste grupo de animais se encontravam as 5 vacas que apresentavam dificuldade respiratória, linfadenomegalia, inapetência e apatia geral, uma delas com mastite crônica fibrosa, que morreram durante o período da medicação. A necropsia destas confirmou lesões pulmonares extensas, em uma com pleuriz e em duas metástases em vários órgãos, inclusivamente no úbere. O Quadro 3 mostra os resultados dos exames laboratoriais.

A eficácia do tratamento da tuberculose dos 149 bovinos com isoniazida foi avaliada pelos critérios indicados em seguida, na impossibilidade de serem os animais sacrificados no final do tratamento:

a) *Resposta clínica*. Excetuando-se dos 21 bovinos clinicamente doentes, os 5 que morreram durante o tratamento por causa dos processos tuberculosos muito evoluídos, os outros apresentaram nítida recuperação física e progressiva diminuição da tosse nos primeiros 60 dias de tratamento. No final da medicação não foram encontrados animais clinicamente doentes.

b) *Controle bacteriológico do leite*. Após o término do tratamento, o exame bacteriológico, complementado pela inoculação do sedimento da amostra composta de leite de cada vaca em cobaios, não possibilitou isolar nenhuma amostra de *Mycobacterium bovis*, nem reproduzir a tuberculose nos cobaios.

Quadro 3. *Resultado do exame de vacas doentes que morreram durante o tratamento*

Nome das vacas	Dias após início da medicação	Localização da tuberculose	Resultado dos exames		
			Microscópico	Bacteriológico	Biológico (cobaio)
Toby	2	Tbc generalizada	+	+	+
Mimi	22	Tbc pulmonar bilateral	+	+	+
Meka	43	Tbc generalizada	+	+ R	—
Sal	51	Tbc pulmonar	+	+ R	—
Fräulein	90	Tbc pulmonar, pleuriz	—	—	—

+ R = Culturas de *M. bovis* resistentes à isoniazida, não patogênicas para cobaios.

Quadro 4. Resultados do tratamento dos bovinos com isoniazida

Número de bovinos	Data da tuberculinização	Período após início da medicação	Média de aumento de espessura da pele (mm)	% de bovinos com reações negativas
149	15.01.73	0,0 ^(a)	7,5	0,0
136 ^(b)	5.08.73	7,5 (meses)	5,4	15,4
138	8.10.73	9,5 (meses)	4,4	32,6
138	10.12.73	11,5 (meses)	3,3	52,9
135	11.02.74	13,5 (meses)	2,5	68,8
131	29.04.74	15,5 (meses)	2,2	74,0
129	15.07.74	18,0 (meses)	1,9	79,0
128	4.10.74	21,0 (meses)	1,8	89,0
124	17.01.75	24,0 (meses)	1,8	84,0
114	24.05.75	27,0 (meses)	2,0	79,9
110	19.07.75	30,0 (meses)	2,0	82,8
107	28.11.75	34,0 (meses)	1,4	95,4

(a) Início do tratamento com isoniazida.

(b) Sete vacas não puderam ser tuberculinizadas nesta oportunidade.

c) *Controle de sensibilidade alérgica.* Antes do tratamento, a tuberculinização dos 149 animais reagentes revelou reações alérgicas com aumento médio de 7,5 mm na espessura da dobra da pele no ponto de inoculação da tuberculina.

Trinta dias após o término da série de 120 aplicações de isoniazida, a tuberculinização revelou que em 15,4% dos animais o aumento da espessura da pele era inferior a 3 mm, limite da reação positiva, e que 84,5% ainda apresentavam reações positivas. O aumento médio era de 5,4 mm.

Dentre os reagentes positivos, 18,3% dos animais revelaram reações maiores que as demonstradas na tuberculinização inicial, antes do tratamento.

Nas tuberculinizações subsequentes verificou-se gradual dessensibilização como se verifica no Quadro 4 e Fig. 1. A dessensibilização não era uniforme, observando-se, de quando em vez, em cerca de 20% dos animais, fazes em que as reações eram temporariamente maiores do que as anteriores ou passavam de negativas para positivas. A curva da Fig. 2 reflete em conjunto esta oscilação. Em alguns animais as reações diminuíam rapidamente enquanto que em outros a dessensibilização foi muito lenta.

Na última tuberculinização, realizada 34 meses após o início do tratamento, verificou-se que a média do aumento da espessura

da pele acusou apenas 1,4 mm e que apenas 5 (4,5%) animais ainda apresentavam reações iguais ou superiores a 3 mm.

d) *Exames necroscópicos.* Dado o valor zootécnico do rebanho, não foi possível sacrificar *ad libitum* os bovinos tratados para a comprovação da eficiência da isoniazida logo após o término do tratamento. No entanto, puderam ser examinados anátomo-patologicamente e bacteriologicamente 28 (18,7%) animais que morreram por causas intercorrentes durante o período de julho de 1973, após o término da medicação, a dezembro de 1975.

Em apenas 8 destes bovinos foram encontrados macroscopicamente restos de lesões tuberculosas encarquilhadas, envoltas ou invadidas por intensa reação do tecido conjuntivo fibrótico, formando cápsulas, traves ou trabéculas. A cultura em meios adequados e a inoculação do material suspeito em cobaias não permitiram obter crescimento de *Mycobacterium bovis* nem a produção de lesões tuberculosas nos animais de experimentação.

Nos demais bovinos necropsiados não puderam ser evidenciadas mais lesões ou vestígios que lembrassem as da tuberculose.

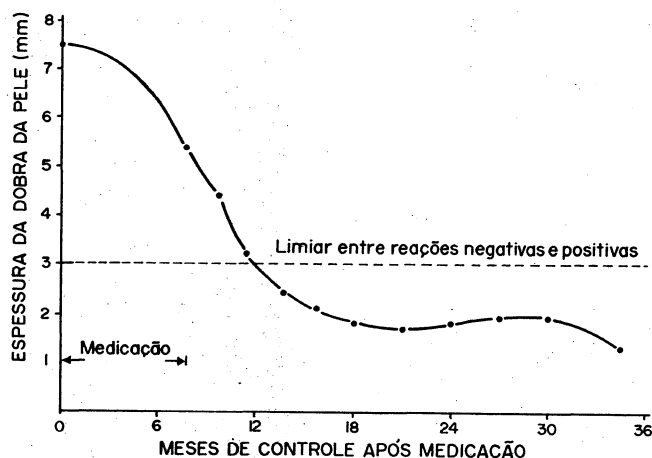


Fig. 1. Declínio médio da sensibilidade alérgica nos bovinos após o tratamento da tuberculose com isoniazida.

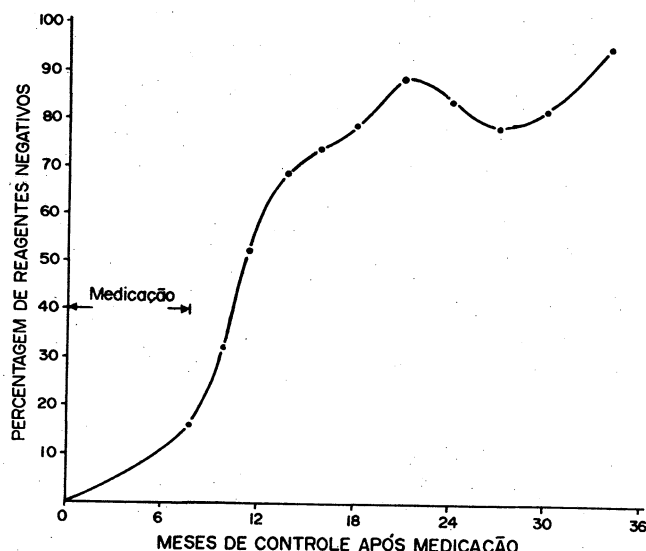


Fig. 2. Percentual de bovinos que se tornaram reagentes negativos após a medicação com isoniazida.

Considerando os 5 reagentes positivos do último controle pela tuberculinização e os 5 animais que morreram no início do tratamento como casos não curados, a eficiência terapêutica da isoniazida foi de 93,28%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A posologia preconizada previu medicação inicial mais intensa, com doses em torno de 25 mg/kg/dia, com duração de apenas 60 dias. Esta modificação em relação à posologia indicada por Kleeberg (1967b) se justifica considerando-se que:

a) o limiar da toxicidade da isoniazida pura cristalizada, administrada por via oral, está em torno de 30 mg/kg/dia; sintomas neurotóxicos e ataxias locomotoras se tornam regulares com doses de 60 a 70 mg, como demonstraram Kleeberg et al. (1966) e Kleeberg (1967b); com 25 mg ficou assegurada boa margem de tolerância; o aumento da dose permitiu também reduzir o período de aplicação; o limite de 60 dias foi adotado arbitrariamente, embora haja evidências de que a dose de 25 mg permite obter níveis sanguíneos e tissulares (Kleeberg & Weyland 1961), de ação bacteriostática, inibindo a síntese do ADN do *M. bovis* e consequentemente sua vitalidade (McClatchy, 1971) no período de 60 dias. Kleeberg (1967b) demonstrou que, em animais tratados com doses de 10 a 20 mg/kg/dia, durante 2 a 3 meses, apenas em 30% dos casos conseguiu isolar germes patogênicos (não resistentes à isoniazida); com doses de 25 mg de se supor que haja maior índice de inativação das micobactérias durante os 60 dias;

b) o rescaldo com doses de 25 mg/kg/dia, administradas em dias alternados, 3 vezes por semana, durante 20 semanas, ao invés de 10 mg em dias consecutivos, faz com que as micobactérias ainda viáveis sofram a ação intermitente de taxas altas seguidas de curtos períodos de baixa concentração da isoniazida; os resultados do presente trabalho mostram que o tratamento mais intensivo inicial complementado pelo rescaldo assim aplicado revelou bom efeito;

c) a modificação da posologia ainda se justifica por ser mais econômica; uma vaca com 500 kg necessita de 1.500 g, ao passo que pelo esquema utilizado por Kleeberg (1967b) seriam necessários 1.700 g para obter resultados não superiores.

A análise do declínio da sensibilidade alérgica obtida por 1 tuberculinizações após o término da medicação (Quadro 1 e Fig. 1) mostra que durante o primeiro ano houve acentuada queda das reações e que, no segundo ano, esta continuava porém muito mais lentamente. No início do terceiro ano pós-tratamento surgiu ligeira elevação da média das reações, por razões desconhecidas.

Durante o período da medicação não foi traçada a curva pois as tuberculinizações nesta fase podem revelar falsas reações negativas e ocasionalmente também provocar respostas hiperalérgicas (Cerruti & Quesada 1964, Gianinni & Dotta 1970). Neste período, a sensibilidade alérgica caiu de 7,5 mm para 5,4 mm, mas apenas 15,4% dos animais apresentaram reações inferiores a 3 mm, limiar da positividade em relação à tuberculina usada. Por outro lado, verificou-se que no final do período da medicação (7,5 meses após o início do tratamento) 18,3% dos animais apresentavam reações maiores do que as registradas na tuberculinização inicial. Parecia, à primeira vista, que estes animais não estariam curados, no entanto, nos meses seguintes houve rápido declínio. Este fenômeno pode estar relacionado com a descoberta e remoção por fagocitose de germes mortos ou resistentes à isoniazida, encontrados na lesão tuberculosa, na fase de reabsorção das massas caseo-calcárias pelo organismo animal, e cujo contato reestimularia a sensibilidade alérgica.

O controle do declínio da sensibilidade alérgica demonstrou que somente no período entre 12 e 18 meses após o início do tratamento, as reações se tornaram inferiores a

3,0 mm na maioria dos animais. Se dois exames negativos consecutivos, com intervalo de 6 meses, asseguram a cura (Kleeberg 1967b), conclui-se que o tratamento da tuberculose requer um período mínimo de 18 a 24 meses, incluindo a medicação propriamente dita e o controle da sensibilidade alérgica pela tuberculinização de 6 em 6 meses.

Os animais que ao cabo de 2 anos ainda apresentam reações positivas fracas, até o aumento de 5 mm, devem ser mantidos isolados e sob observação durante mais um ano. Os reagentes fortes deveriam ser eliminados.

Como medidas complementares no tratamento da tuberculose recomenda-se a separação dos animais doentes, de preferência em local afastado. Na fazenda em que foi realizado o presente trabalho foram afastados da sede os animais negativos. Os bezerros foram alimentados com leite pasteurizado aproveitando-se o laticínio da fazenda. A isoniazida eliminada no leite não atinge concentração terapêuticas e além disso é inativada pela pasteurização (Kleeberg et al. 1961). Os bezerros nascidos das vacas infectadas, durante o tratamento e depois dele, permaneciam com a mãe durante os primeiros três dias de vida para melhor aproveitamento do colostro e depois eram transferidos para o rebanho onde neque crescia rapidamente sem registrar nenhum caso de tuberculose durante os três anos de controle. Este consistia em tuberculinizações de todos os animais incluindo os recém-nascidos, inicialmente de dois em dois meses e depois a intervalos maiores. As pesquisas de Kleeberg (1966) mostraram que, na impossibilidade de haver condições para a separação dos doentes, estes poderão permanecer no estábulo, desde que os animais negativos recebam tratamento profilático de 10 mg/kg/dia de isoniazida durante um período de 90 dias, a partir do início do tratamento dos animais infectados.

Recomenda-se ainda que durante o tratamento sejam adotadas medidas higiênicas mais rigorosas tais como, particularmente, efetuar desinfecções semanais dos comedouros, evitar o uso dos bebedouros coletivos comunicantes, manter os animais nos mesmos lugares no estábulo; examinar cães e gatos que tiverem acesso ou foram alimentados com leite antes do início do tratamento, evitar a entrada e saída de animais do rebanho durante o tratamento da tuberculose.

Seria de interesse para as autoridades sanitárias que a venda da isoniazida fosse condicionada à prescrição do médico veterinário e que o tratamento de animais tuberculosos em fazendas fosse acompanhado por sanitaristas dos serviços oficiais.

REFERÊNCIAS

- Cerruti C.G., Quesada A. & Corcione B. 1961. Sull'attività dell'idrazide dell'acido isonicotinico (I.N.I.) nella infezione tubercolare bovina. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 15:775-786.
- Cerruti C.G., Quesada A. & Corcione B. 1962. Ulteriori indagini sull'attività dell'idrazide dell'acido isonicotinico (I.N.I.) nella infezione tubercolare bovina in campo pratico. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 16:513-522.
- Cerruti C.G. & Quesada A. 1964. Reazioni precocissime alla tubercolina in bovini sottoposti a trattamento con idrazide dell'acido isonicotinico (I.N.I.). Zooprofilassi 19:605-620.
- Gianinni C. & Dotta U. 1970. [Influence of isoniazid used as a loading test upon the allergic reaction of cattle to tuberculin.] Atti Soc. Ital. Buiatria 2:588-595. (Vet. Bull. 41, Abstr. nº 2776)
- Kleeberg H.H. 1959. The treatment of tuberculosis in man and animals with isoniazid. Preliminary report. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 30:69-73.

- Kleeberg H.H. 1963. Eradication of bovine tuberculosis. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 34:393-398.
- Kleeberg H.H. 1966. Chemotherapy and chemoprophylaxis of tuberculosis in cattle. Adv. Tuberc. Res. 15:189-269.
- Kleeberg H.H. 1967a. The use of chemotherapeutic agents in animals tuberculosis. Veterinarian, Oxford, 4:197-211.
- Kleeberg H.H. 1967b. La quimioterapia, nuevo recurso para la erradicación de la tuberculosis bovina. Noticias Medico Veterinarias, Bayer Leverkusen, 2/3:128-145.
- Kleeberg H.H., Gericke J.J. & Weyland H. 1961. The excretion and stability of isoniazid in cows milk. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 32:77-83.
- Kleeberg H.H. & Weyland H. 1961. Isoniazid administration and blood level in cattle. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 32:349-353.
- Kleeberg H.H. & Worthington R. W. 1963. A modern approach to the control of bovine tuberculosis. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 34:383-391.
- Kleeberg H.H., Nixon R.C. & Worthington R.W. 1966. Evaluation of isoniazid in the field control of bovine tuberculosis. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 37:219-228.
- Langenegger J. 1964. Considerações sobre o emprego da isoniazida no tratamento da tuberculose bovina. Biológico, S. Paulo, 30: 251-261.
- Matus M.P. & Pacheco E.P. 1953. La hidrazida del ácido isonicotínico en los bovinos reaccionantes a la tuberculina. Proc. VI Congr. Int. Microbiol., Rome, vol 1, p. 297-298.
- McClatchy J.K. 1971. Mechanism of action of isoniazid on *Mycobacterium bovis* strain BCG. Infection & Immunity 3:530-534.
- Moretti B. & Pedini B. 1952. Primi rilievi sul trattamento, con idrazide dell'ácido isonicotinico, de forme acute di tubercolosi bovina. Nuova Vet. 28:345-351, 390-396.
- Mucci G. 1953. Considerazioni i rilievi clinici sull'applicazione dell'idrazide iso-nicotinico nella tubercolosi bovina. Zootecnica Vet. 8:278-283.
- Nai D.D. & Crespi A. 1958. Sulla negativizzazione della reazione tubercolinica nei bovini trattati con isoniazide. Atti. Soc. Ital. Sci. Vet. 12:640-643.
- Nai D.D. & Perini G. 1960. Ulteriori osservazioni sulla negativizzazione allergica dei bovini tubercolino-positivi trattati con isoniazide. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 14:612-616.
- Sandro C. 1954. La cura dei bovini tubercolotici con la idrazide dell'ácido iso-nicotinico, unita a sali di calcio e di magnesio. Clin. Vet., Milano, 77:79-89.

INTOXICAÇÃO POR *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) EM BOVINOS EM RORAIMA¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA² E JÜRGEN DÖBEREINER³

ABSTRACT. Tokarnia C.H. & Dobereiner J. 1981. [Poisoning of cattle by *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) in Roraima, northern Brazil.] Intoxicação por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em bovinos em Roraima. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):7-17. Departamento de Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460, Brasil.

The cause of "sudden death" in cattle in Roraima, northern Brazil, was investigated. These deaths, amounting to 1000-1500 annually, mainly occur when cattle are exercised; they are observed in farms of the "lavrado" region, situated along the large rivers of the area, specially rio Branco, Tacutu and Mucajaí, and less frequently the Uraricoera and Surumu rivers.

Observations in the region and feeding trials in cattle identified *Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum. as the cause of "sudden death". The fresh sprouts of the plant were given orally to 11 bovines in amounts that varied from 1.25 to 20 g of the plant per kilogram of body-weight. The amount of the plant necessary to cause death varied considerably; 10 g/kg always caused the death of the animals, but smaller doses down to 1.25 g/kg still caused the death of some. The first symptoms of poisoning were observed between 6 hours and 15 minutes and 22 hours and 10 minutes after the administration of the plant. Two of the four animals, which had eaten amounts of 10 g/kg or more, died of "sudden death" without having been exercised. The animals which had received smaller amounts, were driven between 18 and 22 hours after ingestion of the plant, and died suddenly after 1 to 45 minutes of exercise. The clinical signs lasted from 1 to 8 minutes; they were swaying gait, muscular tremors, loss of stability and falling to the ground, peddling movements with the legs, sometimes moaning and intensive closing of the eyelids, and death. Post-mortem examinations were negative. Histopathologically there was hydropic vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules in the kidney; this was seen in six of the eight animals which died due to the ingestion of the fresh plant material.

Dried sprouts, given 3 and 6 months after they had been collected, had lost about half of their toxicity. The plant had no cumulative effects and did not induce tolerance. Mature leaves were also toxic.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Arrabidaea japurensis*, *Bignoniaceae*, plant poisoning, cattle, pathology.

SINOPSE. Foi investigada no Território de Roraima a causa de "mortes súbitas" em bovinos, que ocorrem principalmente quando eles são movimentados. Essas mortes são observadas em fazendas da região do "lavrado", situadas nas margens dos grandes rios, especialmente dos rios Branco, Tacutu e Mucajaí, sendo sua incidência menor nas margens dos rios Uraricoera e Surumu.

Como causa das "mortes súbitas" foi identificada, através da experimentação em bovinos e das observações feitas na região, *Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum., planta da família *Bignoniaceae*. A brotação recém-colhida foi administrada por via oral a onze bovinos em quantidades que variaram de 1,25 a 20 g da planta por quilograma de peso do animal. A dose que causou a morte foi bastante variável; 10 g/kg sempre causaram a morte dos animais, enquanto que quantidades decrescentes até 1,25 g/kg, ainda causa-

ram a morte de parte dos bovinos. Os primeiros sintomas de intoxicação foram observados de 6 horas 15 min. a 22 horas 10 min. após a ingestão da planta. Dois dos quatro animais que ingeriram 10 g/kg ou mais da planta morreram de "morte súbita" sem terem sido exercitados. Os animais que ingeriram menos que 10 g/kg, foram movimentados 15 horas 37 min. a 22 horas após a ingestão da planta e morreram "subitamente" após 1 a 45 minutos de exercício. A duração dos sintomas, nos animais que morreram, variou de 1 a 8 minutos. Esses sintomas foram andar cambaleante, tremores musculares, súbita perda de equilíbrio com queda do animal, ficando este logo em decúbito lateral, movimentos de pedalagem, às vezes berros e cerramento forte das pálpebras, morte. Além destes sintomas vistos nos animais que morreram, foram observados nestes, bem como naqueles que adoeceram mas não morreram, quando tocados, relutância em correr ou andar, o animal freqüentemente se deitando, micções e defecações freqüentes, dispnéia, taquicardia e pulso venoso positivo. Os achados de necropsia foram praticamente negativos. Os exames histopatológicos revelaram, como lesão que mais chamou a atenção, em seis dos oito animais que morreram em virtude da ingestão da planta fresca recém-colhida, nítida degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais.

¹ Aceito para publicação em 29 de agosto de 1980.

