

ISSN 0100-736X

Volume 17 Números 3/4
Jul/Dez 1997

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilíngüe trimestral, editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal, publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica e de interesse para a saúde pública. Os autores devem fazer com que seus trabalhos, quando a ela destinados, sejam preparados 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 and of interest to Public Health, are particularly welcomed. Reviews should be written in support of original investigation. 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.

Conselho Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Claudio Severo Lombardo de Barros, Severo Sales de Barros, Franklin Riet-Correa, Iveraldo dos Santos Dutra, Carlos Hubinger Tokarnia.

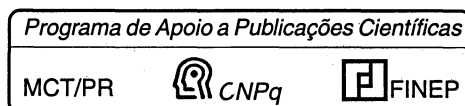
Assessoria Científica (Advisory Board)

Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, José Renaldi F. Brito, A.F. Pestana de Castro, Terezinha N. Padilha Charles, Gerrit Dirksen, Carlos Gil-Turnes, Laerte Grisi, Eberhard Grunert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Jerome Langenegger, Romário Cerqueira Leite, Rômulo Cerqueira Leite, Luiz Antonio Mathias, Anton Mayr, Hans Merkt, Ernst Eckehardt Müller, Paulo Vargas Peixoto, Itamar A. Piffer, Paulo M. Roehle, Ivan Valadão Rosa, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr, L.-Cl. Schulz, Gustav Wizigmann.

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, Embrapa-CNPAB/PSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970 (Brasil); tel. (021) 682-1082, fax (021) 682-1109.

Assinaturas anuais podem ser feitas através do envio de cheque cruzado, emitido em nome da Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, no valor de R\$ 16,00 (preço individual) ou R\$ 32,00 (preço institucional), informando o endereço para recebimento dos exemplares. Assinaturas institucionais também são aceitas por ordem de pagamento para a conta 203.077-2 do Banco do Brasil (código 001), Agência de Itaguaí, RJ POSUR (código 0729-3), e envio, por carta ou fax (021) 682-1109, de cópia do comprovante do respectivo depósito, ao seguinte endereço: Colégio Brasileiro de Patologia Animal (CGC 30.628.457/0001-06), Embrapa-CNPAB/PSA, Seropédica, RJ 23851-970.

A revista é editada dentro do



em colaboração com o

Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

Figura da capa: A formação de pastagem após a derrubada da mata, como aqui na região de Barra do Bugres, MT, na década de 1970, resultou em alta incidência da "cara inchada" dos bovinos, - uma periodontite de origem infecciosa e desencadeada, como tudo indica, por antibióticos produzidos através da modificação da microbiota em solos virgens recentemente cultivados. Concentrações subinibidoras dos antibióticos aumentaram, *in vitro*, a aderência de *Bacteroides* spp. a células epiteliais da gengiva. (Grassmann et al., p. 123)

Cover illustration: Pasture cultivation after cleaning of the forest, as here in the region of Barra do Bugres, Mato Grosso, in the 1970s, lead to an high incidence of "Cara inchada" of cattle, - an infectious periodontitis apparently induced by antibiotics produced through modification of the microbiota of recently cultivated virgin soils. Subinibitory concentrations of the antibiotics enhanced, *in vitro*, the adherence of *Bacteroides* spp. to oral epithelial cells. (Grassmann et al., p. 123)

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- revista editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 17

Julho/Dezembro 1997

Números 3/4

SUMÁRIO

Intoxicação experimental por narasina em ovinos. <i>F. Wouters, A.T.B. Wouters & C.S.L. Barros</i>	89-95
Estudos histológico-morfométricos e microrradiográficos de costelas de bovinos suplementados com fosfato de rocha. <i>C. Pilati, I.V. Rosa, M.S. Dayrell, J. Döbereiner & K. Dämmrich</i>	96-104
Efeito do sistema de manejo sobre o comportamento em pastejo, desempenho ponderal e infestação parasitária em ovinos Suffolk. <i>E. A. Cunha, L.E. Santos, D.S. Roda, C.R. Pozzi, I.P. Otsuk, M.S. Bueno & C.F.C. Rodrigues</i>	105-111
Anemia hemolítica causada por <i>Ditaxis desertorum</i> (Euphorbiaceae) em bovinos. <i>C.H. Tokarnia, B.R. Chagas, A.D. Chagas & H.K. Silva</i>	112-116
Seroepidemiologia de <i>Rhodococcus equi</i> em equinos da região de Bagé, RS, pelo teste de inibição da hemólise sinérgica. <i>A. Lazzari, A.C. Vargas, V. Dutra, A.F. Pedrozo L.H.N. Weiss & G.L. Ferreira</i>	117-122
Adherence and experimental infection of bacteria associated with periodontal infections of young cattle in Brazil ("Cara inchada"). [Aderência e infecção experimental de bactérias associadas com infecções peridentárias de bovinos jovens no Brasil ("cara inchada").] <i>B. Grassmann, J. Döbereiner, I.S. Dutra, P.A. Kopp & H. Blobel</i>	123-126
Intoxicação por salinomicina em bovinos. <i>A. Gava, A.T.B. Wouters, F. Wouters, L. Nizgoski & C.S.L. Barros</i>	127-130

CONTENTS

Experimental narasin poisoning in sheep. <i>F. Wouters, A.T.B. Wouters & C.S.L. Barros</i>	89-95
Morphologic-morphometrical and microradiographical studies on ribs of cattle supplemented with rock phosphate. <i>C. Pilati, I.V. Rosa, M.S. Dayrell, J. Döbereiner & K. Dämmrich</i>	96-104
Effect of a management system on grazing behavior, ponderal growth and parasitic infestation of Suffolk ewes. <i>E.A. Cunha, L.E. Santos, D.S. Roda, C.R. Pozzi, I.P. Otsuk, M.S. Bueno & C.F.C. Rodrigues</i>	105-111
Hemolytic anemia caused by <i>Ditaxis desertorum</i> (Euphorbiaceae) in cattle. <i>C.H. Tokarnia, B.R. Chagas, A.D. Chagas & H.K. Silva</i>	112-116
Seroepidemiology on <i>Rhodococcus equi</i> in horses from Bagé country, RS, by using the synergistic hemolysis inhibition test. <i>A. Lazzari, A.C. Vargas, V. Dutra, A.F. Pedrozo, L.H.N. Weiss & G.L. Ferreira</i>	117-122
Adherence and experimental infection of bacteria associated with periodontal infections of young cattle in Brazil ("Cara inchada"). <i>B. Grassmann, J. Döbereiner, I.S. Dutra, P.A. Kopp & H. Blobel</i>	123-125
Intoxicação por salinomicina em bovinos. <i>A. Gava, A.T.B. Wouters, F. Wouters, L. Nizgoski & C.S.L. Barros</i>	127-130

A revista Pesquisa Veterinária Brasileira está incluída em Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

This journal is listed in Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

Copyright© 1981 Colégio Brasileiro de Patologia Animal

Pesquisa Veterinária Brasileira é associada à
Associação Brasileira de Editores Científicos



ERRATA

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA 16(4), out./dez. 1996

Página	Coluna	Linha	Onde se lê:	Leia-se:
i	Sumário	11 ^a	Intoxicação experimental por <i>Amaranthus</i> spp.	Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp.
121	Título	1 ^a	INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR <i>Amaranthus</i> spp.	INTOXICAÇÃO POR <i>Amaranthus</i> spp.
121	Abstract	2 ^a	Intoxicação experimental por <i>Amaranthus</i> spp.	Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp.

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. II. Título: Brazilian journal of veterinary
research.

CDD 636.089

CDU 619:616 (81) (05)

Publicidade: Neotécnica Editora Ltda, Rua Evaristo da Veiga 16, sala 601, Centro,
20031-040 Rio de Janeiro, RJ; tel./fax (021) 263-7561

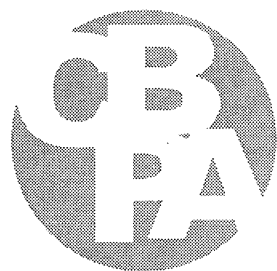
Impressão: Air Graf Serviços Gráficos Ltda.

ISSN 0100-736X

**PESQUISA
VETERINÁRIA
BRASILEIRA**

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 17, 1997



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- revista editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

É revista bilíngüe trimestral que publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica e de interesse para a Saúde Pública.

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 investigation. 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.