² Docente do Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, e bolsista do CNPq (1111.5010/76).

³ Pesquisador do Projeto de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

A brotação dessecada, administrada 3 e 6 meses após a coleta, também era tóxica, porém tinha perdido aproximadamente metade de sua toxicidade. As folhas maduras dessecadas mostraram possuir metade da toxidez da brotação. Nos cinco bovinos que morreram nos experimentos com a planta dessecada, não foi encontrada a degeneração hidrópico-vacuolar no rim. A experimentação revelou que a planta não possui efeito acumulativo, e também que pela ingestão repetida de quantidades subletais os animais não adquirem tolerância aos seus efeitos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Arrabidaea japurensis*, *Bignoniaceae*, intoxicação por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

No Território de Roraima ocorrem em determinadas regiões, com incidência bastante elevada, "mortes súbitas" em bovinos, principalmente na época da seca (novembro a abril) e quando os animais são movimentados.

Essas mortes se dão somente em fazendas da região do "lavrado", banhadas pelos grandes rios, especialmente os rios Branco, Tacutu e Mucajá, com incidência menor nas fazendas ao longo dos rios Uraricoera e Surumu; avaliações feitas por veterinários e criadores de Roraima indicam que anualmente morrem entre 1.000 a 1.500 bovinos de "morte súbita". Nestas mesmas regiões são ainda encontrados mortos muitos bovinos que não foram movimentados, e parte dos criadores atribui essas mortes a picadas de cobra; outros, porém, duvidam desta afirmativa em virtude do número excessivo de mortes em relação à quantidade de cobras que se vê. O problema é antigo e desvaloriza bastante as fazendas onde existe, e qualquer movimentação de gado, por motivos de manejo ou para vacinação, é feita sempre com grande apreensão.

As "mortes súbitas" são atribuídas pela maioria dos criadores a uma planta localmente chamada de "tingui". Essa planta foi identificada como *Coutoubea ramosa* Aubl., da família *Gentianaceae*. Não encontramos na literatura dados sobre sua toxidez. Experimentos realizados inicialmente com *C. ramosa*, e relatados à parte (Tokarnia & Döbereiner 1981), mostraram que essa planta realmente é tóxica para bovinos, porém, produz um quadro clínico diverso daquele

a ela atribuído. Não causou "morte súbita", mas sim, um quadro com manifestações de dores abdominais (cólicas), anorexia e finalmente morte, com evolução de 12 a 24 horas. Desta maneira, a planta não pode ser responsabilizada pelas "mortes súbitas", apesar de sua distribuição nas fazendas por nós visitadas coincidir aproximadamente com a ocorrência das "mortes súbitas" em bovinos; mas havia algumas exceções, o que fazia com que vários criadores suspeitassem que as "mortes súbitas" não eram causadas pelo "tingui".

Em vista do exposto, principalmente pelo quadro de intoxicação diferente provocado por *C. ramosa* em nossos experimentos, procuramos outra planta a que pudessem ser atribuídas as "mortes súbitas". Nas fazendas que visitamos na região, não encontramos nenhuma das plantas tóxicas conhecidas no Brasil como causadoras de "mortes súbitas" em bovinos. Percorrendo as áreas de onde provinham o gado que morre de "morte súbita", chamou nossa atenção um arbusto escandente com bastante brotação, posteriormente identificado como *Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum., da família *Bignoniaceae*.

A revisão bibliográfica revelou ausência de dados sobre a toxicidade de *A. japurensis*; mostrou, porém, que se conheciam duas plantas tóxicas para bovinos entre as bignoniáceas, ambas causando "morte súbita": *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl., responsável por "mortes súbitas" em bovinos no Estado do Rio de Janeiro, nos municípios de Vassouras e Saquarema (Mello & Fernandes 1941, Tokarnia et al. 1969), e *Adenocalymma bilabiatum* (Sprague) Sandw., identificada como causa de "mortes súbitas" em bovinos criados nas margens do Rio Orinoco e algumas partes de seus afluentes na Venezuela (Cortes 1969/71).

Para verificar se *Arrabidaea japurensis* era a causa das mortandades nas regiões indicadas de Roraima, foi realizado o presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo consistiu, em primeiro lugar, na administração oral, a bovinos jovens desmamados de até dois anos de idade, em quantidades com peso conhecido, da brotação (brotos roxos e folhas verdes tenras) fresca recém-coletada de *Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum.⁴ (Fig. 1 a 5) da família *Bignoniaceae*. A planta foi administrada aos bovinos inicialmente em doses elevadas, e depois em doses decrescentes de 20 a 1,25 gramas da planta por quilograma de peso do animal. Os bovinos eram mantidos em curral e observados durante a maior parte do dia. Capim e água eram dados à vontade. Aproximadamente 15 a 22 horas após a ingestão da planta, os bovinos eram tocados, a pé ou a cavalo, durante períodos variáveis (até morrer ou então durante 30 a 55 minutos). Nos casos de morte foi realizada a necropsia, complementada por exames histopatológicos de fragmentos dos órgãos das cavidades torácica e abdominal, bem como do sistema nervoso central. Esses fragmentos foram fixados em formol a 10% e corados pela hematoxilina-eosina.

Nos casos de alterações microscópicas de vacuolização nos rins, fragmentos desses órgãos, após corte de congelamento, foram tratados pelo Sudan III.

⁴ Material botânico RB 173.990 e 173.991 (Döb/Tok. n.ºs 1093 e 1098). Identificação botânica da planta feita pela Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, que também forneceu a descrição botânica.

Arrabidaea japurensis (DC.) Bur. & K. Schum. — Descrição de acordo com Flora Bras. 18 (2):65. 1896.

Liana com ramos mais ou menos robustos, cilíndricos, lisos ou estriados, glabros; folhas ternadas, com pecíolo levemente aplanado na parte superior, não canaliculado; lâmina de oblonga e ovado-oblonga, penínervia, papirácea, com ápice obtuso ou agudo, muito variável no tamanho, glabras; racemos curtos, axilares, pauciflores; cálice alongado, tubuloso, antes da antese fechado, mais tarde aberto unilateralmente, espatáceo, ou bilobado; corola alva, infundibuliforme, com lobos arredondados, com uma faixa de pêlos localizada na parte interna, abaixo da inserção dos estames; filetes longos, glabros; anteras com lóculos divergentes; disco sólido, contornando o ovário súpero, bilocular, com óvulos dispostos em duas séries; estilo longo, bilamelado no ápice; cápsula linear, comprimida, septifraga, com valvas planas, coriáceas percorridas por nervura mediana; sementes aladas, com ala membranácea, truncada.



Fig. 1. *Arrabidaea japurensis* numa clareira de mata na margem do Rio Tacutu, Roraima, no mês de fevereiro, época de seca.

Posteriormente foram realizados, igualmente em bovinos jovens desmamados, experimentos em que a planta dessecada foi administrada, em doses únicas, por via oral, 3 e 6 meses após sua coleta, para verificar se ela mantém a toxicidade. Verificada sua toxicidade também em estado dessecado, foram administradas a dois bezerros quantidades correspondentes a 1/10 e 1/20 da dose letal, diariamente, até completar três vezes a dose letal, com o fim de verificar se a planta possui efeito acumulativo ou se causa um quadro de intoxicação crônica; como nesses experimentos os bezerros não adoeceram, finalmente a esses mesmos bezerros foi administrada de uma só vez a dose letal da planta, para verificar se sua administração prolongada tinha provocado desenvolvimento de tolerância.

Ainda foram feitos experimentos com folhas maduras de *A. japurensis* dessecadas, administrando-as, por via oral, também a bezerros jovens desmamados, para verificar se há diferença de toxicidade entre as folhas jovens e maduras.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos realizados, de administrações únicas de brotos roxos e folhas verdes tenras em estado fresco e de brotos roxos e folhas verdes tenras ou folhas maduras em estado dessecado, e de administrações repetidas de *Arrabidaea japurensis* a bovinos, constam dos Quadros 1 a 3. Pormenores sobre sintomas, achados de

necropsia e histopatológicos, dos bovinos que morreram nesses experimentos, seguem abaixo.

Experimentos em bovinos com Arrabidaea japurensis em administração única, por via oral, de brotos roxos e folhas verdes tenras, em estado fresco (Quadro 1)

Bovino 3935, macho, mestiço zebu, com aprox. 70 kg, recebeu em 7.2.76, das 18.30 às 19.30 h, 20 g/kg de *A. japurensis*. Em 8.2.76, às 5.00 h, foi encontrado morto, devendo ter morrido aproximadamente às 4.00 h. — Achados de necropsia: no epicárdio esquerdo, presença de algumas petéquias; no rúmen, algumas folhas ainda mais ou menos inteiras da planta administrada; na mucosa dos dois últimos metros do fêo, congestão difusa e pequena quantidade de petéquias. — Exames histopatológicos (SAP 21993) revelam, no miocárdio, leve edema entre os feixes de fibras musculares e infiltrados leves e difusos de células linfocitárias; no pulmão, congestão e edema interlobular leves, no baço, edema regular nos folículos linfóides, em linfonodo, edema regular tanto nos folículos como na medular, no cérebro e cerebelo, congestão regular.

Bovino 3936, macho, mestiço zebu, com aprox. 50 kg, recebeu em 8.2.76, às 11.30 h, 5 g/kg de *A. japurensis*. Em 9.2.76, às 6.00 h, estava em pé remoendo. Às 6.05 h. foi tocado durante aproximadamente 3 minutos; de repente teve andar fortemente desequilibrado e caiu logo, ficando em decúbito lateral; cerrou fortemente as pálpebras, fez violentos movimentos de pedalagem e morreu, tendo a evolução toda durado cerca de 3 minutos. — Achados de necropsia: no rúmen, algumas folhas mais ou menos reconhecíveis da planta administrada; na mucosa dos dois últimos metros do fêo, congestão difusa. — Exames histopatológicos (SAP 21994) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau regular a acentuado; no miocárdio, leve edema entre os feixes de fibras musculares; no pulmão, leve edema interlobular; no fígado, discreta vacuolização das células hepáticas centrolobulares; em linfonodo, edema regular da medular.

Bovino 3937, macho, mestiço zebu, com aprox. 170 kg, recebeu em 8.2.76, das 15.00 h às 16.00 h 10 g/kg de *A. japurensis*. Em 8.2.76, às 21.15 h, sem ser tocado, o animal caiu, ficando logo deitado de lado. Apresentava nistagmo. Tocado, levantou-se, porém mostrou forte desequilíbrio e caiu novamente, ficando em decúbito esternal, com os membros anteriores esticados para a frente e os posteriores esticados para trás; logo em seguida ficou em decúbito lateral. Tocado, levantou-se, caindo, de novo, logo em seguida, em decúbito lateral; fez alguns movimentos de pedalagem e logo, às 21.23 h, morreu. — Achados de necropsia: no rúmen, alguns fragmentos reconhecíveis das folhas administradas. — Exames histopatológicos (SAP 21995) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau regular; no miocárdio, edema leve entre os feixes de fibras musculares e leves infiltrados linfocitários difusos; no pulmão, edema interlobular regular; no baço, ao redor dos folículos linfóides, quantidade regular de polimorfonucleares.

Bovino 3938, macho, mestiço zebu, com aprox. 200 kg, recebeu em 8.2.76, às 12.00 h, 1,25 g/kg de *A. japurensis*. Em 9.2.76 às 10.00 h, foi tocado; por ser animal muito bravo, foi então laçado, derrubado e amarrado. Quando foi desamarrado, não quis levantar-se; piscou os olhos, fez alguns movimentos de pedalagem, e às 10.12 h, morreu. — Achados de necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 21996) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau acentuado; no pulmão, leve edema interlobular.

Bovino 3939, fêmea, mestiça zebu, com aprox. 150 kg, recebeu em 16.2.76, das 20.00 às 21.00 h, 20 g/kg de *A. japurensis*. Em 17.2.76 comeu pouco e não foi visto ruminando na parte da manhã. Às 13.00 h, apresentava temp. 38,7°C, freq. card. 144, freq. resp. 48 por min., rúmen com bracejos fracos, 2/2 min. Passou a maior parte do dia em posição esternal, porém sempre se levantou logo, quando alguém se aproximava. Sempre estava esperto. Às 15.25 h foi tocado durante 5 minutos, deixado ao sol durante 8 minutos e novamente tocado durante 3 minutos, quando apresentou tremores musculares generalizados com balanço geral do corpo, ca-

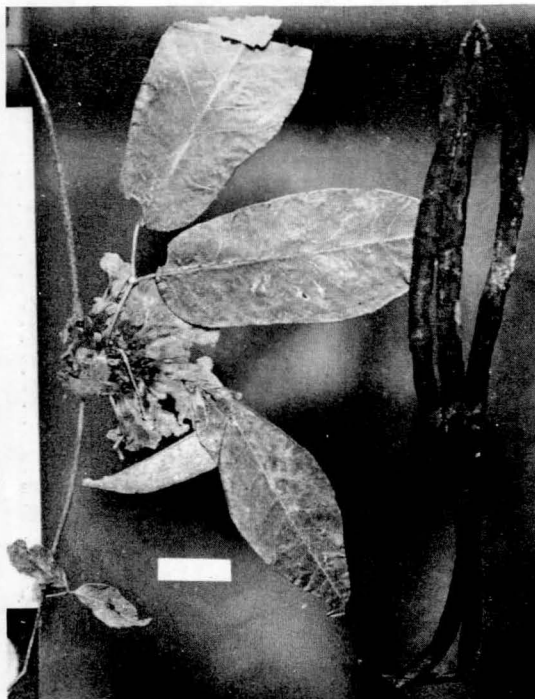


Fig. 2. Arbusto de *A. japurensis* em floração do mês de fevereiro, na margem do Rio Tacutu, Roraima.

Fig. 3. As inflorescências brancas de *A. japurensis*, na margem do Rio Tacutu, Roraima.

Fig. 4. Ramos de *A. japurensis* com inflorescências e frutos imaturos, no mês de fevereiro, na margem do Rio Tacutu, Roraima.

Fig. 5. Material botânico de *Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum., coletado no mês de fevereiro na margem do Rio Tacutu, Roraima (RB 173991). A régua tem 30 cm de comprimento.

da vez mais fortes, até cair sobre o lado direito com a cabeça por baixo da omoplata e a parte traseira ainda em pé; logo em seguida esta também caiu, com o animal já morto, às 15.41 h. — Achados da necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 21997) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau leve a regular; no miocárdio, infiltrados linfocitários focais e difusos leves.

Bovino 3941, macho, mestiço zebu, com aprox. 200 kg, recebeu em 16.2.76, das 21.30 às 23.00 h, 10 g/kg de *A. japurensis*. Em 17.2.76, às 12.53 h, quando ia ser examinado, andou durante 1 minuto, rápido, para fugir ao laço; de repente, perdeu o equilíbrio,

escorou-se na cerca e caiu em decúbito lateral com a cabeça por baixo da omoplata; fez muitos movimentos de pedalagem, piscou fortemente os olhos e morreu às 12.58 h. — Achados de necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 21998) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau regular.

Bovino 3946, macho, mestiço zebu, com aprox. 200 kg, recebeu em 13.2.76, das 16.30 às 17.30 h, 5 g/kg de *A. japurensis*. Em 14.2.76, às 14.00 h, quando tocado, não quis andar. Tocado, então a cavalo, correu bem, mas às 14.07 h deitou-se. Após pouco tempo levantou-se. Tocado de novo, deitou-se às 14.13 h, em posição esternal. Às 14.17 h mudou para decúbito lateral, deu alguns berros, fez

Bovino		Planta administrada					Sintomas					
Nº (SAP)	Peso kg	Data da coleta	Local da coleta em Roraima	Data do experimento	Quantidade g	Dose g/kg	Tocado após ingestão da planta	Período durante qual foi tocado	Início dos sintomas após o animal ser tocado	Início dos sintomas após começo da administração da planta	Duração dos sintomas	Morte após administração da planta
3935 (21993)	70	7.2.76	Faz. Sumaré	7.2.76	1500	20	—	—	—	?	?	Aprox. 9h 30 min.
3936 (21994)	50	8.2.76	"	8.2.76	250	5	18 h 32 min.	3 min.	3 min.	18 h 35 min.	3 min.	18 h 38 min.
3937 (21995)	170	8.2.76	"	8.2.76	1700	10	—	—	—	6 h 15 min.	8 min.	6 h 23 min.
3938 (21996)	200	8.2.76	"	8.2.76	250	1,25	22 h	10 min.	10 min.	22 h 10 min.	2 min.	22 h 12 min.
3939 (21997)	150	16.2.76	Faz. Papagaio e Faz. S. Francisco	16.2.76	3000	20	19 h 14 min.	16 min.	16 min.	19 h 30 min.	1 min.	19 h 31 min.
3940	200	14.2.76	Faz. Paraíso	14.2.76	1000	5	22 h	30 min.	—	—	—	—
3941 (21998)	200	16.2.76	Faz. Papagaio e Faz. S. Francisco	16.2.76	2000	10	15 h 37 min.	1 min.	1 min.	15 h 38 min.	5 min.	15 h 43 min.
3946 (21999)	200	13.2.76	Faz. Paraíso	13.2.76	1000	5	21 h 34 min.	13 min.	13 min.	21 h 47 min.	3 min.	21 h 50 min.
3947	200	13.2.76	"	13.2.76	500	2,5	18 h 30 min.	55 min.	—	Leves sintomas	—	—
3950 (22001)	150	19.2.76	Faz. Sumaré	19.2.76	375	2,5	19 h 55 min.	45 min.	45 min.	20 h 40 min.	1 min.	20 h 41 min.
3951	300	19.2.76	"	19.2.76	375	1,25	19 h 25 min.	45 min.	—	Leves sintomas	—	—

alguns movimentos de pedalagem e às 14.20 h estava morto. — Achados de necropsia: no pulmão, em sua superfície e ao corte, presença de quantidade regular de petéquias; no rúmen, alguns fragmentos reconhecíveis da folha administrada. — Exames histopatológicos (SAP 21999) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau acentuado (Fig. 6 e 7); no miocárdio, leves infiltrados linfocitários difusos; no pulmão, leve edema interlobular.

Bovino 3950, macho, mestiço zebu, com aprox. 150 kg, recebeu em 19.2.76, às 17.30 h, 2,5 g/kg de *A. japyrensis*. Em 20.2.76 foi tocado a partir das 13.25 h. Inicialmente correu bem, porém, já após 5 minutos não quis mais correr tanto e a partir das 13.35 h quase não queria mais correr, e passou a enfrentar as pessoas e o cavalo. Continuou-se mexendo com ele e, de repente, às 14.10 h, o animal se desequilibrou e caiu de lado; fez uns poucos movimentos de pedalagem e morreu tranquilamente às 14.11 h. — Achados de necropsia: na superfície do pulmão, presença de quantidade regular de petéquias. — Exames histopatológicos (SAP 22001) revelam, no rim, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais, em grau discreto; no miocárdio, leve edema entre os feixes musculares e infiltrados linfocitários focais e difusos leves; no pulmão, regular edema interlobular; no baço, leve edema nos folículos linfóides.

Experimentos em bovinos com Arrabidaea japyrensis em administração única, por via oral, de brotos roxos e folhas verdes tenras, ou folhas maduras, em estado dessecado (Quadro 2)

Bovino 3590, macho, mestiço zebu, com 69 kg, recebeu em 2.6.76, a cerca de 3 meses após a coleta, das 17.15 às 17.55 h, *A. japyrensis* dessecada correspondente em peso a 10 g/kg da planta fresca recém-coletada. Em 3.6.76 foi tocado das 9.38 às 10.43 h, intermitentemente. Às 9.57 deitou-se mas, tocado, levantou-se logo; às 10.04 h deitou-se de novo, e ficou com a cabeça ora encostada no flanco, ora esticada para a frente com o queixo apoiado no chão. Às 10.35 h levantou-se por si; tocado, somente andou devagar. Às 11.10 h, quando recebeu capim e ração, comeu devagar. Às 11.32 h perdeu o equilíbrio e recuou uns 2 passos já caindo sobre o esterno e logo em seguida passou ao decúbito lateral, com espasmo opistotônico. A respiração era ofegante e rápida, e logo em seguida, lenta; fez raros mas fortes movimentos de pedalagem, deu alguns berros e morreu às 11.35 h. — Achados de necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 22036) revelam, no

miocárdio, infiltrados linfocitários focais e difusos leves; no pulmão, leve edema interlobular; no fígado, vacuolização difusa em grandes gotas, de intensidade regular; no baço, leve congestão.

Bovino 3596, macho, mestiço jersey, com 117 kg, recebeu em 31.8.76, a cerca de 6 meses após a coleta, das 21.15 às 22.00 h, *A. japyrensis* dessecada, correspondente em peso a 10 g/kg da planta fresca recém-coletada. Em 1.9.76 foi tocado às 10.25 h. Após 1 minuto de exercício, perdeu o equilíbrio e caiu de lado, cerrou fortemente as pálpebras e fez fortes movimentos de pedalagem; logo em seguida ficou deitado calmamente em decúbito lateral. Colocado em posição esternal, levantou-se por si, andou uns 5 metros, bem desequilibradamente, e aí ficou parado. Às 10.34 h foi tocado de novo e após 1 minuto repetiu-se o mesmo episódio. Mais tarde, às 10.52 h, quando foi levantado e tocado para sua baía, desequilibrou-se e ocorreu novamente o mesmo episódio. Ficou então deitado em decúbito lateral, com respiração ofegante. Às 11.15 h foi levantado, porém balançou bastante e caiu, ficando em decúbito esternal com os membros posteriores esticados para trás; a respiração continuava ofegante. Às 15.10 h apresentava temp. 35,5°C, freq. card. 180, freq. resp. 40 por min., rúmen sem bracejos, sem murmúrio contínuo, extremidades frias. Após o exame e, mais tarde, mais duas vezes, levantou-se e deu alguns passos curtos, deitando-se logo; a respiração continuou ofegante; colocava a cabeça às vezes no flanco, às vezes para frente. Às 17.15 h, à auscultação do pulmão, perceberam-se estertores úmidos. Às 20.40 foi encontrado morto, devendo ter morrido aproximadamente às 19.30 h. — Achados de necropsia: em ambos os pulmões, especialmente nas partes antero-inferiores, edema acentuado; na parede da vesícula biliar, leve edema; no epicárdio, presença de múltiplas petéquias e sufusões. — Exames histopatológicos (SAP 22133) revelam, no pulmão, edemas interlobular e intra-alveolar regulares; no baço, congestão acentuada.

Bovino 3592, macho, mestiço holandês, com 89 kg, recebeu em 2.6.76, a cerca de 3 meses após a coleta, das 15.15 às 16.40 h, *A. japyrensis* dessecada, correspondente em peso a 20 g/kg da planta fresca recém-coletada. Em 3.6.76 foi tocado a partir das 7.53 h correndo mais ou menos bem, porém após 2 minutos deitou-se. Tocado, levantou-se logo, porém após outros 4 minutos deitou-se de novo, ficando em decúbito esternal; foi deixado nesta posição. Às 8.33 h, de repente, apresentou tremores musculares gerais, fez movimentos desordenados com a cabeça e caiu de lado; a respiração era ofegante. Fez alguns movimentos de pedalagem e às 8.38 h morreu. — Achados de necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 22035) revelam, no pulmão, leve edema interlobular; no fígado, leve vacuolização difusa.

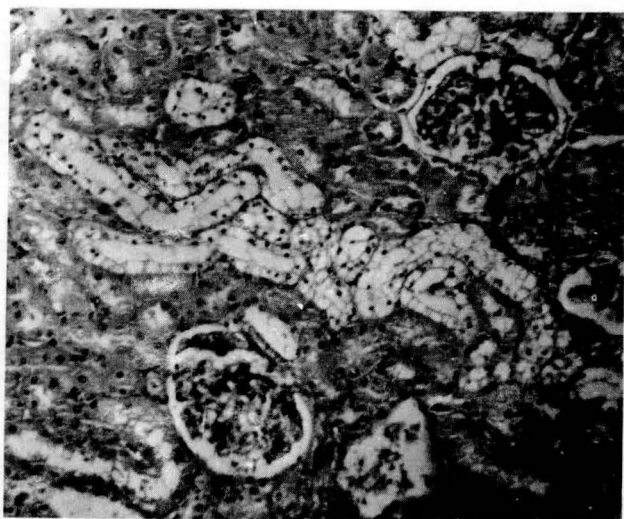


Fig. 6. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais na intoxicação experimental por *Arrabidaea japyrensis* no bovino 3946 (SAP 21999). E. Obj. 10.

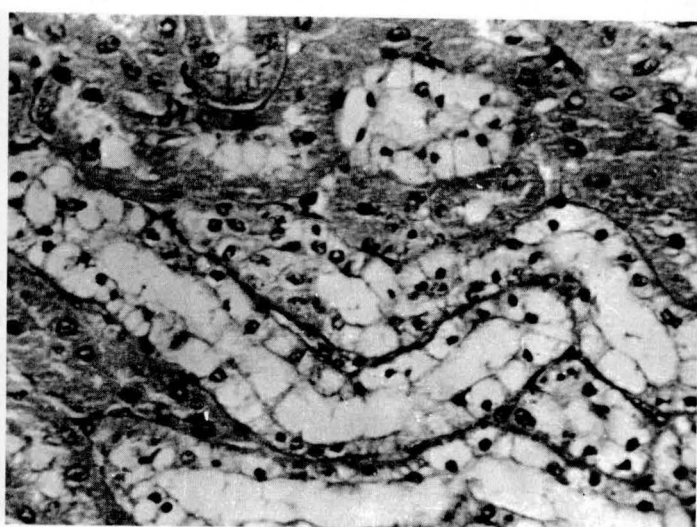


Fig. 7. Aumento maior do campo da figura anterior. Obj. 25.

Quadro 2. Experimentos em bovinos com *Arrabidaea japurensis* em administração única, com brotos roxos e folhas verdes tenras, ou folhas maduras, em estado dessecado

Bovino		Planta administrada							Sintomas				
Nº (SAP)	Peso/kg	Data da coleta	Local da coleta	Data do experimento	Planta dessecada		Correspondência com a planta recém-colhida(a)		Tocado após ingestão da planta	Período durante qual foi tocado	Início dos sintomas após começo da ad- ministração da planta	Duração dos sintomas	Morte após administração da planta
					Quantidade g	Dose g/kg	Quantidade g	Dose g/kg					
Administração de brotos roxos e folhas verdes tenras													
3590 (22036)	69	8.2 e 13.2.76	Faz. Sumaré e Faz. Paraíso	2.6.76	233	3,3	699	10	16 h 23 min.	1 h 7 min. in- termitente- mente	18 h 17 min.	3 min.	18 h 20 min.
3591	69	”	”	15.6.76	116,7	1,7	350,1	5	24 h 45 min.	15 min.	—	—	—
3593	75	”	”	9.6.76	125	1,7	375	5	15 h 10 min.	16 min.	—	—	—
3596 (22133)	117	”	”	31.8.76	390	3,3	1170	10	13 h 10 min.	1 min.	13 h 11 min.	10 h 14 min.	23 h 25 min.
Administração de folhas maduras													
3592 (22035)	89	19.2.76	Faz. Sumaré	2.6.76	600	6,7	1800	20	16 h 38 min.	7 min.	17 h 18 min.	5 min.	17 h 23 min.
3597	75	”	”	9.6.76	250	3,3	750	10	15 h 40 min.	16 min.	Leves sintomas	—	—
3588	85	”	”	15.6.76	283	3,3	850	10	24 h 45 min.	15 min.	—	—	—
3990	105	”	”	1.9.76	700	6,7	2100	20	23 h 17 min.	8 min.	Leves sintomas	—	—
3998	152	”	”	22.9.76	1013	6,7	3040	20	22 h 50 min.	15 min.	—	—	—

^(a)Relação planta dessecada: fresca recém-colhida igual a 1:3.

Quadro 3. Experimentos em bovinos com *Arrabidaea japurensis* em administrações repetidas, com brotos roxos e folhas verdes tenras, em estado dessecado

Bovino		Planta administrada							Sintomas					
Nº (SAP)	Peso kg	Planta dessecada		Correspondência com a planta recém-colhida (a)		Número de adminis- trações	Início do experimento	Última adminis- tração	Tocado após ingestão da planta	Período du- rante qual o animal foi tocado	Início dos sintomas após toca- do durante minutos	Início dos sintomas após começo da administra- ção da planta	Duração dos sintomas	Morte após administração da planta
		Quanti- dade g	Dose g/kg	Quanti- dade g	Dose g/kg									
3589	58	9,57 (ajustado)	0,165 semanalmente)	28,71	0,5	60	3.6.76	30.7.76	Semanalmente	15 min.	—	—	—	—
3589 (22132)	80	266	3,3	800	10	1	31.8.76	—	—	—	—	?	?	Aprox. 8 h 45 min.
3595	79	26,7 (ajustado)	0,33 semanalmente)	78,21	1	30	1.6.76	29.6.76	Semanalmente	15 min.	—	—	—	—
3595 (22083)	89	300	3,3	900	10	1	7.7.76	—	—	—	—	?	?	Aprox.. 12 h

(a) Planta coletada na Faz. Sumaré e Faz. Paraíso em 8, 9, 13.2.76 (Relação planta dessecada: fresca recém-colhida igual a 1:3).

Experimentos com A. japurensis em administrações repetidas, com brotos roxos e folhas verdes tenras, em estado dessecado (Quadro 3)

Bovino 3589, macho, mestiço holandês, inicialmente com 58 kg, recebeu, de 3.6.76 até 30.7.76, 60 doses diárias de *A. japurensis* dessecada, correspondendo cada uma delas, em peso, a 0,5 g/kg da planta fresca recém-coletada. Não mostrou quaisquer sintomas de intoxicação. Em 31.8.76, isto é, um mês após a última dose, e quando pesava 80 kg, recebeu, das 20.45 às 21.15 h, *A. japurensis* dessecada, correspondente em peso a 10 g/kg da planta fresca recém-coletada. Em 1.9.76, às 6.15 h, o animal foi encontrado morto, ainda morno, devendo ter morrido aproximadamente às 5.30 h. — Achados de necropsia: no epicárdio direito, presença de pequena quantidade de petéquias. — Exames histopatológicos (SAP 22132) revelam, no pulmão, leve congestão; no fígado, leve vacuolização centrolobular; no baço, leve congestão.

A dose necessária para causar a morte dos bovinos variou bastante. Enquanto que doses a partir de 10 g da planta verde fresca por quilograma de peso do animal sempre causaram a morte dos bovinos, 5 g/kg causaram a morte de dois dos três bovinos, 2,5 g/kg a morte de um dos dois e 1,25 g/kg a morte igualmente de um dos dois bovinos que receberam essas doses (Quadro 4).

Nos 4 experimentos com grandes quantidades da planta fresca recém-coletada (10 a 20 g/kg), dois dos bovinos morreram sem terem sido tocados (Bov. 3935 e 3937), um deles (Bov. 3937) 6 h 23 min., o outro (Bov. 3935) aprox. 9 h 30 min. após o início da ingestão da planta. Nos demais experimentos em que os bovinos morreram, os animais aparentemente estavam sadios quando, após período que variou de 15 h 37 min. a 22 horas após a ingestão da planta, foram to-

Quadro 4. *Relação da quantidade de Arrabidaea japurensis ingerida e morte de bovinos nos experimentos de administração única com brotos roxos e folhas verdes tenras, em estado fresco*

Quantidade de planta fresca recém-coletada administrada	Quantidade de experimentos realizados	Números de bovinos que morreram	Número de bovinos que não morreram
20	2	2	0
10	2	2	0
5	3	2	1
2,5	2	1	1
1,25	2	1	1

Bovino 3595, macho, mestiço holandês, inicialmente com 79 kg, recebeu de 1.6.76 até 29.6.76, 30 doses diárias de *A. japurensis* dessecada, cada uma delas correspondendo em peso a 1 g/kg da planta fresca recém-coletada. Não mostrou quaisquer sintomas de intoxicação. Em 7.7.76, isto é, aproximadamente 1 semana após a última dose, e quando pesava 89 kg, recebeu das 15.00 às 15.30 h, *A. japurensis* dessecada correspondente em peso a 10 g/kg da planta fresca recém-coletada. Em 8.7.76, às 5.40 h, o animal foi encontrado morto, devendo ter morrido aproximadamente às 3.00 h. — Achados de necropsia: ausência de alterações. — Exames histopatológicos (SAP 22083) revelam, no miocárdio, leve edema entre as fibras musculares; no pulmão, edemas interlobular e intra-alveolar regulares; no baço, leve congestão.

Além dos sintomas descritos nos protocolos acima, referentes aos animais que morreram, foram observados, nestes e nos que mostraram quadro de intoxicação não letal, quando tocados, relutância em grau menor ou maior de correr ou andar, freqüentemente o animal se deitando, micções e defecações frequentes, dispnéia, taquicardia e pulso venoso positivo.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos experimentos realizados, as folhas de *Arrabidaea japurensis* causaram, tanto em estado fresco recém-coletado como dessecado, síndrome de "morte súbita" que podia ser provocada ou precipitada por exercício.

cados e sua morte precipitada pelo exercício de 1 a 45 minutos. Se estes animais teriam morrido se não tivessem sido tocados, é difícil de se averiguar. Dois dos três animais que não morreram (Bov. 3947 e 3951) mostravam leves sintomas de intoxicação; o terceiro animal (Bov. 3940) não mostrou quaisquer alterações. (Quadro 1)

Os primeiros sintomas nos experimentos com a planta fresca recém-coletada, em que os animais morreram, foram observados a partir de 6 h 15 min. a aprox. 9 h 30 min., nos animais que morreram sem serem tocados, e de 15 h 38 min. a 22 h 10 min. nos outros que foram tocados, a contar da ingestão da planta; a duração dos sintomas, nos casos de morte, variou de 1 a 8 minutos.

Os sintomas observados, nos casos que terminaram com a morte, foram (na intoxicação com a planta fresca recém-coletada) andar cambaleante, tremores musculares em todo o corpo, súbita perda de equilíbrio, queda do animal, ficando logo em decúbito lateral, movimentos de pedalagem, às vezes berros e forte cerramento das pálpebras (Bov. 3936, 3941) e morte.

Além destes sintomas vistos nos animais que morreram, foram observados nestes bem como naqueles que mostraram quadro de intoxicação não letal, quando tocados, relutância em grau menor ou maior de correr ou andar, freqüentemente o animal se deitando, micções e defecações frequentes, dispnéia, taquicardia e pulso venoso positivo.

Quadro 5. Alterações histopatológicas na intoxicação experimental de bovinos por *Arrabidaea japurensis*

Bovino Nº (SAP)	Dose g/kg	Morte após administração da planta	Período durante qual foi tocado	Duração dos sintomas	Rim	Miocárdio		Pulmão	Outros órgãos
					Degeneração hidrópico-vacuolar	Edema	Infiltração linfocitária	Edema interlobular	
<i>Administração única de brotos frescos recém-coletados</i>									
3935 (21993)	20	9 h 30 min.	—	?	s.a.	+(a)	+	+	Baço com edema nos folículos linfóides ++, linfonodo com edema dos folículos linfóides e da medular ++, cérebro e cerebelo com congestão ++
3936 (21994)	5	18 h 38 min.	3 min.	3 min.	++ (+)	+	s.a.	+	Fígado com vacuolisação em gotas grandes difusa +(+), baço com leve congestão
3937 (21995)	10	6 h 23 min.	—	8 min.	++	+	+	++	Baço com numerosos polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides ++
3938 (21996)	1,25	22 h 12 min.	10 min.	2 min.	+++	s.a.	s.a.	+	s.a.
3939 (21997)	20	19 h 31 min.	16 min.	1 min.	+ (+)	s.a.	+	s.a.	s.a.
3941 (21998)	10	15 h 43 min.	1 min.	5 min.	++	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
3946 (21999)	5	21 h 50 min.	13 min.	3 min.	+++	s.a.	+	+	s.a.
3950 (22001)	2,5	20 h 41 min.	45 min.	1 min.	(+)	+	+	++	Baço com edema nos folículos linfóides +
<i>Administração única de brotos dessecados</i>									
3590 (22036)	10	18 h 20 min.	1 h 7 min.	3 min.	s.a.	s.a.	+	+	Fígado com vacuolisação em gotas grandes difusa + (+), baço com leve congestão
3596 (22133)	10	23 h 25 min.	1 min. Diversas vezes	10 h 14 min. Duração total	s.a.	s.a.	s.a.	++	Baço com congestão acentuada
<i>Administração única de folhas maduras dessecadas</i>									
3592 (22035)	20	17 h 23 min.	7 min. Sintomas após outros 33 min.	5 min.	s.a.	s.a.	(+)	+	Fígado com vacuolisação difusa +
<i>Administrações repetidas de brotos dessecados</i>									
3589 (22132)	0,5 x 60 10 x 1	— 8 h 45 min.	— —	— ?	— s.a.	— s.a.	— s.a.	— s.a.	— Fígado com vacuolisação centro-lobular +, baço com leve congestão
3595 (22083)	1 x 30 10 x 1	— 12 h	— —	— ?	— s.a.	— +	— s.a.	— ++	— Baço com leve congestão

(a)+++ Alterações acentuadas, ++ moderadas, + leves, (+) discretas, s.a, sem alterações.

Os achados de necropsia foram negativos, com exceção de pequenas hemorragias na pleura visceral em dois dos oito bovinos (Bov. 3946 e 3950) mortos nos experimentos com a planta fresca recém-coletada. Os exames histopatológicos revelaram, como lesão mais importante, nítida degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais em 6 dos 8 animais que morreram em virtude da ingestão da planta verde fresca; além destas alterações renais foram constatados, em parte dos casos, no miocárdio, leve edema e leve infiltração linfocitária, e no pulmão, leve a moderado edema interlobular (Quatro 5).

A planta dessecada (brotos roxos e folhas verdes tenras) administrada aproximadamente 3 e 6 meses após a sua coleta, continuou tóxica, porém, tinha perdido aproximadamente a metade de sua toxicidade durante a dessecação. A folha madura dessecada mostrou possuir a metade da toxicidade dos brotos roxos e folhas tenras dessecadas. Chamou a atenção o fato de que em nenhum dos 5 bovinos que morreram durante os experimentos com a folha dessecada foi encontrada a degeneração hidrópico-vacuolar acima relatada.

Através de experimentos em que foram administradas quantidades menores que a dose letal da planta dessecada, correspondentes a 1/10 e 1/20 da dose letal (tendo-se levado em consideração a diminuição da toxicidade pela dessecação), administradas aos bovinos 3595 e 3589 respectivamente, até completar três vezes a dose letal, isto é, no primeiro bovino durante 30 dias e no segundo durante 60 dias, foi visto que a planta não possui efeito acumulativo. Pela posterior administração de dose letal da planta a esses mesmos bovinos, que causou a sua morte, ficou evidente que eles também não adquiriram tolerância aos efeitos tóxicos da planta.

Visitamos quatro fazendas da região de ocorrência das "mortes súbitas". Verificamos nelas que a ocorrência dessas mortes coincide com a distribuição da planta nestas fazendas; *A. japurensis* ocorre nas margens dos rios, em clareiras e na borda das matas que margeiam esses rios, sempre em áreas que se inundam durante as cheias (maio a outubro). Ocorre também dentro dessas matas, onde, devido ao excesso de sombra, não se desenvolve bem, não de-
endo constituir problema porque a massa de folhas produ-

zidas é pequena, e além disso, subindo pelas árvores, fica, em grande parte, fora do alcance dos bovinos.

Desta maneira pode-se concluir que *A. japurensis* seja responsável pelas "mortes súbitas" que os criadores nas fazendas do "lavrado", banhadas pelos maiores rios da região, no Território de Roraima, observam quando movimentam o gado. Provavelmente a planta também é responsável por grande parte das mortes atribuídas a picadas de cobra, pois os bovinos também se movimentam sem serem tocados pelo homem e, além disso, os animais morrem também sem serem exercitados se a quantidade ingerida da planta for suficientemente grande.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Graziela Maciel Barroso, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação do material botânico e a descrição de *Arrabidaea japurensis*; ao Dr. José Augusto Soares, médico veterinário em Bela Vista, e aos criadores assistidos por ele, pela colaboração prestada, possibilitando essa viagem de estudo e a realização dos experimentos, colocando à nossa disposição um total de 20 bovinos; ao Sr. Austregésilo Warol de Freitas, auxiliar do Setor de Anatomia Patológica, EMBRAPA/RJ, Km 47, pelos valiosos serviços prestados na experimentação com a planta dessecada.

REFERÊNCIAS

- Cortes P.R. 1969/71. Una etiologia de la borrachera del llano. *Revta Ganagrincio, Venezuela*, 4 (nº 18), 5 (nºs 19, 20, 21, 22), 6 (nºs 23, 34), num total de 37 páginas.
- Mello E.M.M. & Fernandes J.S. 1941. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. *Serv. Inf. Agrícola, Min. Agricultura*, Rio de Janeiro.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães D.J. 1969. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl. em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 4:195-204, e dados não publicados.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1981. Intoxicação experimental por *Coutoubea ramosa* (Gentianaceae) em bovinos. (Em publicação)

Leptospira interrogans IN SEVERAL WILDLIFE SPECIES IN SOUTHEAST BRAZIL¹

FERNANDO CORDEIRO², CATHERINE R. SULZER³ E AUVANIR DE ALMEIDA RAMOS²

SINOPSE. Cordeiro F., Sulzer C.R. & Ramos A.A. 1981. [*Leptospira interrogans* em diversas espécies de animais silvestres na região sudeste do Brasil.] *Leptospira interrogans* in several wildlife species in southeast Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):19-29. Proj. Patol. Animal, Embrapa, Km 47, Seropédica, RJ 23460, Brasil.

De 43 espécies de animais examinados, 8 pertencentes às Ordens *Rodentia* e *Marsupialia*, foram identificadas como portadoras de leptospirosas. O sorovar *pomona* foi encontrado em 6 das 8 espécies portadoras. A cuica (*Philander opossum*) foi identificada como portadora dos sorovares *ballum* e *grippotyphosa*. O sorovar *australis* foi encontrado em rato "água" (*Nectomys squamipes*). O sorovar *mangus*, do sorogrupo *Panama*, foi encontrado em um gambá (*Didelphis albiventris*).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Leptospira interrogans*, sorovares (sorotipos), animais silvestres, *Rodentia*, *Marsupialia*, Brasil.

ABSTRACT. A leptospiral host-serovar relationship in southeast Brazil is described. Of the 43 animal species examined, 8, of the Orders *Rodentia* and *Marsupialia*, were identified as carriers of leptospires. The serovar *pomona* was found in 6 of the 8 carrier species. The "four-eyed" opossum (*Philander opossum*) has been shown to be a carrier of the serovars *ballum* and *grippotyphosa*. The serovar *australis* was found in a water rat (*Nectomys squamipes*). The serovar *mangus*, of the serogroup *Panama*, was found in an opossum (*Didelphis albiventris*).

INDEX TERMS: *Leptospira interrogans*, serovars (serotypes), wildlife species, *Rodentia*, *Marsupialia*, Brazil.