Editor: Jürgen Döbereiner, *Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brasil.*

Editores Adjuntos: Claudio Severo Lombardo de Barros, *Santa Maria*
Severo Sales de Barros, *Santa Maria*
Franklin Riet-Correa, *Pelotas*
Iveraldo dos Santos Dutra, *Araçatuba*
Carlos Hubinger Tokarnia, *Rio de Janeiro*

Assessoria Científica (Advisory Board)

E.H. Birgel, *São Paulo*
H. Blobel, *Giessen*
J.R.F. Brito, *Juiz de Fora*
A.F.P. Castro, *Campinas*
T.N.P. Charles, *Juiz de Fora*
G. Dirksen, *München*
C. Gil-Turnes, *Pelotas*
L. Grisi, *Rio de Janeiro*
E. Grunert, *Hannover*

J.A. Guimarães, *Rio de Janeiro*
G. Habermehl, *Hannover*
E. Hofer, *Rio de Janeiro*
J. Langenegger, *Rio de Janeiro*
R.C. Leite, *Belo Horizonte*
R.C. Leite, *Belo Horizonte*
L.A. Mathias, *Jaboticabal*
A. Mayr, *München*
H. Merkt, *Hannover*

E.E. Müller, *Londrina*
P.V. Peixoto, *Rio de Janeiro*
I.A. Piffer, *Concórdia*
P.M. Roehe, *Porto Alegre*
I.V. Rosa, *Campo Grande*
I.B.M. Sampaio, *Belo Horizonte*
H.G. Schatzmayr, *Rio de Janeiro*
L.-CL. Schulz, *Hannover*
G. Wizigmann, *München*

A revista é editada dentro do

Programa de Apoio a Publicações Científicas

MCT/PR



em colaboração com o

Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

SUMÁRIO
List of Contents

Vol. 11, No. 1 Jan./Mar. 1997

Intoxicação experimental pelas sementes trituradas de <i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae) em coelhos. [Experimental poisoning by the ground seeds of <i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae) in the rabbit.] <i>M.F. Brito & C.H. Tokarnia</i>	1-7
Anti-Yersinia enterocolitica serotype 3 agglutinins in swine sera from Rio de Janeiro. [Aglutininas anti-Yersinia enterocolitica O:3 em soros de suínos do Rio de Janeiro.] <i>N.S. Lázaro & E. Hofer</i> . .	9-11
Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de <i>Crotalaria spectabilis</i> (Fabaceae). [Pathological aspects of poisoning by <i>Crotalaria spectabilis</i> (Fabaceae) seeds in swine.] <i>A.C. Souza, M.R. Hatayde & G.H. Bechara</i>	12-18
Marcadores de patogenicidade em <i>Yersinia enterocolitica</i> O:3 isoladas de suínos do Rio de Janeiro. [Genetic markers of pathogenicity in <i>Yersinia enterocolitica</i> O:3 isolated from healthy pigs from Rio de Janeiro.] <i>T.C.A. Leal, N.C. Leal & A.M.P. Almeida</i>	19-24
Imunidade cruzada pelas sementes de <i>Abrus precatorius</i> e <i>Ricinus communis</i> em bovinos. [Cros-immunity by the seeds of <i>Abrus precatorius</i> and <i>Ricinus communis</i> in cattle.] <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	25-35
Senecio spp. poisoning of horses in southern Brazil. [Intoxicação por <i>Senecio</i> spp. em equinos no sul do Brasil.] <i>A. Gava & C.S.L. Barros</i>	36-40
Diferenciação entre os vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (BHV-1) e herpesvírus da encefalite bovina (BHV-5) com anticorpos monoclonais. [Monoclonal antibody differentiation between bovine herpesvirus type 1 and 5.] <i>P.M. Roehe, T.C. Silva, N.B. Nardi, L.G. Oliveira & J.C.A. Rosa</i>	41-44

Vol. 17, No. 2, Abr./Jun. 1997

Are alveolar bone changes a determinant factor for "Cara inchada" in cattle? [Alterações do osso alveolar são um fator determinante da "cara inchada" dos bovinos?.] <i>J. Döbereiner & K. Dämmrich</i>	45-48
Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. [Sensitivity and specificity of the California Mastitis Test as a diagnostic tool for subclinical mastitis in quarter somatic cell count estimation.] <i>J.R.F. Brito, G.A.V. Caldeira, R.S. Verneque & M.A.V. Paiva e Brito</i>	49-53
Prevalência de sorovares de <i>Salmonella</i> isolados de aves no Brasil. [Prevalence of <i>Salmonella</i> serovars isolated from birds in Brazil.] <i>E. Hofer, S.J. Silva Filho & E.M.F. Reis</i>	55-62
Surto de intoxicação por narasina em suínos. [An outbreak of narasin poisoning in swine.] <i>A.G. Armién, P.V. Peixoto, J. Döbereiner & C.H. Tokarnia</i>	63-68
Estudos histomorfométrico e histológico das lesões ósseas causadas por flúor em aves. [Histomorphometric and histological evaluations of the bone lesions caused by fluoride in chickens.] <i>J.M.B. Raffi, M.C. Méndez & F. Riet-Correa</i>	69-76
Manifestação clínico-patológica de infecção natural pelo vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) em bovinos de criação extensiva no Rio Grande do Sul, Brasil. [Clinic-pathological aspects in the natural infection of Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) in extensive management of cattle in Rio Grande do Sul, Brazil.] <i>D. Driemeier, M.J.P. Gomes, V. Moojen, C.W. Arns, G. Vogg, L. Kessler & U.M. Costa</i>	77-81
Intoxicação experimental por narasina em bovinos. [Experimental narasin poisoning in cattle.] <i>A.T.B. Wouters, F. Wouters & C.S.L. Barros</i>	82-88

Intoxicação experimental por narasina em ovinos. [Experimental narasin poisoning in sheep.] <i>F. Wouters, A.T.B. Wouters & C.S.L. Barros</i>	89-95
Estudos histológico-morfométricos e microrradiográficos de costelas de bovinos suplementados com fosfato de rocha. [Morphologic-morphometrical and microradiographical studies on ribs of cattle supplemented with rock phosphate.] <i>C. Pilati, I.V. Rosa, M.S. Dayrell, J. Döbereiner & K. Dämmrich</i>	96-104
Efeito do sistema de manejo sobre o comportamento em pastejo, desempenho ponderal e infestação parasitária em ovinos Suffolk. [Effect of a management system on grazing behavior, ponderal growth and parasitic infestation of Suffolk ewes.] <i>E.A. Cunha, L.E. Santos, D.S. Roda, C.R. Pozzi, I.P. Otsuk, M.S. Bueno & C.F.C. Rodrigues</i>	105-111
Anemia hemolítica causada por <i>Ditaxis desertorum</i> (Euphorbiaceae) em bovinos. [Hemolytic anemia caused by <i>Ditaxis desertorum</i> (Euphorbiaceae) in cattle.] <i>C.H. Tokarnia, B.R. Chagas, A.D. Chagas & H.K. Silva</i>	112-116
Seroepidemiologia de <i>Rhodococcus equi</i> em equinos da região de Bagé, RS, pelo teste de inibição da hemólise sinérgica. [Seroepidemiology on <i>Rhodococcus equi</i> in horses from Bagé county, RS, by using the synergistic hemolysis inhibition test.] <i>A. Lazzari, A.C. Vargas, V. Dutra, A.F. Pedrozo, L.H.N. Weiss & G.L. Ferreira</i>	117-122
Adherence and experimental infection of bacteria associated with periodontal infections of young cattle in Brazil ("Cara inchada"). [Aderência e infecção experimental de bactérias associadas com infecções peridentárias de bovinos jovens no Brasil ("cara inchada").] <i>B. Grassmann, J. Döbereiner, I.S. Dutra, P.A. Kopp & H. Blobel</i>	123-125
Intoxicação por salinomicina em bovinos. [Salinomycin poisoning in cattle.] <i>A. Gava, A.T.B. Wouters, F. Wouters, L. Nizgoski & C.S.L. Barros</i>	127-130

ÍNDICE DOS AUTORES

Author Index

Almeida A.M.P. 19	Gava A. 36, 127	Pozzi C.R. 105
Armién A.G. 63	Gomes M.J.P. 77	Raffi M.B. 69
Arns C.W. 77	Grassmann B. 123	Reis E.M.F. 55
Barros C.S.L. 36, 82, 89, 127	Hatayde M.R. 12	Riet-Correa F. 69
Bechara G.H. 12	Hofer E. 9, 55	Roda D.S. 105
Blobel H. 123	Kessler L. 77	Rodrigues C.F.C. 105
Brito J.R.F. 49	Kopp P.A. 123	Roehe P.M. 41
Brito M.F. 1	Lázaro N.S. 9	Rosa I.V. 96
Bueno M.S. 105	Lazzari A. 117	Rosa J.C.A. 41
Caldeira G.A.V. 49	Leal N.C. 19	Santos L.E. 105
Chagas A.D. 112	Leal T.C.A. 19	Silva Filho S.J. 55
Chagas B.R. 112	Méndez M.C. 69	Silva H.K. 112
Costa U.M. 77	Moojen V. 77	Silva T.C. 41
Cunha E.A. 105	Nardi N.B. 41	Souza A.C. 12
Dämmrich K. 45, 96	Nizgoski L. 127	Tokarnia C.H. 1, 25, 63, 112
Dayrell M.S. 96	Oliveira L.G. 41	Vargas A.C. 117
Döbereiner J. 25, 45, 63, 96, 123	Otsuk I.P. 105	Verneque R.S. 49
Driemeier D. 77	Paiva e Brito M.A.V. 49	Vogg G. 77
Dutra I.S. 123	Pedrozo A.F. 117	Weiss L.H.N. 117
Dutra V. 113,	Peixoto P.V. 63	Wouters A.T.B. 82, 89, 127
Ferreira G.L. 117	Pilati C. 96	Wouters F. 82, 89, 127

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em 3 vias, escritos em português ou inglês, devem ser enviados, junto com disquete de arquivos (de preferência em Word 6.0), ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Embrapa-CNPAB/PSA, 23851-970 Seropédica, Rio de Janeiro. 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 Científicas", 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.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho 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, ABSTRACT, SINOPSE, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinações destes três últimos), AGRADECIMENTOS E REFERÊNCIAS:

a) o *Título* do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;
b) *Abstract*, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos "index terms";

c) 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; nos trabalhos em inglês, *Sinopse* e *Abstract* trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último fascículo da revista);

d) 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;

e) em *Material e Métodos* devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;

f) em *Resultados* deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, 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;

g) 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;

h) as *Conclusões* devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

i) *Agradecimentos* devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

j) 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 pelo sobrenome do primeiro autor, 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, D.C.).

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

a) os trabalhos devem ser apresentados 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; 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* serão escritos corriadamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas 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 distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita pe-lo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Re-ferências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; es-te esclarecimento será acrescentado apenas ao final das respectivas referências, na forma: "(Citado por Fulano 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, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b, Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último fascículo da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) 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 desejado; 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 preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; 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; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados 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 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 agrupamento 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 curto, à esquerda.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR NARASINA EM OVINOS¹

Flademir Wouters², Angelica T. B. Wouters² e Claudio S.L. Barros³

ABSTRACT.- Wouters F, Wouters A.T.B. & Barros C.S.L. 1997. [Experimental narasin poisoning in sheep.] Intoxicação experimental por narasina em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):89-95. Depto Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS 97119-900, Brazil.

Experimental poisoning by narasin was induced in 13 sheep through oral administration of the drug. Six sheep died, three were killed *in extremis* and four recovered. The onset of clinical signs was 2 hours to 7 days after the administration of the drug, and the clinical course lasted from 7 hours to 14 days. Initially there were laborious breathing, tachypnea, fever and ruminal atony. These signs were followed by incoordinated gait, stiffness, reluctance to move and changes in frequency and intensity of cardiac sounds. Grunting, grinding of teeth, myoglobinuria, and sternal and lateral recumbency were also observed. One sheep had sudden death. Necropsy findings were observed in seven of the sheep that died and consisted of pale areas in the skeletal muscles and myocardium. More frequently affected muscles were masseter, semitendinosus, sternocephalicus, brachiocephalicus, extrinsic muscles of the tongue, pectoral, supraspinatus and teres major. Hydropericardium, edema of the lungs and the wall of the gall bladder were also observed. Occasionally the cut surface of the lymph nodes was reddened and moist. In one sheep there was edema surrounding the esophagus and within the cervical muscles; in another one there was a bolus of partially chewed food in the oral cavity. Histologically, the pale areas in the skeletal muscles and myocardium corresponded to multifocal or focal extensive degeneration and necrosis of myofibers; these lesions were sometimes associated with processes of regeneration in skeletal muscles and reparation in the myocardium. The histological muscle lesions were more pronounced in the tongue and muscles of the limbs.

INDEX TERMS: Narasin, ionophore antibiotics, sheep, pathology, toxicosis.

SINOPSE.- Intoxicação pelo antibiótico ionóforo narasina foi induzida experimentalmente em 13 ovinos; desses, seis morreram espontaneamente, três foram sacrificados *in extremis* e quatro se recuperaram. O início dos sinais clínicos ocorria entre 2 horas e 7 dias após a administração da droga e persistiam por 7 horas a 14 dias. Inicialmente havia respiração ofegante e entrecortada, taquipnéia, febre, redução temporária do apetite ou anorexia e atonia ruminal seguidos de alterações no andar, como arrastar das pinças, apoio sobre os

boletos dos membros posteriores, incoordenação, rigidez, relutância em movimentar-se e alteração na frequência e intensidade dos sons cardíacos. Ocorriam também gemidos, ranger de dentes, urina acastanhada e decúbito esternal ou lateral. Um animal apresentou morte súbita. Alterações macroscópicas foram observadas em sete dos ovinos necropsiados e consistiam de áreas pálidas nos músculos esqueléticos e no miocárdio. Os músculos mais frequentemente atingidos foram masseter, semitendíneo, esternocéfálico, braquicefálico, extrínsecos da língua, peitoral, supra-espinal e redondo maior. Havia hidropericárdio, edema e congestão pulmonares, fígado pálido, edema da parede da vesícula biliar, linfonodos ocasionalmente avermelhados e suculentos ao corte, edema periesofágico e entre os feixes musculares da região cervical e acúmulo de alimento semimastigado acumulado na cavidade oral. Histologicamente as áreas pálidas dos músculos esqueléticos e do miocárdio correspondiam a lesões degenerativo-necróticas multifocais a focalmente extensas associadas ou não a processos

¹ Aceito para publicação em 25 de abril de 1997.

Parte da tese de mestrado do primeiro autor. Defendida no Curso de Pós-Graduação (CPG) em Medicina Veterinária, área de concentração em patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em 29 de janeiro de 1997. Trabalho financiado pelo CNPq, projeto 530198/93-2.

² CPG em Medicina Veterinária, área de concentração em patologia, Centro de Ciências Rurais, UFSM, 97119-900 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

³ Departamento de Patologia, UFSM. Bolsista do CNPq (350938/91-1).



regenerativos, nos músculos esqueléticos, e reparativos, no miocárdio. As lesões histológicas foram mais acentuadas nos músculos da língua e dos membros.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Narasina, antibióticos ionóforos, ovinos, patologia, intoxicação.

INTRODUÇÃO

Antibióticos ionóforos são substâncias que formam complexos químicos bipolares com cátions, facilitando o transporte iônico através de membranas biológicas. Alteram assim o equilíbrio iônico intracelular, resultando em tumefação celular aguda (Van Vleet et al. 1983). Têm sido usadas em medicina veterinária principalmente como coccidiostáticos para aves e bovinos e como promotores de crescimento para ruminantes, embora existam vários outros usos terapêuticos (Novilla 1992). Essas drogas são consideradas relativamente seguras se usadas nas espécies-alvo e dentro das dosagens recomendadas pelo fabricante. No entanto, seu uso inapropriado, acidental ou intencional, resulta em intoxicações de ovinos (Nation et al. 1982, Bourque et al. 1986), bovinos (Collins & McCrea 1978, Geor & Robinson 1985), equinos (Rollinson et al. 1987), suínos (Van Halderen et al. 1993, Miskimins & Neiger 1996), cães (Karsai et al. 1990), coelhos (Salles et al. 1994) e aves (Behr et al. 1988). A intoxicação por antibióticos ionóforos caracteriza-se por miopatia e cardiomiopatia degenerativas. Nos últimos anos houve um acentuado aumento no uso terapêutico de antibióticos ionóforos em medicina veterinária, o que aumenta os riscos de intoxicação nos animais.

Esse trabalho tem como objetivo determinar o quadro clínico e o anatomopatológico da intoxicação por antibióticos ionóforos em ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatorze ovinos sem raça definida, de ambos os sexos, com idades entre 1 e 2 anos foram divididos em sete lotes de dois ovinos e mantidos em baias de alvenaria. Os animais recebiam água fresca e feno de alfafa à vontade. Um composto contendo 10% de narasina⁴ diluído em água foi administrado oralmente a 13 ovinos (Quadro 1). Um ovino controle foi mantido durante todo o experimento sob as mesmas condições dos outros, não tendo recebido a droga.

Todos os ovinos eram submetidos a exame clínico pela manhã e no final da tarde. Diariamente eram retirados das baias e movimentados. Os animais que morreram espontaneamente ou foram sacrificados, incluindo o controle, foram necropsiados. Fragmentos de vários músculos esqueléticos (quadríceps femoral, semitendíneo, *longissimus dorsi*, diafragma, supra-espinal, ocular e abdominal), miocárdio, língua, encéfalo, pulmão, fígado, esôfago, rúmen, abomaso, intestino delgado, intestino grosso, linfonodos mesentérico e pré-escapular foram colhidos e processados rotineiramente para histopatologia. Cortes selecionados de músculo esquelético e de miocárdio foram corados pelo tricrômico de Masson modificado por Goldner.

As alterações histológicas dos músculos esqueléticos e do miocárdio foram classificadas em degenerativo-necróticas e

Quadro 1. Delineamento experimental da intoxicação experimental por narasina em ovinos

Ovino	Peso (kg)	Idade (anos)	Número de administrações	Administração diária (mg/kg)	Total administrado (mg/kg)
01	27,7	2	1	30	30
02	21,2	2	2	15	30
03	26,0	1	1	15	15
04	31,8	1	1	7	7
05	34,0	1	1	4	4
06	30,4	2	1	4	4
07	35,7	1	1	2	2
08	30,0	1	1	2	2
09	30,0	1	14	1	14
11	25,0	1	3	4	12
12	24,8	1	3	4	12
13 ^a	20,0	1	1	7	7
14	20,0	1	1	7	7

^aOs ovinos 13 e 14 eram fêmeas, os demais eram machos castrados. Um ovino (10) de 1 ano de idade, com 35kg, foi usado como controle, não tendo recebido a droga.

reparativas. Nas primeiras, foram incluídas vacuolização do sarcoplasma, necrose segmentar hialina e necrose segmentar flocular da miofibrila. Nas alterações reparativas foram incluídas reações inflamatórias (incluindo fibrose) e regenerativas das miofibrilas.

RESULTADOS

Sinais clínicos

O tempo decorrido entre a administração de narasina e o aparecimento dos sinais clínicos, a duração do curso clínico e o desfecho da intoxicação constam do Quadro 2. O ovino 10 (controle) foi sacrificado logo após o término do experimento sem ter apresentado quaisquer sinais clínicos. Na maioria dos casos, os sinais clínicos iniciavam por respiração entrecortada (ovinos 1-5, 7, 11 e 13) e ofegante (ovinos 1-3, 5, 11 e 13), e taquipnéia (ovinos 3 e 8); houve elevação da temperatura nos ovinos 1-3, 5 e 11. A intensidade dos sinais respiratórios diminuiu cerca de 18-30 horas após a administração da droga, mesmo nos ovinos que morreram. Anorexia (ovinos 1-3, 7 e 12) ou redução temporária do apetite (ovinos 4-6 e 8) foram sinais clínicos constantes. Dois ovinos (5 e 13) apresentaram mastigação vagarosa associada à salivação abundante com grandes pausas entre os movimentos mastigatórios e demora na deglutição. Um deles (ovino 13) apresentou dificuldade acentuada de apreensão do feno, deixando cair parte do feixe apreendido. As porções do feno que conseguia reter permaneciam por longo tempo parcialmente fora da boca (Fig. 1). Atonia ruminal foi observada em vários ovinos (1, 2, 12 e 13). Um desses animais (ovino 1) apresentou timpanismo discreto. Fezes pastosas foram observadas em um ovino (11).