INTRODUCTION

Wild animals are known to be carriers of the causal agent of leptospirosis (*Leptospira interrogans*), and some of these animals may be natural hosts for pathogenic leptospires (Alston & Broom 1959). Infection is believed to be widespread among wild animals which transmit the organism to domestic animals and to man. The host-parasite relationships in leptospirosis apparently are complex. In addition to a wide array of hosts, several serovars are also involved in the *Leptospira interrogans* complex (U.S. Dept. of Health, Education and Welfare 1966, 1975). By 1967, 130 serovars distributed over 18 serogroups had been identified,

many of them isolated from wild animals (World Health Organization 1967).

From the epidemiological point of view it is important to know which animal species are reservoirs and which serovars are involved in a particular area of study. Some serovars are known to have an elective affinity for certain species, so called primary hosts, in which they cause a mild disease with little damage to the hosts. Primary hosts can harbor the spirochaetes in their kidney tubules and shed them intermittently in the urine for long periods.

The most common pathogenic serovars in Brazil are: *icterohaemorrhagiae*, isolated from man (Corrêa 1969/70), dog (Castro et al. 1962), cattle (Rosa et al. 1961), and swine (Rosa et al. 1970); and *pomona*, found in cattle (Freitas et al. 1957) and swine (Rosa et al. 1973). Several other serovars have been recovered from human patients (Corrêa 1969/70, Corrêa et al. 1965/67, Corrêa et al. 1964) and from animals (Guida 1948, 1958, Guida et al. 1959). In addition, antileptospiral agglutinins have been detected in serological surveys (Castro et al. 1962, Cordeiro et al. 1974, 1975, Rosa et al. 1969/70).

The following serovars have been recovered from wild animals: *icterohaemorrhagiae*, *ballum*, *grippotyphosa*, *wolfi* and *szwajizak*. The wild animals involved were: norwegian rat (*Rattus norvegicus*), South American field mouse (*Akodon arviculoides*), roof rat (*Rattus rattus*), opossum (*Didelphis marsupialis*), wild guinea pig (*Cavia aperea*), four-eyed opossum (*Philander opossum*), water rat (*Nectomys squamipes*), rice rat (*Oryzomys eluizis* and *O. ratticeps*), burrowing mouse (*Oxymycterus quaestor*), and cane rat (*Zygodontomys bairdii*) (Castro et al. 1961, Corrêa et al. 1965/67, Rosa 1970). Five new serovars have been isolated and identified in Brazil: *brasiliensis*, from the opossum; *guaratinga*, from the four-eyed opossum; *guaicurus* and *goiano* from cattle; and *guidae*, from swine (U.S. Dept. of Health, Education and Welfare 1975, Rosa 1970, Rosa et al. 1975, Wolff & Bohlander 1960). Most of this research has been done in the State of São Paulo.

¹ Accepted for publication on August 20, 1980.
Based on a thesis submitted by F. Cordeiro in partial fulfillment of the requirements for the Master in Preventive Veterinary Medicine degree at the School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, Ca 95616, USA, in August 1977.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Projeto de Patologia Animal, 23460 Seropédica, RJ, Brazil.

³ World Health Organization/Food and Agriculture Organization Collaborating Center for the Epidemiology of Leptospirosis, Center for Disease Control, Atlanta, Ga 30333, USA.

In Itaguaí County, State of Rio de Janeiro, the house mouse (*Mus musculus brevisrostris*) has been found to be an important reservoir of leptospires, particularly of the serovars *ballum* and *tropica* (Cordeiro 1970, Cordeiro & Silva 1974). In a serological survey among dairy cattle from 28 counties in this State about 22% of the sera were positive; the serovars mainly involved were *wolffi*, *tarassovi*, *grippotyphosa*, *pomona* and *bratislava* (Cordeiro et al. 1975). Therefore, it seemed desirable to evaluate the host-serovar relationships in the region. In this report the bacteriological, serological, and epidemiological findings concerning the natural occurrence of leptospires among several wildlife species in the southeastern region of Brazil, from 1968 to 1974, are described.

MATERIAL AND METHODS

Origin of the material

Most of the animals used in this study were trapped live in the field, some in the store rooms of several farms, and a few were shot in the field. Those animals came from 25 counties in the States of Rio de Janeiro, São Paulo and Minas Gerais, located in southeast Brazil (Fig. 1, Table 1). Most of these areas consist of low growing vegetation and natural pastures, with some forest. The altitude varies from 5 to 800 m. The annual medium temperature is 23°C in

the plains and 18°C in the mountains. The annual rainfall is about 1304 mm, and the relative air humidity is 75%.

The 43 species examined, belonging to 12 orders and totaling 1,064 animals, are described in Table 2. These animals were classified in the Instituto de Biologia of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Bacterial methods

The animals captured live were anesthetized with ether and bled by cardiac puncture. They were killed by exsanguination. Kidneys and a piece of liver were removed aseptically and ground in a mortar with buffered saline (pH 7.4). The urine was collected by bladder puncture. Blood, urine, and a suspension of kidney and liver tissues were inoculated into tubes of Fletcher's semisolid and Korthof's liquid media, according to the method of Sulzer and Jones, and incubated at 30°C. The tubes were inspected for growth of leptospires weekly, for 40 days. One weanling guinea pig was inoculated intraperitoneally with 1 ml of tissue suspension from each sample of kidney and liver. The temperature of each guinea pig was measured from the 3rd to the 10th day after inoculation. When guinea pigs' anal temperature was 40°C or higher the animal was exsanguinated and the same material was used for isolation attempts. The same procedure was used with the guinea pigs that did not show temperature until the 10th day post inoculation.

Table 1. Distribution of the wild animals captured in several counties of southeast Brazil, 1968-1974

County			Wild animals captured
Nº	Name	Total	Genera
1	Miracema	6	Rattus
2	Sta. Maria Magdalena	6	Rattus, Cavia, Philander
3	Campos	6	Rattus, Didelphis
4	Cordeiro	9	Rattus, Didelphis, Nectomys, Akodon
5	Bom Jardim	2	Rattus
6	Nova Friburgo	6	Rattus, Philander
7	Conceição de Macabú	25	Akodon, Rattus, Nectomys
8	Macaé	48	Philander, Rattus, Nectomys, Akodon
9	Casimiro de Abreu	21	Rattus
10	Cabo Frio	1	Philander
11	Rio Bonito	9	Rattus, Oxymycterus, Akodon, Nectomys
12	Três Rios	26	Mus, Rattus, Akodon, Didelphis, Bufo
13	Duque de Caxias	5	Molossus, Desmodus
14	Rio de Janeiro	16	Mus, Desmodus, Rattus
15	Itaguaí	676	35 genera; most Akodon, Mus, Rattus
16	Vassouras	19	Bufo, Leptodactylus, Akodon, Didelphis, Rattus, Coenobates
17	Valença	61	Rattus, Didelphis, Mus, Akodon, Cavia, Stombus, Bufo
18	Barra do Pirai	3	Rattus, Oryzomys
19	Resende	9	Didelphis, Rattus
20	Bananal	37	Rattus, Didelphis, Akodon, Mus, Oryzomys
21	Pindamonhangaba	44	Akodon, Rattus, Bufo, Oryzomys, Mus
22	São José dos Campos	1	Didelphis
23	Jaboticabal	11	Didelphis, Tupinambis, Galictis
24	Belmiro Braga	13	Rattus, Mus, Oxymycterus
25	Mar de Espanha	4	Didelphis, Akodon
Total		1.064	

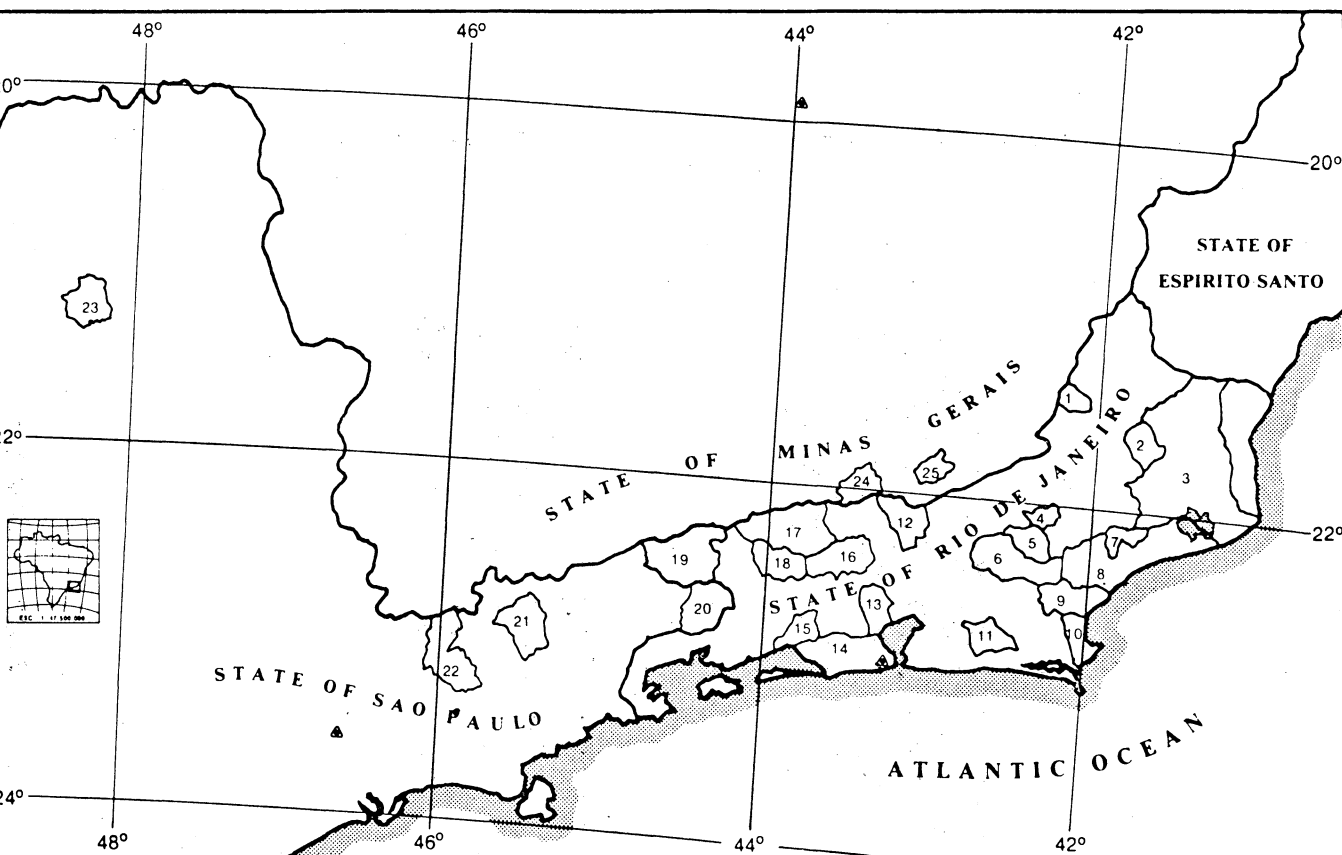


Fig. 1. Part of southeast Brazil showing several counties where the wild animals were trapped. (Counties are identified in Table 1)

Microbiological methods

Three hundred and twenty eight serum samples were collected from the animals and stored frozen at -20°C until tested by the microscopic agglutination test (MAT). Fifteen live cultures of leptospires (Table 3) were used as antigens. The antigens were grown for 7 days in Korthof's or Stuart's media, according to the method described by Sulzer and Jones. A titre of 1:40 or higher with at least 50% agglutination was considered a positive reaction.

Hyperimmune sera were prepared from 17 isolated strains by inoculating into 4 kg rabbits live cultures grown in Fletcher's semi solid medium. The rabbits were inoculated in the marginal vein of the ear with a weekly schedule of injections of 1 ml, 2 ml, 4 ml, and 4 ml. Seven days after the last inoculation, a blood serum sample was taken from each rabbit and tested for antibodies with the homologous strain by the MAT. If the titre was 1:12,800 or higher, the rabbit was exsanguinated, and the blood serum was collected and stored at -20°C.

Preliminary identification of 19 of the 37 isolated strains considered in this study (Table 4) were made by the MAT; 7 of them were tested by the cross-agglutination screening procedure in the MAT, with leptospiral serovars and immune sera representative of all known pathogenic serogroups (Table 3). These strains, as well as the reference strains, were adapted to Korthof's, Stuart's or Ellinghausen's liquid media for use as antigen. The antigens were tested for den-

sity and purity before being used. Satisfactory antigens were considered to be those without contamination and with density of about 100 organisms per microscopic field, 450 X, with dark-field condenser, and without "breed nests".

Serovars were determined according to the methodology recommended by Kmety et al. 1970. Cross agglutinin-absorption tests were performed on 17 strains and several serovars were detected in the preliminary identification.

Statistical methods

For statistical analysis the data were grouped by species (Table 5) and the Chi-square test (Remington 1970) was performed to determine whether the presence of leptospires and animal species were independent variables.

The formula used was

$$\chi^2 = \sum_k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}, \quad i = 1$$

The relationship between the MAT and the procedure for isolating leptospira was determined in the same manner to test the hypothesis that the results of the two procedures are independent.

Table 2. *Wildlife species examined in search of Leptospira interrogans in the southeastern region of Brazil, 1968-1974*

Order	Species	Common name	Total examined
Rodentia	Akodon arviculoides	South American field mouse	307
	Cavia aperea	Wild guinea pig, preá	8
	Coendou insidiosus	Coandú	1
	Euryzomatomys guirara	Bamboo rat	1
	Mus musculus	House mouse	173
	Nectomys squamipes	Water rat	42
	Oryzomys nigripes	Rice rat, calunga	10
	Oxymycterus hispidus	Swine rat	15
	Rattus norvegicus	Norway rat, sewer rat	21
	Rattus rattus	Roof rat	189
Marsupialia	Didelphis albiventris	Opossum, gambá	92
	Philander opossum	Four-eyed opossum	35
Chiroptera	Artibeus lituratus	Fruit bat	63
	Carollia perspicillata	Fruit bat	14
	Desmodus rotundus	Vampire bat	8
	Glossophaga soricina	Fruit and nectar bat	18
	Molossus molossus	Insectivorous bat	3
	Molossus ater	Insectivorous bat	3
	Myotis nigricans	Insectivorous bat	2
	Noctilio leporinus	Fish eater bat	1
	Sturnira lilium	Fruit bat	2
	Vampyrops lineatus	Fruit bat	1
Carnivora	Galictis cuja	Ferret	3
Edentata	Euphractus sexcinctus	Yellow hand armadillo	1
Falconiformes	Heterospiztia meridionalis	Leather coat falcon	1
Strigiformes	Tyto alba	White owl	1
	Otus choliba	Spix screech owl	1
Cuculiformes	Crotophaga ani	Black anu	1
Gruiformes	Aramides sp	Shore bird, saracura	2
Salientia	Bufo crucifer	Toad	1
	Bufo ictericus	Cururú toad	21
	Leptodactylus ocellatus	Frog	7
	Stombus boiei	Bull frog	1
Squamata	Ameiva ameiva	Calango	1
	Hemidactylus mabouia	Lagartixa	1
	Mabuia sp	Vibora	2
	Tupinambis teguixin	Lizard	3
	Ophiodes striatus	Glass snake	1
	Leimadophis poecilogyrus	Grass snake	2
	Mastigodryas bifossatus	Jararacuçu do brejo	2
	Oxyrhopus petola	Snake	1
	Philodryas schotti	Parelheira snake	1
	Liophis miliaris	Water snake	1
Total:			1,064

(a) Results of most of these examinations were previously reported (Cordeiro 1970, Cordeiro & Silva 1974).

The sensitivity and specificity of the isolation procedure, well as the agreement, when compared with the MAT, are determined according to the format below:

	MAT		
	+	-	
Isolation	+ N++	N+ -	N+.
	- N-+	N- -	N-.
	N.+	N.-	N. = sample size

$$\text{Sensitivity} = \frac{N++}{N.+}$$

$$\text{Specificity} = \frac{N--}{N.-}$$

$$\text{Agreement} = \frac{(N++)+(N--)}{N..}$$

RESULTS

Of the 43 wild animal species examined (Table 2), 8 were identified as carriers of leptospires. They are: Order Rodentia: *Mus musculus*, *Akodon arviculoides*, *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, *Nectomys squamipes* and *Oryzomys nigriventer*; Order Marsupialia: *Didelphis albiventris* and *Philander opossum*. Samples of these species totaled 869, of which 99 (11.39%) were found to be infected (Table 5). One hundred and twenty seven strains of leptospires were isolated from several tissues and body fluids of these animals (Table 6). The largest number of isolations were from renal tissue followed by urine, liver, and blood. Multiple isolates were sometimes obtained from different tissues and body fluids of the same animal (Table 7).

Of the 37 strains considered in this paper, 18 were preliminarily classified by the MAT, as follows: 9 belonging to *Pomona* serogroup, 3 to *Javanica*, 2 to *Ballum*, 1 to *Panama*, 1 to *Australis*, and 2 to *Grippotyphosa*. The Aa-14 strain does not react within our present serogroups. It must be checked to determine if it will infect animals. The origins of these strains are shown in Table 4. The other 19 strains were lost in the consecutive transferring, some by contamination and some because they did not grow satisfactorily in the media. Table 8 shows the distribution of the isolated strains by counties and the animal species and serogroups involved.

The prevalence of leptospiral antibodies found in the wild animal sera is shown in Table 9. Of 328 serum samples tested, 21 (6.4%) were positive (1:40 or higher). *Tarassovi* is the prevailing serovar in 5 counties: Bananal, Macaé, Campos, Belmiro Braga, and Casimiro de Abreu. The highest titres were for the serovars *pomona* and *panama* (320), in Itaguaí and Cordeiro counties, respectively.

According to the results of the cross agglutination screening test and the absorption tests (Tables 10, 11), the

strains Aa-1, Aa-12, Dm-1, Mm-1, Ns-2, On-1, On-2 and Rr-4 were identical to *pomona* serovar; the strain Ns-1 to *australis*; the strain Po-1 to *ballum*; the strains Po-2 and Po-3 to *grippotyphosa*, and the strain Dm-8 to *mangus* in the *Panama* serogroup. The strains Aa-3 and Aa-4, identical to each other, and Rr-5 are new *javanica* serovars. The strain Aa-14 has tentatively been proposed as a new serogroup, but the pathogenicity needs to be completely established before this can be considered final. The strains Aa-9 and Aa-10 did not grow.

The Chi-square value calculated in contingency (Table 12) of leptospiral isolation results and identification of the animal species ($X^2 = 139.51$) was significant at a level less than 0.1%. The calculated value for the Chi-square, in Table 13, ($X^2 = 8.9987$) must be considered significant at a level less than 1%. The agreement between the isolation

Table 3. *Leptospiral serovars used as antigen in the microscopic serum-agglutination test and cross-agglutination screening test*

Serogroup	Serovar	Strain
Icterohaemorrhagiae	<i>icterohaemorrhagiae</i> ^(a)	RGA
	<i>copenhageni</i> ^(b)	M 20
	<i>mankarso</i> ^(b)	Mankarso
Celledoni	<i>celledoni</i> ^(b)	Celledoni
Canicola	<i>canicola</i> ^(a, b)	Hond Utrecht IV
Ballum	<i>ballum</i> ^(b)	Mus 127
	<i>castelloni</i> ^(a)	Castellon 3
Pyrogenes	<i>pyrogenes</i> ^(a, b)	Salinem
	<i>alexii</i> ^(b)	Hs 516
Cynopteri	<i>cynopteri</i> ^(b)	3522 C
	<i>butembo</i> ^(a, b)	Butembo
Autumnalis	<i>autumnalis</i> ^(a, b)	Akiyami A
	<i>fort-Lragg</i> ^(b)	Fort Bragg
	<i>sentot</i> ^(b)	Sentot
	<i>djasiman</i> ^(b)	Djasiman
Australis	<i>australis</i> ^(b)	Ballico
	<i>bratislava</i> ^(a)	Jez bratislava
Pomona	<i>pomona</i> ^(a, b)	Pomona
Grippotyphosa	<i>grippotyphosa</i> ^(a, b)	Moskva V
Hebdomadis	<i>mini</i> ^(a)	Sari
	<i>georgia</i> ^(b)	LT 117
	<i>wolffi</i> ^(a, b)	3705
	<i>borincana</i> ^(b)	HS 622
Bataviae	<i>bataviae</i> ^(a, b)	Van Tienen
Tarassovi	<i>tarassovi</i> ^(a, b)	Perepelicin
Panama	<i>panama</i> ^(a, b)	CA 214 K
Shermani	<i>shermani</i> ^(b)	LT 821
Semaranga	<i>patoc</i> ^(b)	Patoc I
Andamana	<i>andamana</i> ^(b)	CH II
Javanica	<i>javanica</i> ^(a, b)	Veldrat Batavia 46

(a) Microscopic serum-agglutination test (MAT).

(b) Cross-agglutination test.

Table 4. *Preliminary identification of some strains isolated from wildlife in southeast Brasil, 1968-1974*

Strain N ^o	Origin of the material			Isolation date	Preliminary classification serogroup
	Animal reg. n ^o	Place of capture	Isolated from		
Aa-1 ^(a)	125	Seropédica	Urine	08/01/69	Pomona
Aa-3	377	"	Kidney	01/21/70	Javanica
Aa-4	468	"	Blood	06/10/70	Javanica
Aa-9	645	"	Guinea pig	08/31/70	Ballum
Aa-10	660	Itaguaí	Kidney	08/21/70	Pomona
Aa-12	676	Macuco	Kidney	09/14/70	Pomona
Aa-14	1,000	Bananal	Urine, Kidney	11/05/73	?
Dm-1	264	Seropédica	Liver	11/10/69	Pomona
Dm-8	1,031	"	Kidney	06/23/74	Panama
Mm-1	14	"	Kidney	02/10/69	Pomona
Ns-1	592	"	Kidney	07/15/70	Australis
Ns-2	593	"	Kidney, Urine	07/09/70	Pomona
On-1	605	"	Liver	07/15/70	Pomona
On-2	682	Barra do Pirai	Kidney	10/07/70	Pomona
Po-1	598	Seropédica	Kidney	07/28/70	Ballum
Po-2	1,046	"	Kidney	05/17/74	Grippytyphosa
Po-3	1,049	"	Kidney	11/17/74	Grippytyphosa
Rr-4	635	Itaguaí	Kidney	09/07/70	Pomona
Rr-5	967	Seropédica	Kidney	05/16/73	Javanica

(a) Aa = Akodon arviculoides; Dm = Didelphis albiventris (previously identified as D. marsupialis);
Mm = Mus musculus; Ns = Nectomys squamipes; On = Oryzomys nigripes; Po = Philander opossum;
Rr = Rattus rattus.

Table 5. *Occurrence of Leptospira interrogans in several wildlife species in southeast Brazil, 1968-1974*

Species	Total examined	Total found infected	% positives	Serovar found
Mus musculus ^(a)	173	63	36.41	ballum, pomona, tropica
Akodon arviculoides	307	14	4.56	pomona, 2 new serovars
Rattus rattus	189	5	2.64	pomona, 1 new serovar
Didelphis albiventris	92	8	8.69	pomona, mangus
Philander opossum	35	3	8.57	grippytyphosa, ballum
Nectomys squamipes	42	2	4.76	australis
Rattus norvegicus	21	2	9.52	not identified
Oryzomys nigripes	10	2	20.00	pomona
Total:	869	99	11.39	9 serovars 7 serogroups

(a) Results of most of these examinations were previously reported (Cordeiro 1970, Cordeiro & Silva 1974)

Identification procedures was 89%. The sensitivity and specificity of the leptospiral isolation procedure, when compared with the MAT were 24% and 94%, respectively.

DISCUSSION

This study has demonstrated that fauna in parts of the southeast Brazil, including the state of Rio de Janeiro, São Paulo, and Minas Gerais, include several carriers of leptospires. The rate of infected animals found in the sample of involved species (11.39%) is significant when compared with the results of Santa Rosa (4%) (Rosa 1970). If however, we consider only the samples of the counties where infected animals were found, the rate would be 17.31% (Table 8). It must represent a high potential of infection for domestic animals, particularly since the species recognized as carriers are widely distributed over the Brazilian territory.

The 8 species pointed out (Table 5) belong to the Orders *Ungulata* and *Marsupialia*, which reaffirms the previously observed carrier condition among the rodents and marsu-

pials. With the exception of the so called "commensals" (genera *Rattus* and *Mus*), the other species have already been recognized as carriers of several leptospiral serovars in the State of São Paulo. The observed serovars, however, are dissimilar. Serovar *grippotyphosa* showed the highest prevalence, but serovar *pomona* was prevalent in the State of Rio de Janeiro. It was found in 6 of the 8 carrier species. This serovar was isolated from foetus of aborted cows and sows of the State of São Paulo and Santa Catarina (Freitas et al. 1957, Rosa et al. 1973). In addition, it has been considered to be responsible for great losses in cattle-and-swine-raising operation in several countries (Cordeiro et al. 1975). Cattle and swine probably play an important role in maintaining the spirochaete and in spreading the disease among domestic animals. Antibodies against *pomona* have been observed in several serological surveys in bovines, swine, and equines in this region (Cordeiro et al. 1974, 1975, Freitas et al. 1957, Rosa et al. 1969/70).

In the State of Rio de Janeiro the marsupial four-eyed opossum has been shown to be a carrier of serovar *grippotyphosa*. The same serovar was isolated from opossum and from several rodents in the State of São Paulo. Antibodies against it were detected in bovines, equines and swine. Several human cases of leptospirosis due to this serovar have been described in the Brazilian literature.

Serovar *ballum* was also found in the four-eyed opossum, and in the South American field mouse. It has already been found in the house mouse (Cordeiro 1970, Cordeiro & Silva 1974). The water rat was shown to be a carrier of serovar *australis*, which is known to be responsible for disease among sugar cane cutters in Australia (Alston & Broom 1958). Antibodies against it have been found in cattle, swine, dogs, and man (Cordeiro et al. 1975, Corrêa et al. 1964, Rosa et al. 1969/70).

Some consideration must be given to the source of leptospira isolations. The kidney was demonstrated to be the most important tissue for the isolations (65%), which must be interpreted to mean that the infected animals were in the carrier state. However, urine (10%), liver (9%), blood (5%) and passage in guinea pig (9%) contributed to the number of isolated strains.

Out of the 25 counties sampled, 11 had animal carriers in their fauna. The largest number of isolations were from animals from Itaguaí County. The largest sample however, was from this County. Most of the counties were located in the State of Rio de Janeiro, but specimens from animals from 2 of the 4 counties sampled in the State of São Paulo, and from 1 of the 2 in Minas Gerais were positive.

The low prevalence of serum reactors (6.4%) among the 328 wild animal samples may be due to the fact that many were healthy non reacting carriers and that probably some in the carrier state were not producing antibodies. Antibody titres in the blood tend to decrease after the disease. The leptospires can, however, nest in the renal tubules without stimulating a detectable antibody response in the blood. Another consideration is that just 5 of the 24 sera from which isolations were obtained were positive in the MAT. Of these 4 had antibodies for the same isolated serovar. The prevalent serovar (*tarassovi*) in the MAT was not isolated from any animal, but the only strain that had a low titre (1:100) in the screening test with this serovar was Aa-14.

Table 6. Distribution of leptospiral isolations from wildlife of southeast Brazil, according to species and substrates

Wildlife species	Substrate					Total
	Kidney	Urine	Liver	Blood	Guinea pig	
<i>mus musculus</i>	58	7	5	4	7	81
<i>Peromyscus arviculoides</i>	7	2	2	2	2	15
<i>Delphacops albiventris</i>	6	2	4	1	1	14
<i>Rattus rattus</i>	5	—	—	—	—	5
<i>Didelphis opossum</i>	3	—	—	—	1	4
<i>Peromyscus squamipes</i>	2	1	—	—	—	3
<i>Rattus norvegicus</i>	1	1	—	—	1	3
<i>Peromyscus nigripes</i>	1	—	1	—	—	2
Total:	83	13	12	7	12	127

Table 7. Multiple isolations obtained from different substrates of the same animal or passage in guinea pig

Substrates	Total of isolations
Kidney and urine	6
Kidney and guinea pig	5
Kidney and liver	4
Kidney and blood	1
Kidney, guinea pig and urine	2
Kidney, urine, blood and guinea pig	1
Kidney, urine, liver and blood	1
Liver and guinea pig	1
Blood and guinea pig	1

Table 8. *Distribution of leptospiral isolations from wildlife by counties in southeast Brazil, 1968-1974*

Nº	County	Total of animals	Species involved	Total of isolations	Serogroup involved
	Name				
1	Miracema	6	<i>Rattus rattus</i>	1	not done
4	Cordeiro	1	<i>Akodon arviculoides</i>	1	Pomona
14	Rio de Janeiro	7	<i>Rattus rattus</i>	1	not done
15	Itaguaí	144	<i>Mus musculus</i>	62	Pomona, Ballum
		260	<i>Akodon arviculoides</i>	11	Pomona, Ballum, Javanica
		30	<i>Didelphis albiventris</i>	5	Pomona, Panama
		31	<i>Rattus rattus</i>	4	Pomona, Javanica
		6	<i>Philander opossum</i>	3	Ballum, Grippytyphosa
		30	<i>Nectomys squamipes</i>	2	Pomona, Australis
		19	<i>Rattus norvegicus</i>	1	not done
		5	<i>Oryzomys nigripes</i>	1	Pomona
16	Vassouras	1	<i>Akodon arviculoides</i>	1	not done
17	Valença	19	<i>Didelphis albiventris</i>	1	not done
18	Barra do Pirai	1	<i>Oryzomys nigripes</i>	1	Pomona
19	Resende	3	<i>Didelphis albiventris</i>	1	not done
20	Bananal	5	<i>Akodon arviculoides</i>	1	may be a new serogroup
21	Pindamonhangaba	2	<i>Mus musculus</i>	1	not done
25	Mar de Espanha	2	<i>Didelphis albiventris</i>	1	not done
Total:		572		99	= 17.31%

Table 9. *Prevalence of leptospiral antibodies in wildlife sera from several counties in southeast Brazil, 1968-1974*

County	Sera			Serovars and reciprocal titres
	Examined	Positive	%	
Itaguaí	182	10	5.49	<i>pomona</i> = 320, <i>icterohaemorrhagiae</i> = 160, <i>tarassovi</i> = 160, <i>grippytyphosa</i> = 40
Bananal	31	4	12.90	<i>tarassovi</i> = 80
Macaé	19	3	15.79	<i>tarassovi</i> = 80
Cordeiro	8	1	12.50	<i>panama</i> = 320
Campos	6	1	16.67	<i>tarassovi</i> = 40
Belmiro Braga	2	1	50.00	<i>tarassovi</i> = 40
Casimiro de Abreu	1	1	100.00	<i>tarassovi</i> = 160
13 other counties	79	—	—	—
Total:	328	21	6.4	

Table 10. Agglutination reactions of 17 leptospiral strains with antisera against 26 leptospiral serovars of the screening battery

Antiserum	Reciprocal titre against antigen																	
	Homol- ogous	Aa-1	Aa-3	Aa-4	Aa-12	Aa-14	Dm-1	Dm-8	Mm-1	Ns-1	Ns-2	On-1	On-2	Po-1	Po-2	Po-3	Rr-4	Kr-5
<i>ballum</i>	6,400	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	1,600	—	—	—	—
<i>canicola</i>	25,600	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	200	—	—	—	—
<i>copenhageni</i>	12,800	100	—	200	100	—	100	400	100	400	—	ND	—	200	—	—	—	6,400
<i>bataviae</i>	25,600	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>grippityphosa</i>	12,800	—	—	—	—	—	50	—	50	—	—	ND	—	—	6,400	6,400	—	—
<i>pyrogenes</i>	12,800	—	200	—	—	—	—	—	—	100	—	ND	—	100	—	—	—	1,600
<i>autumnalis</i>	25,600	100	—	—	1,600	—	800	200	200	800	400	ND	400	—	—	200	400	—
<i>pomona</i>	51,200	6,400	—	—	51,200	—	6,400	—	6,400	200	6,400	6,400	6,400	—	—	—	12,800	—
<i>wolffi</i>	6,400	—	—	—	100	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>australis</i>	6,400	50	—	—	—	—	100	200	—	3,200	—	ND	—	—	400	—	—	—
<i>tarassovi</i>	6,400	—	—	—	—	100	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>georgia</i>	51,200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>javanica</i>	6,400	—	6,400	6,400	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	3,200	3,200
<i>celledoni</i>	6,400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	400	400
<i>sentot</i>	3,200	—	—	—	400	—	—	200	—	—	200	ND	—	—	—	200	—	—
<i>djasiman</i>	25,600	—	—	—	800	—	—	—	—	—	400	ND	—	—	—	100	—	—
<i>borincana</i>	12,800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>cynopteri</i>	6,400	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
<i>butembo</i>	12,800	ND	—	ND	50	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>alexi</i>	6,400	ND	—	ND	—	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>panama</i>	12,800	ND	—	ND	—	—	ND	6,400	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>shermani</i>	12,800	ND	—	ND	—	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>patoc</i>	6,400	ND	—	ND	—	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>andamana</i>	51,200	ND	—	ND	—	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>fort-bragg</i>	12,800	ND	—	ND	—	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	—
<i>mankarso</i>	6,400	ND	—	ND	100	—	ND	—	ND	ND	—	ND	ND	ND	—	ND	ND	800

— = negative at 1:50 initial dilution.

ND = not done.

Table 11. Results of the cross agglutinin-absorption tests on 13 leptospiral isolated strains

Aniserum	Absorbeb with	Reciprocal of titer against antigen			
		Homologous		Absorbing strain	
		Before	After	Before	After
<i>pomona</i> Aa-1	Aa-1 <i>pomona</i>	6,400 12,800	200 —	6,400 6,400	— —
<i>pomona</i> Aa-12	Aa-12 <i>pomona</i>	51,200 25,600	400 —	25,600 6,400	400 —
<i>pomona</i> Dm-1	Dm-1 <i>pomona</i>	6,400 12,800	100 100	1,500 6,400	50 100
<i>mangus</i> Dm-8	Dm-8 <i>mangus</i>	25,600 51,200	200 100	51,200 25,600	100 200
<i>pomona</i> Mm-1	Mm-1 <i>pomona</i>	6,400 6,400	400 50	3,200 6,400	200 —
<i>australis</i> Ns-1	Ns-1 <i>australis</i>	3,200 6,400	400 100	3,200 1,600	100 —
<i>pomona</i> Ns-2	Ns-2 <i>pomona</i>	6,400 6,400	— —	3,200 6,400	— —
<i>pomona</i> On-1	On-1 <i>pomona</i>	6,400 6,400	400 100	3,200 3,200	— —
<i>pomona</i> On-2	On-2 <i>pomona</i>	6,400 3,200	400 —	6,400 6,400	100 —
<i>ballum</i> Po-1	Po-1 <i>ballum</i>	1,600 1,600	— 100	800 800	— 50
<i>grippytyphosa</i> Po-2	Po-2 <i>grippytyphosa</i>	12,800 6,400	— —	6,400 6,400	— —
<i>grippytyphosa</i> Po-3	Po-3 <i>grippytyphosa</i>	6,400 12,800	200 400	6,400 12,800	50 100
<i>pomona</i> Rr-4	Rr-4 <i>pomona</i>	12,800 6,400	400 —	6,400 3,200	200 —

— = negative at 1:50 initial dilution.

The association observed between the results of leptospiral isolation and animal species estimated by the Chi-square value 139.51 ($P < 0.1\%$) and by the total isolations obtained from each species could reflect differences between species in southeast Brazil, related to the ability to "carry" leptospire. This was particularly true in the State of Rio de Janeiro. In addition, ecological and climatic factors could interfere in the distribution and propagation of the spirochaetes among the wild animals.

The association observed between the results of the isolations and the MAT estimated by the Chi-square value

Table 12. Contingency table of leptospiral isolations and animal species

Species	Leptospiral isolations		Total
	Positive	Negative	
<i>Mus musculus</i>	63	110	173
<i>Akodon arviculoides</i>	14	293	307
<i>Rattus rattus</i>	5	184	189
<i>Didelphis albiventris</i>	8	84	92
<i>Philander opossum</i>	3	32	35
<i>Nectomys squamipes</i>	2	40	42
<i>Rattus norvegicus</i>	2	19	21
<i>Oryzomys nigripes</i>	2	8	10
Total:	99	770	869

$$\chi^2 = 139.51; P < 0.1\%.$$

Table 13. Contingency table of the microscopic agglutination test and the isolation procedure results

		M A T		Total
		+	-	
Leptospiral isolations	+	5	19	24
	-	16	288	304
Total:		21	307	328

$$\chi^2 = 8.9987; P < 1\%; \frac{293}{328} = 89\% \text{ in agreement;}$$

$$\frac{5}{21} = 24\% \text{ sensitivity; } \frac{288}{307} = 94\% \text{ specificity.}$$

+ = positive, — = negative.

8.9987 ($P < 1\%$) does not lead to the conclusion that animal with leptospiral antibodies must necessarily harbor leptospire in its tissues. In other words, antibodies could be present and leptospire absent and vice versa, depending on when the samples were taken.

The percentage of sensitivity (24%) found shows that the isolation of leptospire from an animal is not necessarily associated with the presence of antibodies. The specificity (94%) and the agreement (89%) permit us to say that, despite the low sensitivity found, the leptospiral isolation procedure is a satisfactory one and the only tool for the identification of the animal carriers.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Professor Adriano Lucio Peracchi, from the Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23460 Seropédica, RJ, Brazil, for his assistance in classifying the animals. Thanks are also due to Vania Lucia Baêta Andrade, Luiz Dias de Castro Junior and Luiz Soares da Costa for their technical assistance.

REFERENCES

- Alston J.M. & Broom J.C. 1958. Leptospirosis in man and animals. E. & S. Livingstone, Edinburgh.
- Castro A.F.P., Rosa C.A.S. & Troise C. 1961. Preás (*Cavia aperae azarae*, Lich.) (Rodentia: Cavidae) como reservatório de leptospiros em São Paulo. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 28 : 219-223.
- Castro A.F.P., Rosa C.A.S., Troise C. & Caldas A.D. 1962. Leptospirose canina em São Paulo: Inquérito sorológico e isolamento da *L. icterohaemorrhagiae*. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 29 : 199-205.
- Cordeiro F. 1970. Leptospiras isoladas do camundongo *Mus musculus brevisrostris* no Estado do Rio de Janeiro. Pesq. Agropec. Bras., 5 : 461-464.
- Cordeiro F., Ramos A.A. & Batista Junior J.A. 1974. Aglutininas antileptospiras em soros de eqüinos de Minas Gerais. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 9 : 45-48.
- Cordeiro F., Guida H.G., Ramos A.A. & Reyes M.T. 1975. Aglutininas antileptospira em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet., 10 : 9-19.
- Cordeiro F., Barbosa M., Ramos A.A. & Godoy A.M. 1975. Aglutininas antileptospira em soros de suínos criados em regime semi-selvagem no interior do Estado da Bahia. Arqs Esc. Vet., Univ. Fed. Minas Gerais, 27 (1) : 59-62.
- Cordeiro F. & Silva I. 1974. Identification of leptospires isolated from the mouse *Mus musculus brevisrostris* in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Revta Microbiol., S. Paulo, 5 (2) : 37-41.
- Corrêa M.O.A. 1969/70. Leptospirose em São Paulo. Revta Inst. Adolfo Lutz 29/30 : 29-37.
- Corrêa M.O.A., Hyakutake S., Natale V., Galvão P.A.A. & Aguiar H.A. 1965/67. Estudos sobre a *Leptospira wolffii* em São Paulo. Revta Inst. Adolfo Lutz 25/27 : 11-25.
- Corrêa M.O.A., Hyakutake S., Natale V., Tiriba A.C. & Galvão P.A. A. 1964. Leptospirose humanas ainda não assinaladas no Brasil. Revta Inst. Med. Trop., S. Paulo, 6 (2) : 71-74.
- Freitas D.C., Veiga J.S., Lacerda Jr. P.M.G. & Lacerda J.P. 1957. Identificação da leptospirose bovina no Brasil. Revta Fac. Med. Vet., S. Paulo, 6 : 81-84.
- Guida V.O. 1948. Estudo sobre a leptospirose canina. II. Isolamento e identificação de amostras de leptospira. Revta Bras. Biol. 8 (4) : 541-543.
- Guida V.O. 1958. Identificação sorológica de amostras de Leptospira (*L. hyos*) isolada de suínos. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 25 : 73-75.
- Guida V.O., Cintra M.L., Rosa C.A.S., Caldas A.D., Corrêa M.O.A. & Natale V. 1959. Leptospirose suína provocada pela *L. canicola* em São Paulo. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 26 : 49-54.
- Kmety E., Galton M.M. & Sulzer C.R. 1970. Further standardization of the agglutinin-absorption test in the serology of Leptospire. Bull. WHO 42 : 733-738.
- Remington R.D. & Schork M.A. 1970. Chi-square tests for frequency data. In Statistics with application to the biological and health sciences. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- Rosa C.A.S. 1970. Leptospirose em animais silvestres. Isolamento de um novo sorotipo, brasiliensis, no sorogrupo bataviae. Tese, Fac. Ciências Med. Biol. Botucatu, São Paulo.
- Rosa C.A.S., Castro A.F.P. & Troise C. 1961. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de bovino em São Paulo Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 28 : 113-118.
- Rosa C.A.S., Castro A.F.P., Silva A.S. & Teruya J.M. 1969/70. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. Revta Inst. Adolfo Lutz 29/30 : 19-27.
- Rosa C.A.S., Giorgi W., Silva A.S. & Teruya J.M. 1970. Aborto em suíno: isolamento conjunto de *Leptospira*, sorotipo *icterohaemorrhagiae* e *Brucella suis*. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 37 : 9-13.
- Rosa C.A.S., Silva A.S., Giorgi W. & Machado A. 1973. Isolamento de *Leptospira* sorotipo *pomona* e *Brucella suis*, de suínos do Estado de Santa Catarina. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 40 : 29-32.
- Rosa C.A.S., Sulzer C.R., Giorgi W., Silva A.S., Yanaguita R.M. & Lobão A.O. 1975. Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of a new serotype in the pyrogenes group. Am. J. Vet. Res. 36 (9) : 1363-1365.
- Sulzer C.R. & Jones W.L. — . Leptospirosis. Methods in laboratory diagnosis. HEW publication No. (CDC) 76-8275. 40 p. (Revised edition without date, of booklet first published in 1960)
- U.S. Dept. Health, Education and Welfare 1966. Leptospiral Serotype Distribution Lists according to host and geographic area. Communicable Disease Center, Atlanta, Ga.
- U.S. Dept. Health, Education and Welfare 1975. Leptospiral Serotype Distribution Lists according to host and geographic area. Center for Disease Control, Atlanta, Ga. (Supplement to 1966 publication)
- Wolff J.M. & Bohlander H.J. 1960. Serological classification of five strains of leptospires belonging to the hyos serogroup. Trop. Geogr. Med. 2 : 173.
- World Health Organization 1967. Current problems in leptospirosis research. Report of a WHO expert group. Tech. Rep. Ser. 380, Geneva.

COLANGIOCARCINOMAS EM GATOS COM PARASITISMO DE DUTOS BILIARES POR *Platynosomum fastosum*¹

JEFFERSON ANDRADE DOS SANTOS², MARIA A. DA FONSECA LOPES³, ANTONIO CARLOS SCHOTT⁴, AGUINALDO EMILIANO DOS SANTOS⁵, LENIR CARDOSO PORFIRIO⁵ E LUCIANO PASSOS⁵

ABSTRACT. Santos J.A., Lopes M.A.F., Schott A.C., Santos E.A., Porfirio L.C. & Passos L. 1981. [Cholangiocellular carcinoma with biliary parasitism by *Platynosomum fastosum*.] Cholangiocarcinomas em gatos com parasitismo de dutos biliares por *Platynosomum fastosum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):31-36. Depto Patologia, Universidade Federal Fluminense, R. Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230, Brazil.