Muitos animais levantavam somente quando forçados e mostravam relutância em caminhar (ovinos 1-3, 5 e 11). Esse sinal foi acentuado nos ovinos 5 e 11. Quando forçados a caminhar, os animais arrastavam as pinças dos membros posteriores (ovinos 1, 2, 5, 6, 9 e 13), tinham andar incoordenado (ovinos 1, 3, 5 e 11), rígido (ovinos 2, 3, 5, 9 e 11) e caminha-

⁴ Monteban 100. Nutris Tecnologia e Sistema de Nutrição Ltda., BR 116, Km 73,5, Trevo Distrito Industrial, Quatro Barras, Paraná 83420-000.

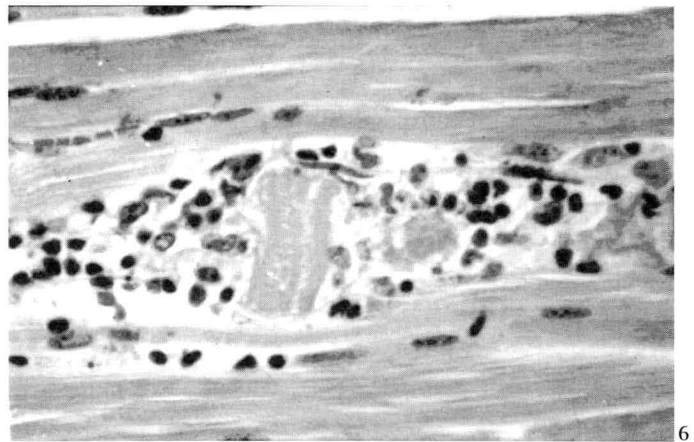
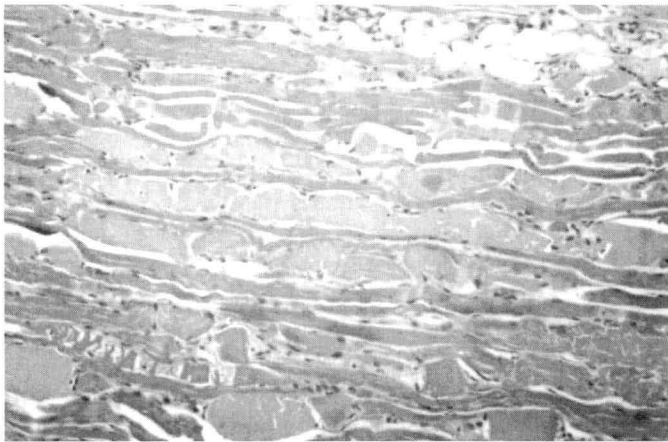
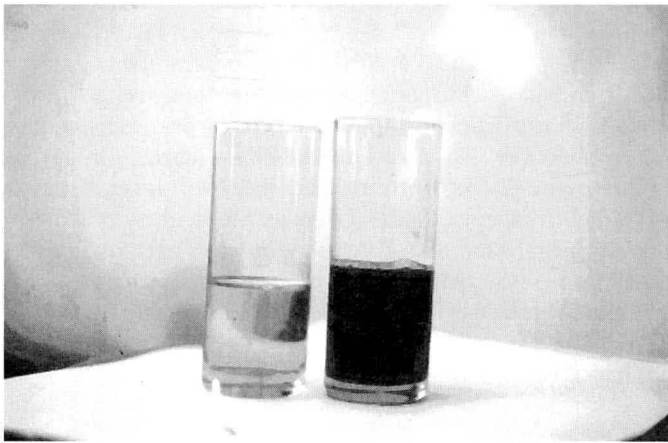


Fig. 1. Dificuldade de apreensão do feno. Esse animal apresentava mastigação lenta, ficando porções do feno apreendido por longo tempo fora da boca. Intoxicação experimental por narasina (ovino 13).

Fig. 3. Mioglobínúria, na intoxicação experimental por narasina. A urina do frasco à direita é do ovino 5. Urina de um ovino normal à esquerda para comparação.

Fig. 5. Várias fibras do músculo abdominal mostram necrose hialina segmentar, na intoxicação experimental por narasina. Fibras normais ocorrem intercaladas entre as fibras necróticas (ovino 13). HE, obj. 6,3

Fig. 2. Membros posteriores afastados e flexionados no jarrete, na intoxicação experimental por narasina (ovino 13).

Fig. 4. O músculo semitendíneo (ponta da faca) está difusamente pálido (branco amarelado) evidenciando miopatia degenerativa, na intoxicação experimental por narasina (ovino 5).

Fig. 6. O segmento necrótico de miofibra do músculo vasto lateral está invadido por células satélites e células inflamatórias, principalmente macrófagos, na intoxicação experimental por narasina; alguns poucos neutrófilos são também observados (ovino 13). HE, obj. 16.

Quadro 2. Início, duração dos sinais clínicos após administração de narasina e desfecho da intoxicação experimental em ovinos

Ovino	Início dos sinais clínicos após a primeira administração	Duração do curso clínico	Desfecho
01	6h	40h	Morreu
02	6h	24h	Morreu
03	2h	7h	Morreu
04	23h	3d,3h	Morreu
05	2h30min	3 dias	Sacrificado
06	12h ^a	14 dias	Recuperou-se
07	5	20h	Recuperou-se
08	3h ^a	20h	Recuperou-se
09	7 dias	10 dias	Recuperou-se
11	2h	4 dias	Sacrificado
12	48h	4 dias	Morreu
13	2h	9 dias	Sacrificado
14	-	-	Morreu

^aTempo aproximado.

vam sobre os boletos (ovinos 2 e 3) ou com os membros afastados lateralmente (ovino 1 e 13) e flexionados no jarrete (Fig. 2).

Os ovinos 1, 4, 5-7, 11, 12 e 13 apresentaram arritmia cardíaca, sendo que três deles (5, 12 e 13) tinham também aumento da intensidade dos sons cardíacos. Em um ovino (4) a arritmia cardíaca foi discreta e verificada somente cerca de uma hora antes da morte, que foi repentina. Outros sinais observados foram gemidos (ovinos 1, 3, 5, 11 e 13), ranger de dentes (1, 5 e 13), apatia (1, 5 e 12) e apoio da cabeça em objetos como parede da baia e cocho (ovinos 5 e 13), ocasionalmente mantendo parte do focinho dentro da água (ovino 13). Alguns animais pareciam, por vezes, inquietos, deitando-se e levantando-se repetidas vezes (3 e 11). Com o agravamento do quadro clínico, um animal permaneceu com a cabeça inclinada para o lado esquerdo (13). Urina escura, acastanhada (Fig. 3), foi observada nos ovinos 5 e 11. Em uma fase mais avançada da doença, alguns animais permaneciam em decúbito esternal (2 e 12) ou lateral (ovinos 5, 11 e 12), com o pescoço torcido, recostando a cabeça no flanco (2). Um animal (14) apresentou morte súbita três dias após a administração de narasina.

Achados de necropsia

As principais alterações macroscópicas dos ovinos intoxicados localizavam-se nos músculos esqueléticos; havia áreas pálidas irregulares nos músculos dos ovinos 5 e 11-13. Essas alterações eram discretas nos músculos dos ovinos 5 e 12 e moderadas nos dos ovinos 11 e 13. Foram observadas nos músculos masseter, semitendíneo (Fig. 4), extrínsecos da língua nos ovinos 5, 11 e 13, esternocfalicos, braquicefalicos e peitorais (ovinos 5 e 11), supraespinal (5 e 13), redondo maior, esofágico (11), abdominais, vasto lateral, vasto medial, vasto intermédio e reto da coxa (13), e músculos do pescoço (12). Em um ovino (11) havia edema periesofágico e ventral aos músculos esternocfalicos e braquicefalicos. Os ovinos 2,

12, 13 e 14 apresentaram aumento da quantidade (de 50 a 75 ml) de líquido citrino no saco pericárdico.

Três ovinos apresentaram lesões macroscópicas no miocárdio, caracterizadas por discretas áreas pálidas focais e irregulares (ovinos 5 e 12), mais concentradas no miocárdio do ventrículo direito no ovino 12; ou por palidez difusa discreta no ventrículo direito do ovino 13. Edema pulmonar foi observado em quatro ovinos (2, 3, 12 e 14). Era discreto nos ovinos 3 e 12 e acentuado nos ovinos 2 e 14. O ovino 2 apresentou congestão pulmonar acentuada. O conteúdo do intestino delgado era semi-líquido e vermelho-achocolatado em quatro ovinos (3 e 12-14), continha ocasionais coágulos sanguíneos em um (ovino 3), e estava associado a avermelhamento da mucosa dos segmentos iniciais do intestino delgado (ovinos 3, 12, 13 e 14). O fígado estava moderadamente pálido em três ovinos (3, 5 e 13) e de forma discreta em um (ovino 12). No ovino 3 havia edema moderado da parede da vesícula biliar, principalmente nas áreas em contato com o fígado. A urina dos ovinos 5 e 11 era escura, acastanhada. Os rins do ovino 14 estavam vermelho-escuros. Em um animal (ovino 2) os linfonodos pré-escapulares estavam avermelhados e suculentos ao corte. Na cavidade oral do ovino 13 havia uma massa de alimento compactado e pouco mastigado. Nos ovinos 1 e 4 e no ovino controle (10) não foram encontradas lesões macroscópicas.

Achados histopatológicos

As lesões histológicas dos músculos esqueléticos e da língua caracterizavam-se por tumefação, ausência de estriações longitudinais e transversais e eosinofilia multifocais, eventualmente coalescentes, de segmentos de miofibras. Nos cortes transversais observava-se perda da forma poligonal característica das miofibras, que ficavam arredondadas, tumefeitas e com marcada eosinofilia. Essas alterações caracterizavam necrose hialina segmentar multifocal (Fig. 5). Ocorria fragmentação de material sarcoplasmático com formação de agregados irregulares de material eosinofílico contidos dentro da membrana basal (necrose flocular). Degeneração vacuolar foi também observada.

Infiltrado inflamatório composto predominantemente por macrófagos, muitas vezes fagocitando fragmentos necróticos de miofibras, células satélites e raros linfócitos e neutrófilos, ocorria frequentemente associado às áreas com degeneração hialina e flocular. Nos segmentos musculares afetados e porções adjacentes havia mobilização das células satélites, que apareciam aumentadas de volume, tinham núcleos vesiculares, e, nos casos em que havia necrose flocular, localizavam-se no interior das miofibras (Fig. 5).

Nos músculos esqueléticos de dois animais (ovinos 4 e 13), que morreram respectivamente 4 e 9 dias após a administração de narasina, e na língua do ovino 13, foram observadas lesões regenerativas. Constituem-se de fibras delgadas, moderadamente basofílicas, com ausência de estriações e com núcleos grandes, dispostos em fileiras nas porções mais centrais dos filamentos (formação de miotubos).

Quanto a frequência e intensidade das lesões observadas

nas seções de músculos esquelético havia, em ordem decrescente, necrose flocular, necrose hialina, presença de macrófagos e eventos de fagocitose de miofibras lesadas, ativação de células satélites, e muito menos intensamente, formação de miotubos e degeneração vacuolar. Os músculos esqueléticos mais afetados foram, em ordem de intensidade e frequência, língua, reto da coxa, semitendíneo, abdominal, tríceps, supra-espinhal, vasto medial, vasto lateral e intermédio, diafragma e *longissimus dorsi*, respectivamente. O músculo ocular não estava afetado em nenhum dos casos. Lesões musculares na língua estavam presentes em seis animais (ovinos 4, 5 e 11-14), sendo mais acentuadas nos ovinos 5, 11 e 13.

O ovino 14 só apresentou lesões discretas na língua e o ovino 10 (controle) não apresentou lesões.

Alterações histológicas no miocárdio eram mais discretas que as observadas nos músculos esqueléticos. Consistiam principalmente de necrose hialina e infiltrado de macrófagos fagocitando restos de miofibras e de linfócitos. Necrose flocular e degeneração vacuolar ocorriam com menor intensidade. Focos discretos de perda de miofibras e fibrose passiva foram observados em algumas seções de músculo cardíaco dos ovinos 1,5,11 e 13. Fibroplasia cardíaca foi observada em um ovino que sobreviveu por 9 dias após a administração de narasina. Não ocorreram alterações histológicas no miocárdio dos ovinos 2,3,10 e 14.

Vacuolização do citoplasma de hepatócitos foi observada no fígado de seis ovinos (1, 4, 5, 12, 13 e 14). Essa era difusa em três casos (ovinos 12, 13 e 14), sendo acentuada no ovino 13 e moderada nos ovinos 12 e 14. O fígado do ovino 5 apresentava vacuolização moderada dos hepatócitos periportais. Nos ovinos 1 e 4, a vacuolização era centrolobular, moderada e discreta, respectivamente.

DISCUSSÃO

Narasina, em administrações orais, mostrou-se tóxica para ovinos. O quadro clínico apresentado pelos ovinos intoxicados por narasina consistiu basicamente de hipertermia, distúrbios respiratórios, gastrintestinais e distúrbios relacionados a incapacitação muscular.

A elevação da temperatura, constatada em cinco ovinos (38% dos animais que receberam a droga), teve início 2 a 7 horas após a administração de narasina, e diminuiu até desaparecer em cerca de 7 a 10 horas. Esta manifestação não é relatada em qualquer espécie animal intoxicada por antibióticos ionóforos e foi considerada importante neste estudo, pela frequência de seu aparecimento. A causa do aumento de temperatura nos ovinos desse experimento não é evidente. Essa alteração clínica não foi associada nem proporcional ao grau de lesão muscular. Embora dois ovinos que apresentaram febre tivessem lesões musculares acentuadas e mioglobulinúria, outros dois apresentaram apenas lesões discretas e, em um ovino, não havia lesão macroscópica ou microscópica. Uma possibilidade é que a elevação de temperatura tenha resultado da ação direta da droga, ou de algum metabólito gerado por ela, agindo como pirogênio exógeno.

Os distúrbios respiratórios consistiram de respiração entrecortada, ofegante e taquipnéia, e tiveram início em torno de 2 a 24 horas após a ingestão de narasina. Esses sinais atenuaram e desapareceram em até 30 horas, mesmo nos animais que morreram. Sinais clínicos semelhantes são relatados em ovinos (Newsholme et al. 1983, Fourie et al. 1991), bovinos (Collins & McCrea 1978, Geor & Robinson 1985, Fourie et al. 1991), suínos (Van Halderen et al. 1993) e cães (Karsai et al. 1990). Em animais intoxicados com antibióticos ionóforos que apresentaram edema pulmonar associado aos sinais de distúrbios respiratórios, a lesão pulmonar tem sido responsabilizada por esses sinais clínicos. Em dois dos quatro ovinos desse estudo com edema pulmonar essa alteração era acentuada. Alternativamente ou concomitantemente é possível que os sinais clínicos sejam devidos a incapacitação funcional dos músculos envolvidos na respiração, associada ou não a alterações morfológicas.

Dentre os sinais clínicos de distúrbios gastrintestinais, a perda total ou parcial do apetite foi frequente. Em menor número de ovinos houve atonia ruminal, timpanismo e alteração na consistência das fezes. Diarréia tem sido associada à intoxicação por antibióticos ionóforos em ovinos (Nation et al. 1982, Confer et al. 1983, Anderson et al. 1984), bovinos (Van Vleet et al. 1983, Geor & Robinson, 1985), mas a patogenia é incerta. A anorexia é um dos sinais clínicos mais constantes na intoxicação por antibióticos ionóforos (Novilla 1992). Tem sido observada nessa intoxicação em ovinos (Anderson et al. 1984, Bourque et al. 1986, Fourie et al. 1991), bovinos (Collins & McCrea 1978, Van Vleet et al. 1983, Van Vleet & Ferrans 1983, Shlosberg et al. 1986, 1992), suínos (Van Halderen et al. 1993), caninos (Wilson 1980, Karsai et al. 1990), equinos (Rollinson et al. 1987), coelhos (Salles et al. 1994). É sugerido que a perda parcial ou total do apetite, comuns na intoxicação por antibióticos ionóforos, sejam devidas a alteração na palatabilidade da ração, causada pela presença do antibiótico ionóforo e que funcionaria como um fator de defesa do animal, evitando a ingestão de quantidades maiores da toxina (Shlosberg et al. 1986). Neste experimento, no entanto, em que a administração da droga foi dissociada da ração, esses sinais clínicos devem ser devidos a alterações fisiopatológicas induzidas pela droga.

Os distúrbios relacionados à incapacitação muscular observados nos ovinos intoxicados abrangeram principalmente alterações na locomoção e na apreensão de alimentos. Sinais semelhantes têm sido descritos na intoxicação por narasina e outros antibióticos ionóforos em ovinos (Newsholme et al. 1983, Bourque et al. 1986, Fourie et al. 1991), bovinos (Geor & Robinson 1985, Fourie et al. 1991), suínos (Van Halderen et al. 1993, Miskimins & Neiger 1996), coelhos (Salles et al. 1994) e cães (Wilson et al. 1980, Karsai et al. 1990). Sinais clínicos de incapacitação muscular sem lesão detectável macroscopicamente ou na microscopia óptica têm sido relatadas em associação à intoxicação por antibióticos ionóforos em ovinos (Confer et al. 1983, Gava, 1991).

Dois ovinos apresentaram mioglobulinúria. Essa alteração tem sido descrita associada à intoxicação por antibióticos

ionóforos em ovinos (Newsholme et al. 1983), bovinos (Van Vleet et al. 1983, Wouters et al. 1997), suínos (Miskimins & Neiger 1996) e cães (Wilson et al. 1980, Karsai et al. 1990). A presença de mioglobina na urina é indicativa de dano muscular grave (Hulland 1993).

Os animais que receberam as doses mais elevadas (30mg/kg em administração única ou 15mg/kg divididos em duas administrações diárias) apresentaram curso clínico agudo, com morte em até 46 horas após administração de narasina. Na necropsia desses ovinos não se observaram lesões macroscópicas e, em um caso, lesões microscópicas também estavam ausentes. Esse fator deve ser levado em conta no diagnóstico de surtos espontâneos de intoxicação por antibiótico ionóforo em ovinos. Nos ovinos com curso clínico mais longo, as lesões eram mais pronunciadas e havia alterações reparativas acentuadas. A menor dose que causou a morte de ovinos neste experimento foi de 4 mg/kg. Doses totais de 12 mg/kg, fracionadas em 3 doses diárias de 4 mg/kg, causaram a morte de dois ovinos. Doses totais semelhantes (14 mg) fracionadas em 14 administrações diárias de 1 mg/kg provocaram sinais clínicos, porém não causaram a morte.