This is the first description of adenocarcinomas of the bile ducts of the cat (*Felix cattus domesticus*), naturally infected with the parasite *Platynosomum fastosum*. The studies were based on four old female cats. The authors hypothesize a relationship between the parasites and the neoplasms, which is suggested by the appearance of neoplasms at the sites of parasitism. In a series of neoplasms diagnosed in cats in Brazil over a 20 year period by the authors, only 5 were primary to the liver, 4 of those being the duct carcinomas described. These findings are analogous to those reported in humans, cats and dogs parasitized by *Clonorchis sinensis* or *Opisthorchis felineus*. The relatively advanced age of the animals studied and the long survival of certain trematodes in the biliary ducts indicate a chronic state of the lesions and their subsequent development into cancer.

INDEX TERMS: *Platynosomum fastosum*, cholangiocellular carcinoma, carcinogenesis by helminths, cat.

INOPSE. Os autores fazem a primeira descrição de adenocarcinomas de dutos biliares em gatos (*Felix cattus domesticus*) com parasitismo dutoal por *Platynosomum fastosum*. A observação é baseada em quatro casos e os animais tinham respectivamente 8,9 e 13 anos de idade, não havendo indicações da idade no 4º caso. Todos os animais eram fêmeas. Os autores concluem pela interdependência entre a parasitose e as neoplasias surgidas, o que é patenteado pelo aparecimento das mesmas ao nível dos sítios parasitados; de outro lado, em uma série de neoplasias diagnosticadas em gatos pelos autores ao longo de 20 anos, apenas cinco eram primários do fígado, quatro dos quais eram os carcinomas dutoais ora descritos. O problema apresenta analogia com os carcinomas de dutos biliares registrados em humanos, gatos e cães parasitados por *Clonorchis sinensis* ou por *Opisthorchis felineus*. A idade relativamente avançada dos animais estudados e a sobrevivência longa de certos trematódeos das vias biliares indicam uma cronicidade de lesões dutoais e a sua posterior cancerização.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Platynosomum fastosum*, colangiocarcinoma, carcinogênese por helmintos, gato.

INTRODUÇÃO

O primeiro trabalho estabelecendo uma possível correlação das infestações helmínticas com o aparecimento de neoplasias nos tecidos parasitados é de autoria de Borrel, que em 1906 observou em ratos a coincidência do aparecimento de sarcomas hepáticos em membranas conjuntivo-vasculares que envolvem *Cysticercus fasciolaris*.

Estudos levados a termo a partir das observações preliminares de Borrel até os dias presentes vêm indicando que, em certas circunstâncias, pode evidenciar-se uma incontestável correlação entre infecções helmínticas e o aparecimento de neoplasias nos sítios assim parasitados.

A revisão exaustiva da literatura a respeito do assunto indica que cerca de 40 espécies de helmintos são supostamente consideradas tumorgênicas, número que no entanto se reduz sensivelmente, quando os resultados apresentados são submetidos a análise crítica cuidadosa; verifica-se, então, que na maioria dos casos há simples concomitância do parasito com a neoplasia, como se infere, por exemplo, das descrições de rabdomiossarcomas e infecções por *Trichinella spiralis*.

De acordo com o ponto de vista da maioria dos pesquisadores que trabalham atualmente no problema, há indícios de interdependência entre infestação parasitária e cancerização das respectivas áreas lesadas nas infecções por *Cysticercus fasciolaris*, *Spirocercus lupi*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineus* e *Schistosoma haematobium*.

Cysticercus fasciolaris é o estágio larvar de *Taenia taeniiformis* do gato. A partir dos trabalhos de Bullock e Curtis (1920), ficou evidenciado que na cápsula envolvente daquele cisticerco, quando ele parasita ratos, surgem com certa frequência tumores mesenquimatosos malignos e as neoplasias ocorrem quando a infecção aparece naturalmente ou artificialmente; assim, ratos que recebem os ovos da tênia de-

¹ Aceito para publicação em 22 de agosto de 1980.

² Prof. Titular do Departamento de Patologia e Apoio Clínico da Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

³ Policlínica Veterinária Tiradentes, Rua Tiradentes 32, Niterói, RJ 24210.

⁴ Clínica Veterinária Schott, Rua 5 de julho 176, Niterói, RJ 24220.

⁵ Prof. Assistente do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23460.

envolvem sarcomas hepáticos que são ora fusocelulares, ora polimorfocelulares, surgindo às vezes cartilagens neles.

Trabalhos posteriores de Dunning e Curtis (1946) indicam que 90% dos ratos injetados intraperitonealmente com suspensão salina dos triturados desse cisticerco desenvolvem sarcomas peritonias.

Em investigações um pouco mais recentes, de autoria de Osunkoya et al. (1971), ficou demonstrado que as células da neoplasia em cultivo apresentam caracteres que lembram os presentes nos elementos de origem mesotelial.

Deve-se realçar o fato de os camundongos jamais apresentarem os sarcomas hepáticos, apesar da frequência de seu parasitismo por *C. fasciolaris* (Santos 1978).

Spirocercu lupi é um nematóide do cão, o qual, nos estádios finais de sua fase larvar, passa do estômago à corrente sanguínea; chegando à aorta, cria uma galeria, migrando para o esôfago. Nesse órgão formam-se nódulos, onde o nematóide se torna adulto. Tais lesões localizam-se quase sempre no terço inferior do órgão.

As primeiras investigações a respeito do papel desse nematóide na gênese de tumores são de autoria de Seibold et al. (1955) que, ao necropsiarem 39 cães parasitados pelo helminto em causa, verificaram 10 neoplasias esofagianas correlacionadas com a infecção por *S. lupi*. Três casos foram classificados como fibrossarcomas, com a ocorrência de uma metástase, e sete como osteossarcomas, com a ocorrência de quatro. Em três casos, os parasitos não foram encontrados, mas, como os animais fossem portadores de espondilites ossificantes sugestivas da parasitose, admitiram aqueles autores terem os animais sofrido a referida helmintose. Trabalhos posteriores desenvolvidos no Egito, na Jamaica, na Palestina, na Índia, em Kenya e no Brasil, neste último por Dacorso et al. (1961) confirmaram a interdependência espirocercose-sarcoma esofágico em cães.

Clonorchis sinensis é um trematódeo da família Opisthorchiidae, o qual tem, como primeiros hospedadores, caramujos do gênero *Bithynia*, ou de gêneros afins. As metacercárias são encontradas nos músculos de certos peixes. O trematódeo adultos parasita os dutos biliares de gatos, cães e seres humanos, que se infectam durante a ingestão de peixes crus ou semicocidos, albergando as aludidas metacercárias.

Os trabalhos relativos à correlação da infecção por *C. sinensis* e o aparecimento de carcinomas primários do fígado foram realizados por Hou (1956) que verificou que, entre 200 carcinomas hepáticos observados em chineses vivendo em Hong Kong, 30 eram produzidos pelo helminto em questão. Tais carcinomas se originavam de dutos biliares de 2ª ordem e a hiperplasia epitelial era uma lesão precursora. O tumor era multifocal. Às vezes eram mucíparos e em certos casos havia metaplasia córnea. Admitiu o autor que 15% dos carcinomas do fígado de seres humanos vivendo em Hong Kong sejam causados por *C. sinensis*.

Hou, em dois trabalhos posteriores (1964, 1965), voltou a registrar o singular evento; em um primeiro artigo descreveu três casos de carcinoma primário de dutos biliares de 2ª ordem em três gatos infectados por *C. sinensis*, em um dos quais a parasitose fora induzida pela administração de peixe parasitado. No 2º trabalho consigna, em um cão da raça Chow, caso de carcinoma de canais biliares, oriundo de duto de 2ª ordem parasitado pelo trematódeo em causa.

Recentemente, o problema foi focalizado por Putillo (1976) que, estudando 38 casos de infecção crônica por

C. sinensis em seres humanos que viviam em Hong Kong, verificou que dez tinham morrido de carcinomas hepatocelulares, sete de colangiocelular, um de carcinoma de duto biliar distal e um de linfoma.

Opisthorchis felinus é um trematódeo das vias biliares do gato, do cão e do homem, o qual, como *C. sinensis*, tem, como primeiros hospedadores, caramujos do gênero *Bithynia*, ocorrendo as respectivas metacercárias em certos peixes, tal como acontece com *C. sinensis*. Sua distribuição geográfica é ampla: Ásia e Europa.

A interdependência da infecção pelo trematódeo em causa e o aparecimento de cânceres do fígado em seres humanos foi levantada por diferentes pesquisadores ao início deste século, tendo Bokyo (apud Wittenberg 1964) comprovado mais tarde que neoplasias hepáticas ocorriam em mais de 7% de pessoas parasitadas pelo trematódeo. Hoogland (1929) e Botti (1954) chegaram a idênticas conclusões fazendo observações em animais, mostrando o aparecimento de carcinomas hepáticos respectivamente em gato e cães infectados por *O. felinus*.

Schistosoma haematobium é um trematódeo que, na fase adulta, parasita as veias da bexiga, do mesentério e da região púbica do homem e de certos macacos. Seus ovos migram através da parede da bexiga e assim chegam à urina.

Os primeiros registros relativos ao aparecimento de neoplasias vesicais em indivíduos parasitados por *S. haematobium* foram feitos por Ferguson (1911-1912), que procurou mostrar as correlações da infestação helmíntica da bexiga com o surgimento de cânceres do órgão, chamando a atenção para o fato de mulheres se mostrarem também parasitadas, sendo, no entanto, excepcionais as neoplasias vesicais nelas.

Uma série de evidências revela a inter-relação do parasitismo da bexiga por *S. haematobium* e sua cancerização. Merecem destaque os seguintes: 1) os egípcios com a parasitose apresentam incidência mais elevada que os europeus não parasitados; 2) o câncer aparece também entre os europeus, quando infectados pelo helminto; 3) os carcinomas vesicais que aparecem nas bexigas parasitadas são quase sempre do tipo epidermóide, o que não ocorre nas bexigas não parasitadas, cujo tipo predominante é o de células de transição; 4) os cânceres correlacionados com o trematódeo ocorrem cedo (3ª – 4ª décadas de vida), surgindo mais tardiamente os demais.

Platynosomum fastosum é um trematódeo que, em seu estágio adulto, é encontrado nos canais biliares e na vesícula biliar do gato e do furão. Segundo Maldonado (1945) em Porto Rico, o seu hospedador intermediário é um caramujo – *Subulina octona* – ocorrendo neste duas gerações de esporocistos; o 2º hospedeiro intermediário é um crustáceo isópodo ainda não identificado.

Os diferentes autores que se ocuparam com a histopatologia da helmintose referida são mais ou menos unânimes no registro da ocorrência de dilatação e espessamento das paredes dos dutos associados à hiperplasia de seu epitélio. Assim, Ware (1923), o primeiro pesquisador a estudar o problema, afirma que as lesões encontradas na platynosomose lembram muito as achadas no fígado de carneiros parasitados por *Fasciola hepatica*, verificando-se grande espessamento dos dutos biliares, com a formação de catarro e proliferação da mucosa com massas de epitélio desprendendo-se provavelmente, na tentativa para a formação de novo

tos; além das lesões dos canais biliares, ocorre certo grau de congestão e fibrose dos espaços-porta; há ainda infiltração gordurosa, faltando sinais de calcificação.

Torres e Pinto (1936), estudando a parasitose no Brasil, tiveram ocasião de examinar 22 animais, 36% dos quais se mostravam parasitados, verificando que as infecções se caracterizavam pelo achado de um pequeno número de parasitos — 12 o número máximo de *P. fastosum* colhidos no mesmo fígado. O exame externo do fígado não mostrava nenhuma lesão apreciável; no entanto, quando seccionado, o tecido conjuntivo dos espaços-porta era mais amplo, por causa do espessamento das paredes dos condutos biliares intra-hepáticos; de tais condutos saíam espontaneamente exemplares de *P. fastosum*. Histologicamente registram como fundamentais as seguintes lesões: espessamento do cólon dos condutos biliares com infiltração descontínua do mesmo por polimorfonucleares e hiperplasia de suas glândulas.

Robinson e Ehrenfor (1962), bem como Retnasabapathy Prathap (1971), chegaram a idênticas conclusões trabalhando respectivamente nos Estados Unidos e na Malásia. Os primeiros autores comprovaram em gato parasitado, fibrose de dutos com pequenos focos purulentos e neoformação de condutos nas áreas fibrosadas, enquanto os últimos registram fibrose e proliferação epitelial dos dutos biliares, acompanhadas de lipidose de hepatócitos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os animais observados morreram espontaneamente, sendo necropsiados a seguir. Segmentos da neoplasia eram recolhidos em solução fixadora de formol, após o que eram incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados pela hematoxilina-eosina.

Os parasitos eram retirados durante o exame *post mortem*; eram lavados em solução salina e transferidos para álcool etílico a 70%.

RESULTADOS

1º Caso: Gato da raça Siamesa, fêmea, com 13 anos de idade

A necropsia foi encontrado espessamento dos dutos biliares que se mostravam parasitados por *Platynosomum fastosum*, bem como nódulos de cor esbranquiçada, de forma aproximadamente redonda, de diâmetros variáveis entre alguns milímetros e 2–3 cm, disseminados pelo órgão, ocorrendo ao nível do epíploon, massa igualmente arredondada com cerca de 3 cm de diâmetro.

O exame microscópico indica que os dutos parasitados se apresentam dilatados e com fibrose envolvente (Fig. 1), enquanto que outros não parasitados exibem hiperplasia de elementos glandulares, cujo epitélio mostra discretos sinais de anisomorfismo e de hiperchromatismo. Há resposta inflamatória dos condutos, marcada por exsudação ao nível do lúmen dos mesmos, constituída de neutrófilos e macrófagos e pela ocorrência de ninhos de eosinófilos dispostos entre as glândulas hiperplásicas. O tumor envolve os condutos lesados (Fig. 2); é essencialmente de natureza acinar e

esquiroso, havendo no entanto ilhotas densas e desprovidas de luz (Fig. 3). A anaplasia faz-se presente e é representada por perda de polaridade, hiperchromatismo e ocorrência de mitoses anômalas.

2º Caso: Gato mestiço, fêmea, com 9 anos de idade

À necropsia foi observado espessamento de dutos biliares, no interior dos quais foram encontrados exemplares de *Platynosomum fastosum*, a par de nódulos esbranquiçados, de diâmetros variáveis entre poucos milímetros a 2–3 cm, disseminados pelo órgão.

O exame microscópico do fígado revela processo de fibrose envolvendo dutos biliares que apresentam hiperplasia de suas glândulas (Fig. 4) e ninhos de eosinófilos entre as mesmas, ocorrendo ainda certo grau de transformação papilífera da respectiva mucosa (Fig. 5). O processo neoplásico rodeia duto parasitado; o blastoma se constitui de elementos celulares providos de núcleos ovóides e pobres em cromatina, sendo escasso o citoplasma. Tais elementos se dispõem ora desordenadamente em massas não estruturadas, ora harmoniosamente, formando elementos tubuliformes comparáveis a dutos biliares (Fig. 6). Há áreas de queratinização amplas. A anaplasia do tumor é bem configurada pela ampla população celular e pela presença de numerosas figuras anômalas de mitose.

3º Caso: Gato fêmea com 8 anos de idade

À necropsia foi encontrada intensa infecção por *Platynosomum fastosum* e massa tumoral da região do hilo hepático, medindo 5 cm de diâmetro, ocorrendo nódulos tumorais múltiplos e circunvizinhos, medindo 0,5 a 1 mm de diâmetro.

O exame microscópico revela ao nível dos dutos biliares parasitismo pelo trematódeo (Fig. 7), mostrando-se os mesmos envolvidos por anéis fibróticos que apresentam infiltrados constituídos de ácinos neoplásicos; o tumor assim infiltrante é formado essencialmente de pequenas células com acentuado hiperchromatismo (Fig. 8). Grandes massas tumorais envolvem os dutos biliares e nelas a disposição é às vezes desordenada, não se notando a edificação de dutos. A neoplasia tem um caráter nitidamente infiltrativo de sorte que são encontrados ácinos neoplásicos perdidos em áreas aparentemente normais do parênquima hepático. O tumor é comprovado também ao redor de canais biliares que mostram a ocorrência de ovos de parasito em suas luzes e sinais de inflamação.

4º Caso: Gato mestiço, fêmea, sem registro de idade

À necropsia foi evidenciado o parasitismo de dutos biliares por *Platynosomum fastosum*, ocorrendo processo neoplásico disseminado pelo fígado, caracterizado pela presença de nódulos arredondados, esbranquiçados e de diâmetros variados, dispersos pelo fígado.

O exame microscópico revela dilatação de dutos parasitados que mostram marcante hiperplasia de suas glândulas e fibrose envolvente (Fig. 9). Ao redor dos dutos o parênquima se mostra infiltrado por ninhos tumorais formados de células com disposição desordenada, pequenas, providas de citoplasma escasso e de núcleos densamente cromáticos, quase sempre anisomórficos, de permissão às quais são encontradas pequenas massas de linfócitos e monócitos. Tais fo-

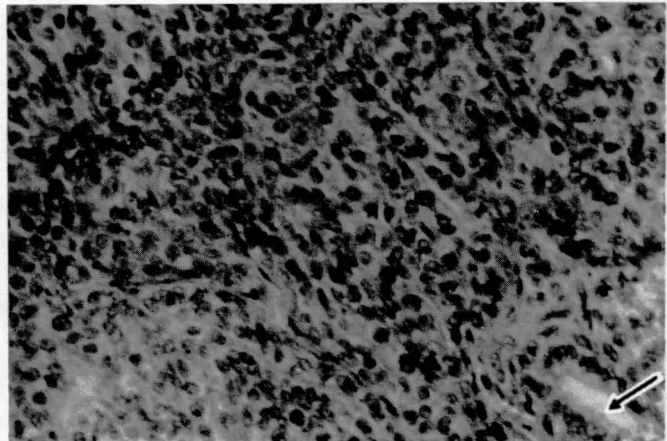
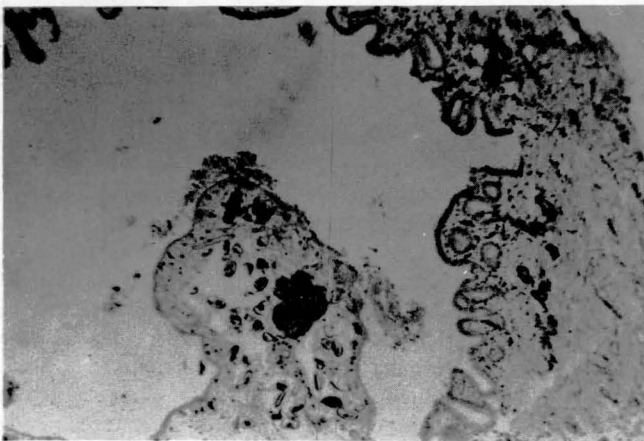
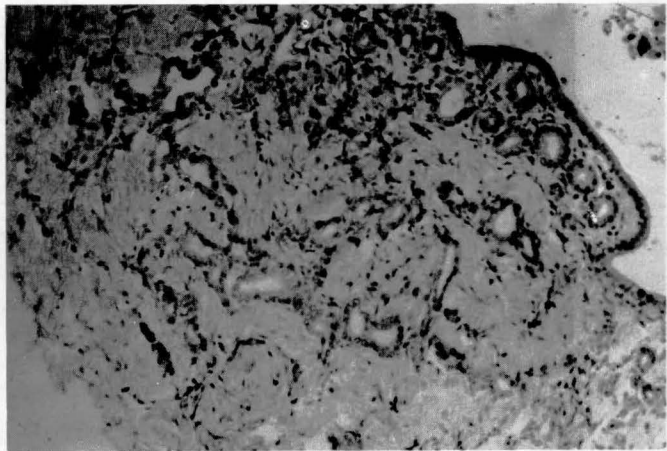
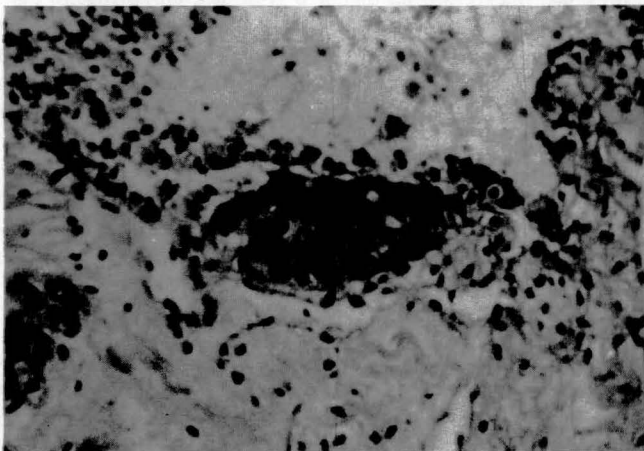
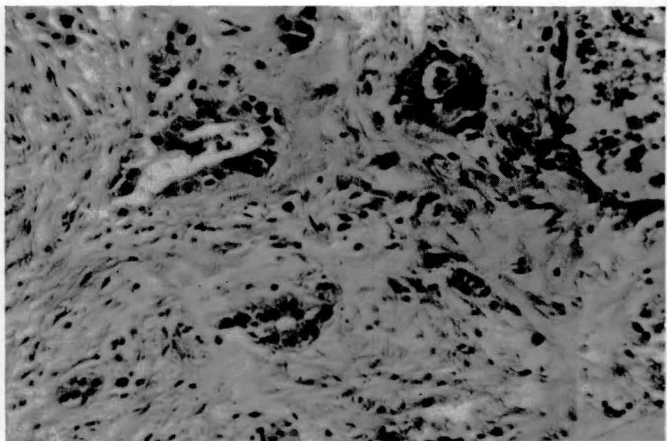
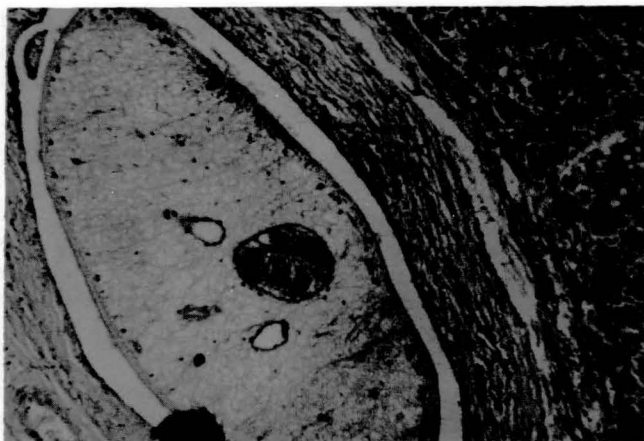