Um ovino apresentou morte súbita, três dias após a ingestão de narasina. Não foram, no entanto, detectadas lesões no miocárdio. A morte poderia estar relacionada a alterações funcionais ou bioquímicas, sem a presença de alterações morfológicas correspondentes no miocárdio (Newsholme 1982), como já foi relatado em casos de intoxicação por antibióticos ionóforos em coelhos (Salles et al. 1994).

Lesões degenerativas foram observadas na musculatura esquelética em ovinos que morreram a partir de 30 horas após a administração da droga, mas no miocárdio foram observadas apenas em ovinos com curso clínico de, no mínimo, 2 dias.

As lesões foram mais acentuadas nos músculos esqueléticos que no miocárdio, principalmente nos músculos da língua, membros posterior e anterior, e abdominal. Achados semelhantes foram observados na intoxicação experimental e espontânea por antibióticos ionóforos em ovinos (Nation et al. 1982, Newsholme et al. 1983, Bastianello et al. 1995). Seis dos nove ovinos intoxicados que morreram tinham lesões nos músculos da língua. Isso não tem sido descrito na intoxicação por antibióticos ionóforos nessa espécie. No entanto, é mencionada na toxicose em bovinos (Van Vleet et al. 1983). O conhecimento da localização das lesões pode ser útil na colheita de material para diagnóstico histopatológico em casos suspeitos de intoxicação por antibiótico ionóforos em ovinos.

Mineralização de miofibras não foi observada. A destruição precoce das mitocôndrias parece ser responsável pelos baixos níveis de calcificação de segmentos musculares lesados na intoxicação por antibióticos ionóforos (Hulland, 1993). Congestão da mucosa intestinal foi observada em quatro ovinos. Essa mesma alteração foi observada em ovinos (Nation et al. 1982, Newsholme et al. 1983,), bovinos (Collins & McCrea, 1978, Shlosberg et al. 1992, Bastianello et al. 1995) intoxicados por antibióticos ionóforos e, ocasionalmente

interpretada como gastroenterite difusa (Collins & McCrea, 1978). Nos casos deste estudo não foram encontradas, ao exame microscópico, alterações que justificassem um diagnóstico de enterite.

Os resultados deste experimento, quando comparados com os de experimento semelhante com narasina realizado em bovinos (Wouters et al. 1997) indicam que os ovinos são mais sensíveis que bovinos aos efeitos tóxicos de droga. Doses a partir de 4mg/kg foram letais para ovinos, enquanto que em bovinos, a morte ocorreu somente em animais que ingeriram doses iguais ou superiores a 15mg/kg. A administração de doses inferiores provocou apenas doença clínica discreta, com posterior recuperação. Tal relação já foi encontrada para outros antibióticos ionóforos (Confer et al. 1983).

REFERÊNCIAS

- Anderson T.D., Van Alstine W.G., Ficken M.D., Miskimins D.W., Carson T.L. & Osweiler G.D. 1984. Acute monensin toxicosis in sheep: Light and electron microscopic changes. *Am. J. Vet. Res.* 45:1142-1143.
- Bastianello S.S., Fourie N., Prozesky L., Nel P.W. & Kellermann T.S. 1995. Cardiomyopathy of ruminants induced by the litter of poultry fed on rations containing the ionophore antibiotic, maduramicin II. *Macropathology and histopathology. Onderstepoort J. Vet. Res.* 62:5-18.
- Behr K.-P., Lüders H., Glünder G. & Friedrichs M. 1988. Narasin-Intoxikation bei Puten. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 95:107-111.
- Bourque J.G., Smart M. & Wobeser G. 1986. Monensin toxicity in lambs. *Can. Vet. J.* 27:397-399.
- Collins E.A. & McCrea C.T. 1978. Monensin sodium toxicity in cattle. *Vet. Rec.* 103:385.
- Confer A.W., Reavis D.U. & Panciera R.J. 1983. Light and electron microscopic changes in cardiac and skeletal muscle of sheep with experimental monensin toxicosis. *Vet. Pathol.* 20:590-602.
- Fourie N., Bastianello S.S., Prozesky L., Nel P.W. & Kellerman T.S. 1991. Cardiomyopathy of ruminants induced by litter of poultry fed on rations containing the ionophore antibiotic maduramicin. I. Epidemiology, clinical signs and clinical pathology. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 58:291-296.
- Gava A. 1991. Comunicação pessoal (UDESC, CAV, Lages, Santa Catarina).
- Geor R. J. & Robinson W.F. 1985. Suspected monensin toxicosis in feedlot cattle. *Aust. Vet. J.* 62:130-131.
- Hulland T.J. 1993. Muscle and tendon, p. 183-265. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1. 4th ed. Academic Press, San Diego. 780 p.
- Karsai F., Papp L., Sályi G., Bagó Gy. & Kántás K. 1990. Gehäuft auftretende Narazin-Vergiftung bei Hunden. *Tierärztl. Umschau* 45:316-324.
- Miskimins D.W. & Neiger R.D. 1996. Monensin toxicosis in swine. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8:396-397.
- Nation P.N., Crowe S.P. & Harries W.N. 1982. Clinical signs and pathology of accidental monensin poisoning in sheep. *Can. Vet. J.* 23: 323-326.
- Newsholme S.J. 1982. Reaction patterns in myocardium in response to injury. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 53:52-59.
- Newsholme S.J., Howerth E.W., Bastianello S.S., Prozesky L. & Minné J.A. 1983. Fatal cardiomyopathy in feedlot sheep attributed to monensin toxicosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 54:29-32.
- Novilla M.N. 1992. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet. Hum. Toxicol.* 34:66-70.
- Rollinson J., Taylor F.G.R. & Chesney J. 1987. Salinomycin poisoning in horses - an international incident. *Vet. Rec.* 121:126-128.
- Salles M.S., Barros C.S.L. & Barros S.S. 1994. Ionophore antibiotic (narasina) poisoning in rabbits. *Vet. Hum. Toxicol.* 36:437-444.
- Shlosberg A., Perl S., Yakobson B., Klopfer U., Egedy M.N., Nobel T.A. & Efron Y. 1986. The chronic course of a probable monensin toxicosis in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 28:230-233.
- Shlosberg A., Harmelin A., Perl S., Pano G., Davidson M., Orgad U., Kali U., Bor A., Van Ham M., Hoida G., Yacobson B., Avidar Y., Israeli B.-A. & Bogin E. 1992. Cardiomyopathy in cattle induced by residues of the coccidiostatic

- maduramicin in poultry litter given as a feedstuff. *Vet. Res. Comm.* 16(1):45-58.
- Van Halderen A., Bastianello S.S., Fourie N. & Zumpt I.F. 1993. An outbreak of narasin poisoning in swine. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 64(1):43-46.
- Van Vleet J.F., Amstutz H.E., Weirich W.E., Rebar A.H. & Ferrans V.J. 1983. Clinical, clinicopathologic, and pathologic alterations in acute monensin toxicosis in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 44:2133-2144.
- Van Vleet J.F. & Ferrans V.J. 1983. Ultrastructural myocardial alterations in monensin toxicosis of cattle. *Am. J. Vet. Res.* 44:1629-1636.
- Wilson J.S. 1980. Toxic myopathy in a dog associated with the presence of monensin in dry food. *Can. Vet. J.* 21:30-31.
- Wouters A.T.B., Wouters F. & Barros C.S.L. 1997. Intoxicação experimental por narasina em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 17(2):82-88.

ESTUDOS HISTOLÓGICO-MORFOMÉTRICOS E MICRORADIOGRÁFICOS DE COSTELAS DE BOVINOS SUPLEMENTADOS COM FOSFATO DE ROCHA¹

Célso Pilati², Ivan V. Rosa³, Milton S. Dayrell⁴, Jürgen
Döbereiner⁵ e Klaus Dämmrich⁶

ABSTRACT.- Pilati C., Rosa I.V., Dayrell M.S., Döbereiner J. & Dämmrich K. 1997. [Morphologic-morphometrical and microradiographical studies on ribs of cattle supplemented with rock phosphate.] Estudos morfológico-morfométricos e microrradiográficos de costelas de bovinos suplementados com fosfato de rocha. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):96-104. Laboratório de Patologia Animal, CAV, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Av. Luiz de Camões 2090, Cx. Postal 281, Lages SC 88520-000, Brazil.

The present study was conducted to evaluate possible bone changes in cattle due to the ingestion of different levels of fluorine from rock phosphate used as a phosphorus supplement. The bone material studied were ribs collected from cattle of three experiments where Tapira rock phosphate was used at different levels and during different periods as a partial or sole source of supplementary phosphorus. In the first experiment feedlot cattle ingested during a 6 month period 63 and 128g/day of Tapira rock phosphate containing 1.3% fluorine. In the second experiment cattle maintained in *Brachiaria decumbens* pastures during 33 months ingested several levels of Tapira rock phosphate in the mineral mixtures. In the third experiment heifers averaging 14 months of age ingested a mineral supplement with Tapira rock phosphate until the 5th lactation period. Careful examination of the rib samples by histological, morphometric and microradiographic techniques revealed no abnormalities which could be related to fluorine ingestion, neither any differences among treatments regarding the bone structure. These findings support the conclusion that, as far as bone alterations are concerned, Tapira rock phosphate could be used as a source of phosphorus for cattle under the conditions described in the experiments, a practice which would markedly reduce the cost of phosphorus supplementation.

INDEX TERMS: Fluorine, phosphorus supplementation, rock phosphate, bone alterations, cattle.

SINOPSE.- O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar, através de técnicas especializadas, as possíveis alterações ósseas produzidas em bovinos em decorrência da ingestão prolongada de diferentes níveis de flúor contido no fosfato de rocha de Tapira utilizado como fonte suplementar de fósforo. No primeiro experimento bovinos confinados ingeriram, du-

rante 6 meses, quantidades variáveis (63 e 128g/dia) de fosfato de Tapira contendo 1.3% de flúor. No segundo experimento, bovinos em pastos de *Brachiaria decumbens* ingeriram, durante 33 meses, misturas minerais contendo diferentes níveis de fosfato de rocha de Tapira. No terceiro experimento, novilhas com idade inicial média de 14 meses ingeriram mistura mineral com fosfato de Tapira até a quinta lactação inclusivamente. Através de exames histológicos, morfométricos e microrradiográficos das amostras de costelas, não se observaram alterações da normalidade óssea, bem como não foram registradas diferenças entre amostras provenientes de diferentes tratamentos. Tais achados permitem inferir que, do ponto de vista de alterações ósseas, o fosfato de rocha de Tapira pode ser utilizado como fonte suplementar de fósforo para bovinos, nas dosagens, períodos e manejos alimentares estudados, sem risco de produzir alterações patológicas nos esqueleto dos animais.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Flúor, suplementação de fósforo, fosfato de rocha, alterações ósseas, bovinos.

¹Aceito para publicação em 20 de maio de 1997.

Parte do trabalho de Tese de Doutorado do primeiro autor, submetido à Universidade Livre de Berlim, Alemanha, em julho de 1994.

²Laboratório de Patologia Animal, CAV, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Av. Luiz de Camões 2090, Cx. Postal 281, Lages, SC 88520-000.

³Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte - Embrapa, Cx. Postal 154, Campo Grande, MS 79002-970.

⁴Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite - Embrapa, Cx. Postal 151, Coronel Pacheco, MG 36159-000.

⁵Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

⁶Institut für Veterinär-Pathologie, Freie Universität Berlin, Strasse 518, Nr. 15, D-14163 Berlin, Alemanha.

INTRODUÇÃO

A deficiência de fósforo é uma condição frequente em bovinos sob dieta exclusiva de pasto, uma vez que as forrageiras, sobretudo as de climas tropicais, são notoriamente deficientes no elemento. No Brasil a produção de gado de corte é feita predominantemente em pastagens de baixo valor nutritivo, onde a deficiência de fósforo se destaca dentre as demais (Tokarnia et al. 1988), causando prejuízos avultados sobre a produção e reprodução dos rebanhos. A deficiência de fósforo é ainda reconhecida como a mais abrangente e a mais importante dentre todas as que podem estar sujeitos bovinos sob pastejo (McDowell 1976, Underwood 1981). As deficiências deste mineral na dieta de bovinos se caracterizam, dependendo de sua severidade, por perda de peso, crescimento retardado, baixa produção de leite e fertilidade reduzida (Call et al. 1986, Shupe et al. 1986). Num estágio mais avançado da deficiência os animais podem apresentar anomalias ósseas e apetite depravado (Durand 1974). Esta última condição pode levá-los ao consumo de ossos ou restos de cadáveres em decomposição eventualmente contaminados com a toxina botulínica, causando pesadas baixas no rebanho (Döbereiner et al. 1992).

No Brasil, o método mais utilizado para corrigir as deficiências de fósforo nos rebanhos bovinos é através de misturas ou suplementos minerais, colocados à disposição permanente dos animais em cochos nas pastagens. Nestas misturas, a fonte de fósforo (geralmente o fosfato bicálcico), pelo seu custo elevado e pelos níveis em que integra o suplemento, representa o item mais caro, compreendendo de 40% a 75% do custo final do produto. Assim, com vistas a reduzir o ônus representado pelo fósforo na suplementação mineral dos rebanhos, há cerca de dez anos começaram a ser empreendidos esforços de pesquisa no sentido de ensaiar fontes não convencionais de fósforo, de custo mais baixo do que o do fosfato bicálcico. Dentre as fontes aventadas para estudo, desde logo mereceram atenção especial os fosfatos de rocha ou concentrados fosfáticos, principalmente em razão de seu custo, cerca de dez vezes inferior ao fosfato bicálcico. Desde o início do estudo de tais produtos dois de seus aspectos merecem particular atenção: as concentrações e biodisponibilidade de seu fósforo e os possíveis efeitos tóxicos de seu flúor, relativamente elevado, porém pouco biodisponível.

Do excesso de flúor ingerido pelo animal, boa parte é excretada pela urina (Zipkin et al. 1956), enquanto quase todo o restante é acumulado seletivamente nos ossos e dentes (Zipkin et al. 1964), causando anomalias das estruturas óssea e dentária (Shupe et al. 1963). Estas anomalias, em se tratando dos dentes, podem variar, desde leves alterações de cor e forma até o desgaste excessivo e queda de dentes, comprometendo a ingestão de alimentos e água. No esqueleto dos animais as lesões podem assumir as mais diferentes formas e graus de gravidade, tais como osteoporose, osteosclerose, osteomalácia, hiperostose e osteofitose ou combinações destas (Johnson 1965, Shupe & Alther 1966, Shupe 1969), po-

dendo levar o animal à dificuldade ou incapacidade de locomover-se e a severas fragilidades ósseas, capazes de causar frequentes fraturas.

O presente trabalho representa o estudo, através de técnicas apropriadas, de amostras de ossos obtidas de bovinos que receberam, por períodos e em quantidades variáveis, fosfato de rocha de Tapira como suplemento de fósforo, tendo em vista detectar possíveis alterações decorrentes do flúor ingerido. O fosfato de Tapira foi escolhido dentre outros fosfatos de rocha produzidos no Brasil por seus níveis relativamente elevados de fósforo e por ser o de mais baixa concentração de flúor. No Quadro 1 encontra-se a composição média, fósforo e flúor do fosfato de Tapira em comparação com o fosfato bicálcico.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento 1

Foram utilizados 24 bovinos mestiços Holandês x Zebú, machos, com idade média de 34 meses, bloqueados por peso vivo e distribuídos nos seguintes tratamentos: (A) Dieta basal + 1 kg de mistura de concentrados; (B) Dieta basal + 1 kg de mistura de concentrados contendo 128g de fosfato de Tapira; (C) Dieta basal + 1 kg de mistura de concentrados contendo 45g de fosfato bicálcico; (D) Dieta basal + 1 kg de mistura de concentrados contendo 63g de fosfato de Tapira.

A dieta basal consistiu de cana-de-açúcar adicionada de 1% de uma mistura de uréia (90%) e sulfato de amônia (10%). A mistura de concentrados era constituída de milho desintegrado com palha e sabugo (50%), raspa de mandioca (45%) e calcário calcítico (5%).

Os animais foram mantidos em baias individuais, durante 6 meses, tendo à disposição a dieta basal, água e mistura mineral com a seguinte composição: sal comum 99,15%; sulfato de cobre, 0,40%; óxido de zinco, 0,40%; iodato de potássio, 0,03% e sulfato de cobalto, 0,02%.

O controle de ingestão da dieta basal era feito diariamente e os animais foram pesados a cada 28 dias, após jejum de cerca de 18 horas.

Experimento 2

Neste experimento foram utilizados, inicialmente, 200 bovinos de sobreano, sendo 100 machos e 100 fêmeas, distribuídos pelos seguintes tratamentos, num delineamento de blocos ao acaso:

- Sal comum + microelementos + cálcio (sem fósforo) - Controle;
- Sal comum + microelementos + fósforo (fosfato bicálcico);
- Sal comum + microelementos + fósforo (2/3 de fosfato bicálcico + 1/3 de fosfato de Tapira);
- Sal comum + microelementos + fósforo (1/3 de fosfato bicálcico + 2/3 de fosfato de Tapira); e
- Sal comum + microelementos + fósforo (fosfato de Tapira).

Durante os 33 meses de experimento os animais permaneceram em pastagens de *Brachiaria decumbens* formados em solos pobres de cerrado, recebendo durante todo o tempo, em cochos cobertos, as respectivas misturas minerais (tratamentos). A cada 28 dias os animais eram rotacionados ao acaso nos pastos experimentais, e a cada período de 6 meses era realizado um exame clínico dos dentes incisivos para obtenção de eventuais sinais de fluorose. Nos mesmos períodos eram colhidas amostras de ossos (biópsias da 12ª costela) para dosagens dos níveis de flúor. Ao cabo do período experimental, 27 machos com mais de 450 kg foram abatidos para verificação de eventuais lesões ósseas de fluorose. Nessa oportunidade foram

colhidas amostras de ossos de 11 desses animais para serem submetidas ao presente estudo.

Experimento 3

Foram utilizadas 43 novilhas mestiças Holandez x Zebu, com idade variando de 8 a 16 meses (média de 14 meses) e bloqueadas por peso e por pai, divididas em dois tratamentos: A) pasto mais suplemento mineral cuja fonte de fósforo era fosfato bicálcico (22 animais); B) pasto mais suplemento mineral, cuja fonte de fósforo era o fosfato de Tapira (21 animais). Estes suplementos eram deixados em cochos cobertos, à vontade para os animais. O consumo era medido na mesma época de troca dos animais dos piquetes.

Foram utilizados 67 ha de capim gordura (*Melinis minutiflora*), divididos em quatro piquetes, e 6,8 ha, também divididos em quatro piquetes, de pasto de capim elefante (*Penisetum purpureum*). A cada 14 dias era feita a rotação entre os piquetes utilizados.

Um mês antes do parto, as novilhas eram colocadas em pasto maternidade, onde recebiam capim elefante picado, à vontade, e cerca de 2 kg/animal/dia de mistura de concentrado comercial. Nesse período, elas não recebiam a suplementação mineral do respectivo tratamento.