Fig. 1. Duto biliar de gato parasitado por *Platynosomum fastosum*, com fibrose envolvente. Hematoxilina-Eosina. Obj. 6,3. (1º caso)

Fig. 2. Adenocarcinoma envolvendo duto biliar lesado. H.E. Obj. 6,3. (1º caso)

Fig. 3. Ilhota tumoral densa à margem da luz de conduto biliar. H.E. Obj. 6,3 (1º caso)

Fig. 4. Hiperplasia de glândulas dutais. H.E. Obj. 6,3. (2º caso)

Fig. 5. Duto biliar parasitado, mostrando-se dilatado e com transformação papilífera da mucosa, H.E. Ob. 2,5. (2º caso)

Fig. 6. Disposição desordenada dos elementos neoplásicos, assinalada por seta, formação de duto. H.E. Obj. 1,6. (2º caso)

cos neoplásicos se difundem pelo parênquima hepático sob a forma de pequenos aglomerados celulares que se alternam com áreas normais do órgão. Pequenos focos de fibrose são encontrados dispersos pelo parênquima, notando-se no seio dos mesmos uma certa diferenciação do tumor com a formação de estruturas que simulam dutos biliares. Tais estruturas são ora providas de luz, ora mal conformadas e bastan-

te irregulares em seus contornos, sendo o hiperchromatismo uma constante nessas porções (Fig. 10).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A correlação da infecção por helmintos com o aparecimento de cânceres nos sítios lesados pelo parasito vem sendo e



Fig. 7. Duto biliar parasitado, mostrando-se envolvido e infiltrado por células neoplásicas. H.E. Obj. 2,5. (3º caso)

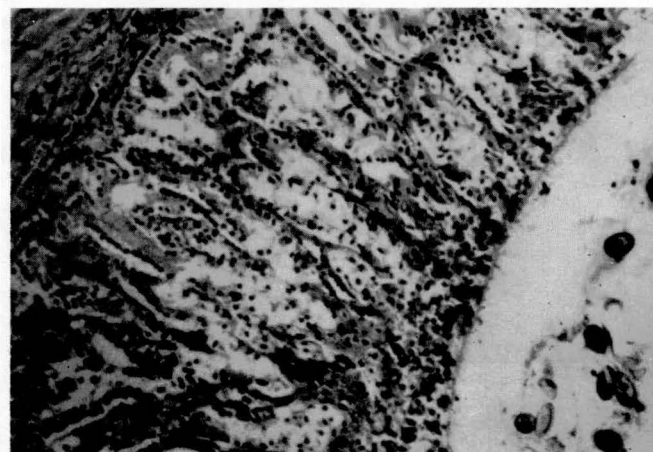


Fig. 8. Ácinos neoplásicos infiltrados na parede de duto fibrosa. H.E. Obj. 6,3. (3º caso)

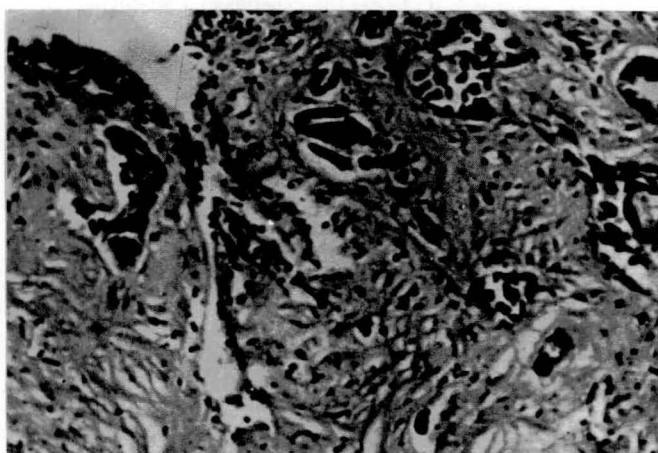


Fig. 9. Presença de ovos de *P. fastosum* na luz de duto biliar com acentuada hiperplasia de glândulas e fibrose envolvente. H.E. Obj. 6,3. (4º caso)

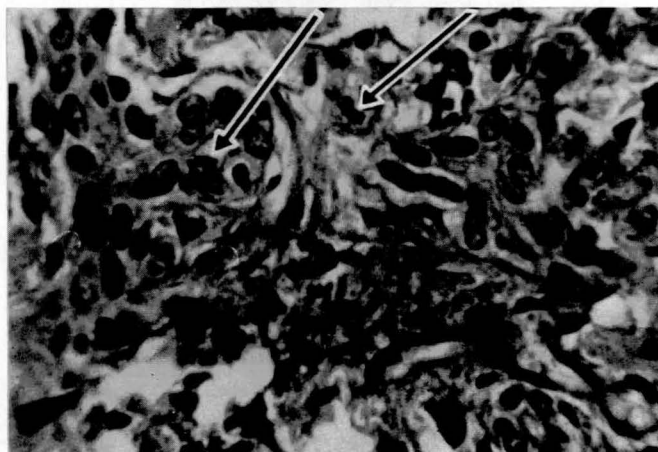


Fig. 10. Disposição desordenada de células neoplásicas, notando-se hiper cromatismo em algumas; assinalada por seta, mitose anormal e esboço de duto. H.E. Obj. 40 (4º caso)

udada desde o início do século. Embora grande número de helmintos tenha sido incriminado pelo surgimento de neoplasias, a lista deles se reduziu a cinco, três dos quais são trematódeos. De tais trematódeos, dois, *Clonorchis sinensis* e *Opisthorchis felinus*, são parasitos de vias biliares de gatos, o que indicaria uma predisposição daquele carnívoro a desenvolver colangiocarcinomas quando seus dutos biliares são parasitados por trematódeos, o que, de alguma maneira, endossa o ponto de vista que sustentamos da participação efetiva de *Platynosomum fastosum* na gênese dos colangiocarcinomas observados.

O aparecimento da neoplasia nas áreas parasitadas, parenteado em nossos casos, é outro elemento que fortalece a opinião que defendemos de uma interdependência entre a infecção por *Platynosomum fastosum* e o aparecimento de carcinomas biliares.

De outro lado, tanto na clonorquíase como na opistorquíase há hiperplasias de elementos glandulares dos dutos biliares parasitados, ocorrendo, ao mesmo tempo, dutos com transformação neoplásica, fato também observado em nossos casos.

A extrema raridade dos carcinomas hepáticos em gatos no Brasil é outro dado que vem reforçar a alegada correlação, sendo oportuno citar os achados de Machado et al.

(1963) a respeito; em observações realizadas em nosso País por tais investigadores, cobrindo um período de cerca de 30 anos, verificaram a ocorrência de 93 neoplasias no aludido animal, das quais apenas uma foi classificada como primitiva no fígado. Destarte, poder-se-ia admitir que, em nossas condições, os gatos domésticos praticamente só apresentariam carcinomas primários do fígado quando este se mostrasse parasitado por *Platynosomum fastosum*.

A idade relativamente avançada dos animais por nós estudados e a sobrevida longa de certos trematódeos das vias biliares — 40 anos para *Clonorchis sinensis*, segundo Caleiro (1967), indicariam uma cronicidade das lesões duitais por *Platynosomum fastosum* e a posterior cancerização delas.

Pode-se concluir ao se registrar a ocorrência de quatro casos de colangiocarcinomas em gatos com parasitismo dos dutos biliares por *Platynosomum fastosum*, pela correlação da helmintose com as neoplasias surgidas

REFERÊNCIAS

- Borrel A. 1906. Cancers et helminthes. Bull. Acad. Méd. 55:591.
Botti L. 1954. Adenocarcinomatosi epatica cane associata ad infezione massiva da *Opisthorchis felinus*, Rivolta 1884. Atti Soc. Ital.Sci. Vet. 8:523-526.

- Bullock F.D. & Curtis M.R. 1920. The experimental production of sarcoma in the liver of rats. *Proc. New York Path. Soc. N. S.* 20:149-175.
- Calero M.C. 1967. Clonorchiasis in Chinese residents of Panama. *J. Parasitol.* 53(60):1150.
- Dacorso Filho P., Langenegger J., Faria J.F. & Gonzalez O.J.L. 1961. Infestação por *Spirocercia lupi* e sarcoma osteogênico em esôfago de cão. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J.*, 4:1-11.
- Dunning W.F. & Curtis M.R. 1946. Multiple peritoneal sarcoma in rats from intraperitoneal infection of washed ground *Taenia* larvae. *Cancer Res.* 6:668-670.
- Ferguson A.R. 1911-1912. Associated bilharziosis and primary malignant disease of the urinary bladder with observations of a series of forty cases. *J. Path. Bact.* 16:76-94.
- Hoogland H.J.M. 1929. Carcinome der Gallenwege bei Distomatose der Katze. *Z. Krebsforsch.* 29:239-269.
- Hou P.C. 1956. The relationship between primary carcinoma of liver and infection with *Clonorchis sinensis*. *J. Path. Bact.* 72:239-246.
- Hou P.C. 1964. Primary carcinoma of bile duct of the liver of the cat (*Felix cattus*) infested with *Clonorchis sinensis*. *J. Path. Bact.* 82:239-244.
- Hou P.C. 1965. Hepatic clonorchiasis and carcinoma of bile duct in a dog. *J. Path. Bact.* 89:363-367.
- Machado A.V., Silva J.M.L., Curial O., Trein E.J., Saliba A.M., Martins E.O., Cavalcanti M.I., Santos J.A., Tokarnia C.H., Dobereiner, J., Faria J.F., Novloski G. & Costa Ferreira E.F. 1963. Incidência de blastomas em animais no Brasil. *Arqs Esc. Vet., Minas Gerais*, 15:327-401.
- Maldonado J.F. 1945. Ciclo vital y biología del *Platynosomum fastosum*, Kossak, 1910 (Trematodos: Dicrocoelidae). *Puerto Rico J. Publ. Hlth Trop. Med.* 21:17-34.
- Osunkoya B.C., Iloria A.A. & James D.M. 1972. *Cysticercus* sarcoma in rats. *Nigerian J. Sci.* 5(2):197-205.
- Purtillo D.T. 1976. Clonorchiasis and hepatic neoplasms. *Trop. Geogr. Med.* 28:21-27.
- Retnasabapathy A. & Prathap K. 1971. The liver fluke *Platynosomum fastosum* in domestic cats. *Vet. Rec.* 88:62-65.
- Robinson V.B. & Ehrenfor F.A. 1962. Hepatic lesions associated with liver fluke (*Platynosomum fastosum*) infection in the cat. *Am. J. Vet. Res.* 23:1300-1303.
- Santos J.A. 1978. *Patologia geral dos animais domésticos*. 2ª ed. Ed. Interamericana, Rio de Janeiro.
- Seibold H.R., Hoerlein B.F., Jordan E.M. & Schwabe C.W. 1955. Observations on the possible relation of malignant esophageal tumours and *Spirocercia lupi* lesions in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 16:5-14.
- Torres C.M. & Pinto C. 1936. Processos patogênicos determinados pelos trematódeos *Eurytrema fastosum* e *E. coelomaticum*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 13(4):732-746.
- Ware F. 1923. Some members of the family Dicrocoelidae affecting domestic animals. *J. Comp. Path. Therap.* 36(1):36-39.
- Wittenberg G. 1964. Trematodiasis, p. 602-648. In *Van der Hoeden* (ed.) *Zoonoses*, Elsevier, Amsterdam.

ESTUDOS SOBRE A TRANSMISSÃO CONGÊNITA DO VÍRUS DA LEUCOSE LINFÓIDE AVIÁRIA¹

FRANCISCO S. ROCHA², CARLOS H. ROMERO³, CHERYL A. ROWE³, ANGELA G. SILVA⁴,
OSVALDO A. RESENDE⁵, PAULO G.O. DIAS⁵ E MARIA W. SANTOS⁵

ABSTRACT. Rocha F.S., Romero C.H., Rowe C.A., Silva A.G., Resende O.A., Dias P.G.O. & Santos M.W. 1981. [Studies on the congenital transmission of avian lymphoid leukosis virus.] Estudos sobre a transmissão congênita do vírus da leucose linfóide aviária. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):37-42. Esc. Med. Vet. Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Bairro Tirirical, São Luis, MA 65000.

White Leghorn hens from two commercial lines were identified as shedders or non-shedders using the micro-complement fixation test. This test detected the group-specific antigen (gs-ag) of the leukosis/sarcoma group of viruses when used directly on the albumen of unincubated fresh eggs. It was found that 21.4% of line A hens and 17.2% of line B hens eliminated gs-ag into their eggs. Sequential studies of the elimination of the gs-ag, demonstrated that infected hens can be either intermittent or consistent shedders of this antigen in their eggs. Electron microscopy studies demonstrated the presence of type-C viral particles in the pancreas and in the magnum of the oviduct of hens that had consistently shed the gs-ag in the egg albumen. The indirect immunofluorescence test detected gs-ag in the cytoplasm of peripheral blood leucocytes and was used to detect infected roosters that were utilized as semen donors. Artificial insemination of non-shedder hens with semen obtained from infected roosters resulted in the shedding of gs-ag into the eggs of one of the hens. Moreover, there was seroconversion in 11 of the 26 hens from both lines, inseminated with semen from the infected roosters. It was concluded that LL virus infection could be introduced, through insemination, to non-infected hens using semen from infected roosters.

INDEX TERMS: Congenital transmission, virus, avian lymphoid leukosis.

SINOPSE. A microprova de fixação do complemento permitiu a identificação de galinhas Leghorn brancas das linhagens A e B infectadas com o vírus da LL aviária. Esta prova detectou o antígeno específico (ag-gs) do vírus do grupo leucose/sarcoma aviário quando foi utilizada diretamente na albumina de ovos frescos não incubados. Encontrou-se que 21,4% das galinhas da linhagem A e 17,2% das galinhas da linhagem B do plantel geral eliminavam ag-gs nos seus ovos. Foi demonstrado também que as galinhas infectadas podem eliminar ag-gs nos ovos, constantemente ou intermitentemente. Estudos realizados com o microscópio eletrônico demonstraram a presença de partículas virais do tipo C no pâncreas e na porção do magnum do oviduto de galinhas que tinham eliminado ag-gs do vírus da LL constantemente na albumina dos ovos. A técnica de imunofluorescência indireta detectou ag-gs no citoplasma de leucócitos de aves portadoras e foi utilizada para identificar galos infectados a serem usados como doadores de sêmen. A inseminação de galinhas não eliminadoras de ag-gs do vírus da LL com sêmen de galos portadores resultou na eliminação de ag-gs nos ovos de uma das galinhas inseminadas. Mais ainda, houve uma conversão sorológica, em 11 das 26 galinhas

das linhagens A e B após serem inseminadas com sêmen de galos portadores, demonstrando-se assim a participação do galo como introdutor da infecção via sêmen.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Transmissão congênita, vírus, leucose linfóide aviária.

INTRODUÇÃO

A leucose linfóide (LL) é uma neoplasia do tecido linfóide das aves causada por vírus tumorais RNA, também denominados oncornavirus (Temin 1974). Estes vírus são classificados no grupo leucose/sarcoma por possuírem em comum um antígeno específico de grupo (ag-gs), o qual é detectado na prova de fixação do complemento para os vírus da leucose aviária (COFAL) (Sarma et al. 1964).

Os vírus da LL são transmitidos, congenitamente, de galinhas infectadas a sua progênie e desta forma garantem sua perpetuação de geração a geração (Rubin et al. 1961). Quando porções do magnum do oviduto são estudadas, com o microscópio eletrônico, podem-se observar grandes quantidades de partículas virais do tipo C livres e em gemulação nas células produtoras de albumina (DiStefano & Dougherty 1965). Estes achados culminaram com o desenvolvimento de testes laboratoriais mais exatos e sensíveis, como a prova de mistura fenotípica para detectar vírus infecciosos da LL na albumina, e na prova de fixação do complemento modificada para detectar ag-gs, também na albumina de ovos frescos não incubados (Spencer et al. 1976, Romero 1977).

O desenvolvimento destes últimos métodos práticos tem incrementado a elaboração de programas dirigidos, a con-

¹ Aceito para publicação em 30 de outubro de 1980.

² Escola de Medicina Veterinária do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Bairro Tirirical, São Luis, Maranhão 65000.

³ Projeto de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

⁴ Departamento de Virologia, Instituto de Microbiologia, UFRJ, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro 21910.

⁵ Projeto Aves, EEI/PESAGRO, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

trolar e eventualmente a erradicar os vírus da LL (Okazaki et al. 1979, Romero et al. 1979). As vantagens de dispor de progênes livres da infecção dos vírus da LL são múltiplas, i.e., disponibilidade de ovos embrionados isentos de vírus oncogênicos para a preparação de vacinas para uso humano e animal, e de ovos de melhor qualidade para pesquisas biológicas, e incremento potencial da produtividade de ovos e carne de aves.

O presente estudo foi dirigido para avaliar diversos parâmetros que poderiam influenciar a transmissão congênita de ag-gs dos vírus da LL, como indicador da infecção. Foram analisados diversos parâmetros relacionados com a transmissão congênita dos vírus da LL, utilizando como critério a presença de seu ag-gs na albumina de ovos frescos não incubados, visando a adquirir conhecimentos que permitam mais eficiente metodologia a ser utilizada na demonstração de aves infectadas em programas de erradicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves

As aves utilizadas eram da raça Leghorn branca das linhagens A e B (Cunha Filho & Monteiro 1971) do Projeto Aves da Estação Experimental de Itaguaí, PESAGRO—Rio. Estas linhagens têm sido mantidas durante, aproximadamente, 25 anos através de seleção pela progênie e posteriormente em duas fases de seleção recorrente recíproca.

Alojamentos

As aves foram criadas no chão, em galpão convencional de tipo comercial, durante as primeiras 16 semanas de idade. No início do presente trabalho, as aves selecionadas foram identificadas e colocadas em gaiolas individuais para o controle das observações feitas em cada uma delas. Todas as aves tinham sido vacinadas contra as doenças do Marek e de Newcastle e contra o epiteloma contagioso das aves, com vacinas comerciais preparadas em ovos COFAL negativos.

Culturas celulares

Culturas celulares de fibroblastos de embrião de galinha (FEG) foram preparadas segundo a técnica descrita por Solomon (1975). O meio de cultura para a propagação, crescimento e manutenção de FEG era uma mistura de HAM'S F-10 e 199 (Microbiological Associates, Bethesda, MD, USA) contendo 4% de soro de bezerro, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µg/ml e micostatina 25 U/ml de meio de cultura (meio de crescimento). O meio de manutenção era o mesmo contendo apenas 2% de soro de bezerro. Os leucócitos para culturas foram obtidos por choque hipotônico de sangue periférico heparinizado e cultivados a 37°C durante 24 horas em seu plasma original.

Teste de fixação do complemento

Foi utilizada a prova de fixação do complemento para os vírus do grupo leucose/sarcoma aviário, originalmente descrita por Sarma et al. (1964) e modificada para ser utilizada em albumina (Spencer et al. 1976, Romero 1977). Cada albumina foi rotineiramente testada nas diluições de 1:2 a 1:4. O anti-soro de referência foi produzido em coelhos pela inoculação de vírus de mieloblastose aviária purificado (Smith 1977).

Teste de imunofluorescência

Foi utilizada a prova de imunofluorescência indireta sobre culturas de leucócitos de 24 horas (Romero et al. 1981). O anti-soro de referência foi o mesmo utilizado para a prova de fixação de complemento, enquanto que o anti-soro marcado com FITC contra IgG de coelho foi obtido comercialmente (Miles—Yeda Ltda., Rehovet, Israel).

Teste de imunodifusão

Anticorpos contra o vírus da LL foram detectados utilizando a microprova de imunodifusão previamente descrita (Romero et al. 1979). Os antígenos referências constituíam-se de fluidos obtidos de FEG infectados congenitamente com vírus da LL e concentrados 100 vezes por diálise em polietilenoglicol 6.000 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA). O anti-soro de referência foi um soro de galinha que dava reação de identidade com anti-soros específicos contra RAV-1 e BH-RSV (RAV-1), ambos pertencentes ao subgrupo A do complexo leucose/sarcoma, e uma linha de precipitação com o antígeno padrão.

Microscopia eletrônica

Fragmentos de, aproximadamente, 1 mm³ de pâncreas e de magnum do oviduto de 2 galinhas portadoras da linhagem A (A +), de 1 galinha portadora da linhagem B (B +), de 1 galinha não portadora da linhagem A (A -) e de 1 galinha não portadora da linhagem B (B -) foram coletados, diretamente, em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,2 M pH 7,4. As amostras foram fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato e incluídas em Epon 812. Os cortes foram realizados em ultramicrotomo Porte Blum MT2-B (Sorvall Inc. Newton, Conn., USA) e contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo (Reynolds 1963). As observações foram feitas em microscópio eletrônico Philips 301, com voltagem de 80 quilovolts.

Papel da galinha na transmissão de ag-gs da LL

Um ovo de cada uma de 42 galinhas da linhagem A e de 58 galinhas da linhagem B foi testado para a presença de ag-gs do vírus da LL, na prova de fixação do complemento. Após a identificação das galinhas positivas e negativas para o ag-gs, 9 galinhas A +, 10 galinhas B + e 10 galinhas de cada linhagem A - e B - foram sangradas para determinar a presença de anticorpos no soro pelo teste de imunodifusão. Os ovos de todas estas galinhas foram coletados, duas vezes por dia, durante oito semanas e imediatamente resfriados a 4°C. Aproximadamente 2 ml de albumina de cada ovo eram aspirados com uma pipeta de Pasteur, colocados em frasquinhos individuais e congelados até uma semana antes de serem testados para presença de ag-gs do vírus da LL. Ao final das oito semanas de postura, as aves foram sangradas novamente para determinar a presença de anticorpos no soro.

Papel do galo na transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Galos portadores e não portadores dos vírus da LL foram identificados utilizando-se a prova indireta de imunofluorescência nas culturas de seus leucócitos. Foram utilizados 6 galos da linhagem A descendentes de galinhas eliminadoras constantes de ag-gs, 6 galos da mesma linhagem descendentes de galinhas não eliminadoras de ag-gs e 40 galos da linhagem B sem conhecimento do estado virológico das

matrizes. Após a identificação dos galos portadores e não portadores, 3 galos portadores e 3 galos não portadores, de cada linhagem A e B, foram preparados e treinados para a coleta de sêmen. 22 galinhas da linhagem A— e 30 galinhas da linhagem B— foram selecionadas com base na negatividade de um ovo ao ag-gs e sangradas para determinar a presença de anticorpos contra o vírus da LL no soro. 11 galinhas A— e 15 galinhas B— foram inseminadas artificialmente, três vezes por semana, durante quatro semanas, com um “pool” de sêmen dos 3 galos portadores das mesmas linhagens. Concomitantemente, 11 galinhas A— e 15 galinhas B— foram, também, inseminadas artificialmente três vezes por semana, durante quatro semanas, com um “pool” de sêmen dos galos não portadores das mesmas linhagens. A partir da segunda inseminação, todos os ovos das galinhas em experimentação foram coletados, duas vezes por dia, durante quatro semanas, e testados para a presença de ag-gs do vírus da LL. Após a quarta semana, as galinhas foram sangradas novamente e os soros testados para a presença de anticorpos contra o vírus da LL.

RESULTADOS

Papel da galinha da transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Nove (21,4%) das 42 galinhas da linhagem A e 10 (17,2%) das 58 galinhas da linhagem B foram identificadas como portadoras do vírus da LL por produzir ovos cujas albuminas continham ag-gs. As 9 galinhas A + produziram 110 ovos dos quais 102 (92,7%) continham ag-gs. Das 9 galinhas, 8 eram eliminadoras constantes de ag-gs enquanto que 1 galinha produzia tanto ovos infectados como não infectados. As 10 galinhas A— produziram 178 ovos no mesmo período. Nenhum destes ovos continha ag-gs (Quadro 1). As 10 galinhas B + produziram 174 ovos, dos quais 141 (81,0%) continham ag-gs. Das 10 galinhas, 8 eram elimina-

doras constantes de ag-gs, 1 era eliminadora intermitente enquanto que a outra não demonstrou ag-gs nos ovos produzidos durante as oito semanas de experimentação. As 10 galinhas B— produziram 132 ovos no mesmo período. Nenhum destes ovos continha ag-gs (Quadro 1).

Deteção de anticorpos

A situação sorológica individual das 39 galinhas avaliadas, nesta fase experimental, foi a mesma, tanto no início como no final das oito semanas de experimentação. Anticorpos contra o vírus da LL do subgrupo A foram detectados, em 2 das 8 galinhas A + e em 1 das 8 galinhas B + que eliminaram ag-gs constantemente na albumina de seus ovos. Estes anticorpos foram também evidenciados em 7 das 10 galinhas A— e em 8 das 10 galinhas B—, que não eliminaram ag-gs (Quadro 2). Os mesmos anticorpos foram demonstrados em 1 galinha B + eliminadora intermitente e em 1 galinha B + não eliminadora de ag-gs.

Microscopia eletrônica

Amostras de pâncreas e da porção do magnum do oviduto de 2 galinhas A + e de 1 galinha B +, ambas eliminadoras constantes de ag-gs do vírus da LL na albumina de seus ovos, continham grande número de partículas virais do tipo C. Estas partículas virais eram visualizadas na porção apical das células acinares do pâncreas (Fig. 1 e 2) e entre as células epiteliais do magnum do oviduto (Fig. 3 e 4). Por outro lado, em amostras de pâncreas e de oviduto de 1 galinha A— e de galinha B—, ambas não eliminadoras de ag-gs, não foram observadas partículas virais do tipo C.

Papel do galo na transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Cinco dos 6 galos da linhagem A, progênie de galinhas infectadas, foram identificados como portadores na prova de imunofluorescência indireta realizada nos próprios leucócitos.

Quadro 1. *Frequência da transmissão congênita do antígeno específico de grupo (ag-gs) do vírus da leucose linfóide (LL) aviária*

Linhagem(a)	Transmissão congênita de ag-gs(b)			Total
	Eliminadoras constantes	Eliminadoras intermitentes	Não eliminadoras	
A +	98/98(8)(c)	4/12(1)	0/0(0)	102/110(9)
A —	0/0(0)	0/0(0)	0/178(10)	0/178(10)
B +	140/140(8)	1/10(1)	0/24(1)	141/174(10)
B —	0/0(0)	0/0(0)	0/132(10)	0/132(10)

(a) Galinhas identificadas como portadoras (A +, B +), ou não portadoras (A —, B —) com base na presença de ag-gs do vírus da LL no primeiro ovo testado.

(b) Galinhas e sua produção de ovos classificadas com base na eliminação constante, intermitente ou não eliminação de ag-gs do vírus da LL na albumina.

(c) N° de ovos positivos ao ag-gs/N° de ovos testados (N° de galinhas).



Fig. 1. Micrografia eletrônica de um corte ultrafino de pâncreas de uma galinha eliminadora constante de antígeno específico de grupo do vírus da leucose linfóide. As setas indicam áreas de maior concentração de partículas virais localizadas nos espaços intercelulares das células pancreáticas. Aumento 7500x.

Fig. 2. Partículas virais da Figura 1, com maior aumento, evidenciadas como do tipo C. Aumento 45000x.

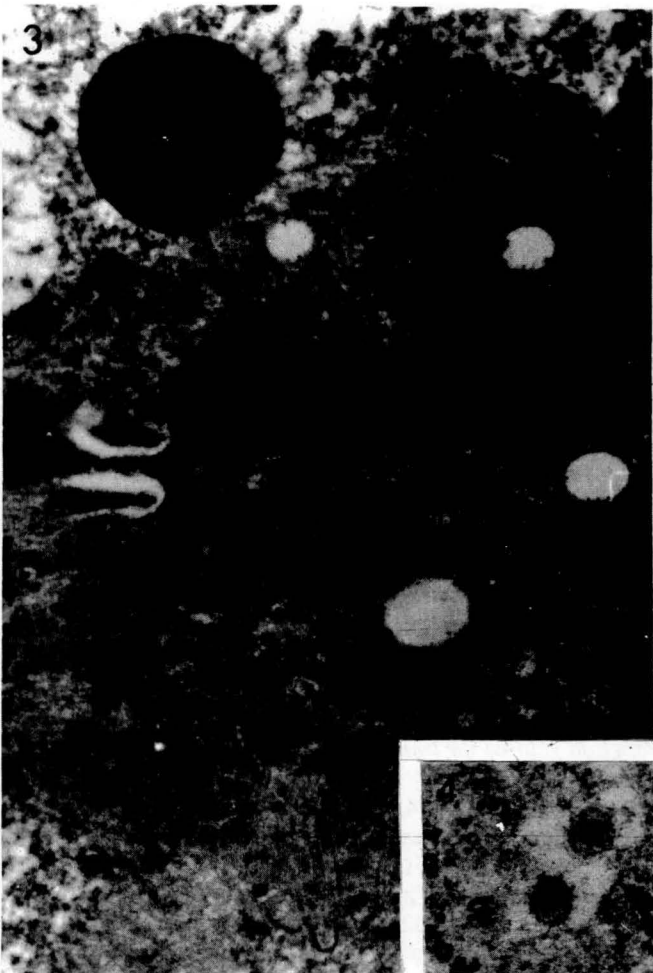


Fig. 3. Micrografia eletrônica de um corte ultrafino da porção do magnum do oviduto de uma galinha eliminadora constante de antígeno específico de grupo do vírus da leucose linfóide. Observa-se um grande número de partículas virais nas glândulas produtoras de albumina. Aumento 17500x.

Fig. 4. Partículas virais da Figura 3, com maior aumento, evidenciadas como do tipo C. Aumento 60000x.

Quadro 2. Anticorpos precipitantes no soro de galinhas portadoras e não portadoras do vírus da leucose linfóide (LL) avidria

Linhagem ^(a)	Transmissão congênita de ag-gs ^(b)		
	Eliminadoras constantes	Eliminadoras intermitentes	Não eliminadoras
A +	2/8 ^(c)	0/1	0/0
A -	0/0	0/0	7/10
B +	1/8	1/1	1/1
B -	0/0	0/0	8/10

(a) Galinhas identificadas como portadoras (A +, B +) ou não portadoras (A -, B -) com base na presença de ag-gs do vírus da LL no primeiro ovo testado.

(b) Galinhas e sua produção de ovos classificadas com base na eliminação constante, intermitente ou não eliminação de ag-gs do vírus da LL na albumina.

(c) N^o de galinhas com anticorpos no soro durante as oito semanas de experimentação/N^o de galinhas em experimentação.

TRANSMISSÃO CONGÊNITA DA LEUCOSE LINFÓIDE AVIÁRIA

tos. Os 6 galos da mesma linhagem, progênie de galinhas não infectadas, foram todos negativos. Dos 40 galos da linhagem B examinados, 3 foram identificados como portadores, enquanto que 37 foram identificados como não portadores. Com exceção das galinhas A — inseminadas com o “pool” de sêmen de galos portadores, todas as galinhas inseminadas produziram ovos negativos ao ag-gs (Quadro 3). Essas galinhas produziram, no total, 100 ovos, durante um período de quatro semanas. 92 ovos corresponderam a 10 galinhas, sendo todos eles negativos ao ag-gs, e 8 corresponderam a 1 galinha, sendo todos eles positivos.

Deteção de anticorpos

Nove das 11 galinhas A — possuíam anticorpos contra vírus da LL, antes de serem inseminadas com o “pool” de sêmen de galos portadores. Depois de quatro semanas de inseminações, todas as 11 galinhas possuíam anticorpos no soro. As 11 galinhas da mesma linhagem inseminadas com o “pool” de sêmen de galos não portadores possuíam anticorpos antes e depois das quatro semanas de inseminações (Quadro 3). Das 15 galinhas B —, 6 possuíam anticorpos antes de serem inseminadas com o “pool” de sêmen de galos portadores. Ao final da quarta semana de inseminações, todas as 15 galinhas possuíam anticorpos no soro. Das 15 galinhas da mesma linhagem, inseminadas com o “pool” de sêmen de galos não portadores, 8 possuíam anticorpos antes de serem inseminadas. Ao final da quarta semana de inseminações, somente as mesmas galinhas possuíam anticorpos contra o vírus da LL (Quadro 3).

DISCUSSÃO

A presença da infecção congênita em percentagem relativamente alta nas galinhas da linhagem A (21,4%) e nas galinhas da linhagem B (17,2%) confirma a disseminação extensiva dos vírus da LL. Porém, as mortes por tumores, nestas

duas linhagens, são de pouca importância. Uma vez que estas duas linhagens têm sido mantidas em condições fechadas e de cruzamentos consanguíneos, é possível que, durante a manutenção, as linhagens, tenham adquirido aumento da resistência genética à formação de tumores, em presença de elevadas taxas de infecção.

É importante salientar que das 10 galinhas da linhagem A —, 7 possuíam anticorpos contra o vírus da LL, tanto no início quanto no final do trabalho. Isto significa que estas galinhas tinham sido infectadas, provavelmente, por contato direto com aves portadoras, porém, permaneceram livres da infecção, como foi demonstrado com a negatividade dos ovos ao ag-gs. Analogamente, 7 das 10 galinhas da linhagem B — possuíam anticorpos, tanto no início quanto no final do experimento. Todavia, estas aves permaneceram livres da infecção como foi demonstrado através da negatividade de seus ovos ao ag-gs.

No caso das galinhas da linhagem A +, somente 2 das 9 testadas possuíam anticorpos no início e no término do experimento. Estas aves infectaram todos os seus ovos com ag-gs. Das 7 sem anticorpos no soro, 6 foram eliminadoras constantes de ag-gs, enquanto que 1 foi eliminadora intermitente. Experimentos semelhantes realizados nas galinhas da linhagem B + indicaram que 3 das 10 galinhas testadas possuíam anticorpos no início e no final do período de experimentação. Destas aves, 1 contaminou 1 de seus 10 ovos, a segunda galinha produziu 24 ovos negativos consecutivos e a terceira galinha contaminou, sistematicamente, todos os seus ovos. Por outro lado, as 7 galinhas desta linhagem sem anticorpos, provavelmente tolerantes imunológicas, contaminaram, sistematicamente, todos os seus ovos produzidos. Como pode ser apreciado, a eliminação de ag-gs pode ser errática em certas aves, fato biológico que complica a identificação de galinhas infectadas em programas de controle e erradicação, quando somente um ou poucos ovos são testados. Estas observações coincidem com os achados de Romero (1977), Spencer et al. (1977) e Okazaki et al. (1979) em

Quadro 3. Efeito da inseminação artificial com sêmen de galos portadores e não portadores do vírus da leucose linfóide (LL) aviária na transmissão congênita do seu antígeno específico de grupo (ag-gs)

Galinhas(a)	Origem do “pool” de sêmen(b)	Relação Ovos positivos: Ovos testados	Anticorpos	
			Início	Final
A —	Galos A +	8/100(11)(c)	9/11(d)	11/11(d)
A —	Galos A —	0/104(11)	11/11	11/11
B —	Galos B +	0/221(15)	6/15	15/15
B —	Galos B —	0/185(15)	8/15	8/15

(a) Galinhas não portadoras (A —, B —) do vírus da LL com base na negatividade do primeiro ovo testado para o ag-gs.

(b) Galos portadores (A +, B +) e não portadores (A —, B —) do vírus da LL com base na presença de ag-gs detectado por imunofluorescência de leucócitos em cultura.

(c) N° de ovos positivos ao ag-gs/N° de ovos testados (N° de galinhas).

(d) N° de galinhas com anticorpos precipitantes no soro antes e depois de quatro semanas de inseminação/N° de galinhas testadas.

trabalhos similares destinados a identificar galinhas portadoras do vírus da LL.

Os estudos realizados com o microscópio eletrônico, em um número limitado de aves, demonstraram a presença de partículas virais do tipo C no pâncreas e na porção do magnum do oviduto de galinhas que tinham eliminado constantemente ag-gs do vírus de LL na albumina de seus ovos. Reciprocamente, não foram observadas partículas virais em tecidos similares de galinhas que não eliminaram ag-gs. Estes resultados confirmam o trabalho de DiStefano e Dougherty (1965), que demonstraram partículas virais do tipo C maduras e imaturas nos mesmos tecidos examinados. Porém, no presente trabalho, não foram encontradas as partículas virais em gemulação observadas por aqueles pesquisadores. Enquanto DiStefano e Dougherty (1965) trabalharam com frangas jovens, com o oviduto ainda em desenvolvimento, o presente estudo foi realizado em galinhas adultas, com o oviduto completamente desenvolvido e em plena produção de ovos.

A prova de imunofluorescência indireta foi utilizada para identificar galos portadores do vírus da LL, a ser empregados como doadores de sêmen. A prova, como foi realizada no presente estudo, demonstrou ag-gs do vírus da LL no citoplasma de leucócitos mantidos em cultura durante 24 horas. Quando aplicada em culturas de leucócitos dos galos da progênie de galinhas infectadas da linhagem A, a prova permitiu identificar 5 de 6 galos testados como infectados. Quando aplicada em culturas de leucócitos dos galos da progênie de galinhas não infectadas da mesma linhagem, os resultados foram negativos. Quando a prova foi aplicada em 40 galos da linhagem B da progênie de galinhas sem histórico sorológico, 3 foram identificados como portadores do vírus da LL. Maior evidência da especificidade da prova de imunofluorescência foi fornecida pela soroconversão, observada nas galinhas inseminadas com sêmen obtido de galos identificados como portadores, enquanto que as galinhas inseminadas com sêmen de galos identificados como livres da infecção, não experimentaram soroconversão. Apesar de existirem provas de imunofluorescência para os vírus do grupo leucose/sarcoma (Rubin & Vogt 1962, Payne et al. 1966), nenhuma delas é utilizada correntemente na identificação de aves portadoras, em programas destinados a controlar ou erradicar os vírus da LL.

A soroconversão demonstrada somente em galinhas inseminadas com sêmen de galos portadores, assim como a demonstração de transmissão congênita de ag-gs em uma destas galinhas, evidenciam o papel do galo na introdução da infecção via sêmen. Porém, a transmissão congênita pelos galos infectados não é tão séria e constante como no caso das fêmeas infectadas. Estes resultados contrastam os de DiStefano e Dougherty (1968), que apesar de demonstrarem, com o microscópio eletrônico, a multiplicação de partículas virais do tipo C nos elementos do tecido conectivo, no músculo liso dentro das paredes das estruturas tubulares e nas células epiteliais não germinativas dos testículos de embriões e galos adultos, não lograram evidenciar multiplicação viral nas células germinativas dos mesmos tecidos. Nossos resultados indicam que é preciso reanalisar o papel do galo na transmissão congênita dos vírus da LL, pois que este é considerado atualmente sem importância na transmissão congênita.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos cordialmente pela doação do anti-soro específico contra o vírus da mieloblastose aviária, fornecido gentilmente pelo Dr. Eugene J. Smith, do Regional Poultry Research Laboratory, East Lansing, Mi., USA. O presente trabalho contou com o auxílio financeiro (Nº 78.07.040) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Cunha Filho L.A. & Monteiro J.L.M. 1971. Capacidade geral e específica de combinação e efeitos recíprocos para vários caracteres de diferentes linhagens de Leghorn branca. *Pesq. Agropec. Bras.* 6:119-130.
- DiStefano H.S. & Dougherty R.M. 1975. Virus multiplication in the oviduct of hens infected with an avian leukosis virus. *Virology* 26 : 156-159.
- DiStefano H.S. & Dougherty R.M. 1968. Multiplication of avian leukosis virus in the reproductive system of the rooster. *J. Natl Cancer Inst.* 41 : 451-464.
- Okazaki W., Burmester B.R., Fadly A. & Chase W.B. 1979. An evaluation of methods for eradication of avian leukosis viruses from a commercial breeder flock. *Avian Dis.* 23 : 688-697.
- Payne F.E., Solomon J.J. & Purchase H.G. 1966. Immunofluorescent studies of group-specific antigen of the avian sarcoma leukosis viruses. *Proc. Natl Acad. Sci., USA*, 55 : 341-349.
- Reynolds E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17 : 208-212.
- Romero C.H. 1977. The prevention of avian lymphoid leukosis tumors with the androgen analog mibolerone: pathological, virological and immunological studies. Ph.D. thesis, Michigan State University, USA.
- Romero C.H., Rowe C.A., Resende O.A., Dias P.G.O., Santos M.W. & Souza A.M. 1979. New simplified procedures for eradicating avian lymphoid leukosis viruses. *Adv. Comp. Leukemia Research* 1979: *Proc. IXth Int. Symp. Com. Res. Leukemia and Related Diseases*, Pitsunda, URSS, p. 339-340.
- Romero C.H., Rocha F.S. & Rowe C.A. — . An immunofluorescence assay to identify carriers of avian lymphoid leukosis viruses. (Em preparação).
- Rubin H., Cornelius A. & Fanshier L. 1961. The pattern of congenital transmission of an avian leukosis virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 47 : 1058-1069.
- Rubin H. & Vogt P.K. 1962. An avian leukosis virus associated with stocks of Rous sarcoma virus. *Virology* 17 : 184-194.
- Sarma P.S., Turner H.C. & Huebner R.J. 1964. An avian leukosis group-specific complement fixation reaction. Application for the detection and assay of non-cytopathogenic leukosis viruses. *Virology* 23 : 313-321.
- Smith E.J. 1977. Preparation of antisera to group-specific antigens of avian leukosis-sarcoma viruses: An alternate approach. *Avian Dis.* 21 : 290-299.
- Solomon J.J. 1975. Preparation of avian cell cultures. *Tiss. Cult. Assoc. Manual* 1 : 7-11.
- Spencer J.L., Crittenden L.B., Burmester B.R., Romero C.H. & Witter R. L. 1976. Lymphoid leukosis viruses and gs antigen in uninoculated chicken eggs. *Avian Pathol.* 5 : 221-226.
- Spencer J.L., Crittenden L.B., Burmester B.R., Okazaki W. & Witter R.L. 1977. Lymphoid leukosis: Interrelations among virus infections in hens eggs, embryos, and chickens. *Avian Dis.* 21 : 331-345.
- Temin H.M. 1974. The cellular and molecular biology of RNA tumor viruses, especially avian leukosis-sarcoma viruses and their relatives. *Adv. Cancer Res.* 19 : 47-104.