Todos os animais após o parto receberam o mesmo manejo alimentar, porém cada grupo recebia, junto com a mistura de concentrados, 60g/animal/dia da respectiva mistura mineral do tratamento.

Quando as vacas "secavam", eram transferidas para as pastagens utilizadas quando solteiras e passavam a receber a respectiva mistura mineral no cocho, à vontade.

Nesse experimento, os animais foram acompanhados até à quinta lactação, quando então cinco vacas de cada grupo foram sacrificadas e as amostras de osso da 6ª costela foram retiradas e colocadas em solução tamponada a pH 7,0 de formol a 10%.

Coleta do material

Ao final dos experimentos os animais foram sacrificados e amostras da 6ª costela direita de cada animal foram obtidas para avaliação de eventuais alterações do esqueleto. Cada amostra tinha comprimento de 3 cm e era coletada sempre da mesma localização no osso (cerca de 10 cm abaixo da articulação costovertebral). No Experimento 2 a amostra foi coletada na junção costocostal. As amostras foram fixadas em solução neutra de formol a 10%.

Exame histológico-morfométrico

Dos fragmentos de costelas incluídos em metilmetacrilato foram tirados cortes longitudinais de 7 µm de espessura e corados pelo método do Tricrômico de Goldner (Romeis 1989). Com auxílio de um aparelho de análise de campo ASM 68K, da Firma Leitz/Wetzlar, determinou-se a espessura da bainha de osteóide na superfície interna da compacta, sobre as trabéculas e nos canais de Havers. A correlação da superfície quiescente, da superfície de aposição e da superfície de reabsorção também foi estimada.

Estudo microrradiográfico

Os exames histológico-morfométricos e microrradiográficos foram realizados seguindo a metodologia em uso no Instituto de Patologia Veterinária da Universidade de Berlim (Pilati et al. 1996).

Dos blocos de metilmetacrilato foram tirados cortes transversais de cerca de 80 µm de espessura para realização de microrradiografias de contato. As microrradiografias foram examinadas com auxílio de um microscópio, determinando-se o grau de mineralização das lamelas dos osteôneos, das lamelas do endóstio e o das trabéculas. Também estabeleceu-se uma relação entre osteôneos com canais de Havers estreitos, alargados e largos.

RESULTADOS

Experimento 1

A composição em cálcio, fósforo e flúor do fosfato bicálcico e fosfato de rocha de Tapira utilizados no presente experimento, encontra-se no Quadro 1. A ingestão total diária de fósforo e flúor pelos animais durante o experimento, encontra-se no Quadro 2.

Quadro 1. Composição média (%) de cálcio, fósforo e flúor no fosfato de bicálcico e fosfato de Tapira utilizados nos experimentos

	Cálcio	Fósforo	Flúor
Fosfato bicálcico	24,0	18,0	0,18
Fosfato de Tapira	35,0	15,00	1,33

Quadro 2. Ingestão total diária de fósforo e flúor pelos bovinos nos tratamentos testados (Experimento 1)

Tratamento	Fósforo (g)	Flúor (mg)
Dieta basal sem suplemento de fósforo	4,4	-
Dieta basal + 128g fosfato de Tapira	24,0	1664
Dieta basal + 45g de fosfato bicálcico	13,4	81
Dieta basal + 63g de fosfato de Tapira	13,9	891

Os resultados histológicos e microrradiográficos serão descritos em conjunto, porque observaram-se apenas diferenças com relação à idade dos animais, uma vez que essa variava entre 26 e 48 meses:

No subperióstio da compacta lateral, em sete animais, a superfície era lisa e recoberta por uma camada de tecido osteóide. Nos outros 12 animais observaram-se, em intensidades variáveis, formação de lamelas tangenciais que variavam de uma a dez camadas. As novas lamelas formadas eram revestidas por uma bainha osteóide. Sob o perióstio da compacta pleural ocorria, em 18 animais, predominantemente aposição de tecido ósseo, onde apareciam finas bainhas osteóides. Nas superfícies não recobertas por osteóide, observava-se reabsorção óssea por osteoclastos. Em parte as lacunas eram preenchidas por substância osteóide. Lacunas de reabsorção eram encontradas regularmente nos locais de inserção dos músculos intercostais. Em um bovino a reabsorção osteoclástica predominava sobre a aposição.

A transformação da compacta em osteônio, espessura da bainha de osteóide, assim como o grau de mineralização estão representados no Quadro 3 (Fig. 1 e 2). A compacta pleural era na maioria dos animais mais espessa que a compacta lateral. Em 13 animais somente 1/3 interno, em cinco animais 2/3 internos foram remodelados em osteônios. O resto era constituído por lamelas radiais e tangenciais separados por estreitos canais vasculares. Em um bovino (de 35 meses) a compacta lateral encontrava-se em avançado estágio de transformação em sistemas osteonais, revestidos por uma camada de lamelas gerais interna e uma camada externa.

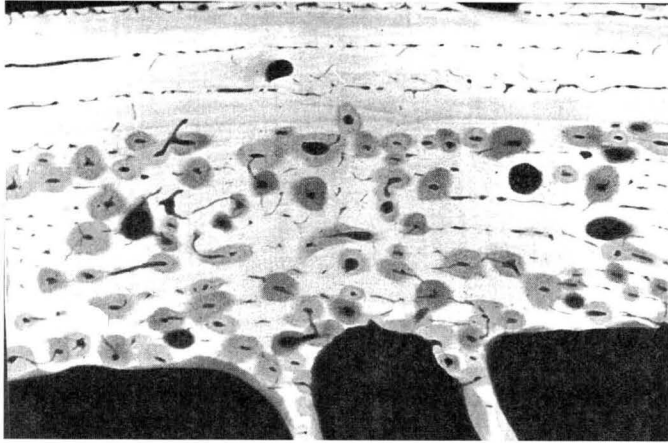


Fig. 1. Corte transversal de costela de um bovino do Experimento 1, que ingeriu diariamente 81mg de flúor. Remodelação normal da compacta juvenil em osteôneos, mineralização normal do tecido ósseo. Microrradiograma, obj. 2,5.

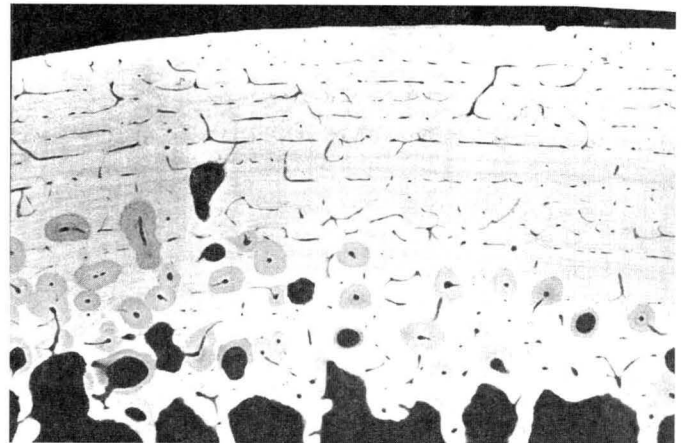


Fig. 2. Corte transversal de costela de bovino do Experimento 1, que ingeriu diariamente 1664 mg de flúor. Remodelação normal da compacta juvenil em osteôneos, mineralização normal do tecido ósseo. Microrradiograma, obj. 2,5.

Quadro 3. Espessura (μm) das bainhas osteóides nos canais de Havers, assim como na superfície endosteal da compacta lateral e na superfície das trabéculas. Transformação da compacta em osteoneos e grau de mineralização dos osteoneos. (Experimento 1, duração 6 meses)

Suplemento mineral	Bovino no.	Idade (meses)	Espessura da bainha osteóide (μm)			Compacta transformação em osteoneo		Frequência, osteoneos de baixo, médio e alto grau de mineralização
			Canais de Havers	Compacta, pleural	Superfície trabecular	Pleural	Lateral	
Dieta basal	650	26	10,1	14,2	13,6	+	+	1:2:1
	651	33	12,8	13,9	13,1	++	++	1:2:1
	652	31	12,9	18,4	13,6	+	+	1:2:1
	653	34	14,7	12,9	14,7	++	++	1:2:1
	654	31	10,4	9,8	9,5	++	+	1:2:1
Dieta basal + 45g/dia de fosfato bicálcico	659	48	10,4	6,4	9,0	++	++	1:2:1
	660	34	11,8	9,3	13,7	++	+	1:2:1
	661	31	9,5	12,5	10,3	+	++	1:2:1
	662	29	16,8	21,6	18,5	++	+	1:2:1
	663	39	12,6	15,6	11,2	+	++	1:2:1
Dieta basal + 63g/dia de fosfato de rocha	664	31	14,1	14,2	14,6	+	+	1:2:1
	665	31	8,1	14,8	10,5	+	+	1:2:1
	666	29	9,7	12,8	12,8	+	+	1:2:1
	667	35	18,1	18,6	18,9	+	+++	1:2:1
	668	31	10,4	15,2	10,6	++	+	1:2:1
Dieta basal + 126g/dia de fosfato de rocha	655	26	11,8	9,9	15,5	+	+	1:2:1
	656	26	14,1	17,4	19,4	+	+	1:2:1
	657	32	7,9	11,7	18,8	+	+	1:2:1
	658	40	9,4	9,6	16,3	++	+	1:2:1

Na compacta pleural de onze animais predominavam as lamelas tangenciais e radiais. No máximo 1/3 do endóstio era transformado em sistemas osteonais. Em geral os osteoneos eram de forma oval ou arredondada. A maioria dos osteoneos eram completamente desenvolvidos e mostravam um estreito canal de Havers. A lamela interna, em contato com o canal de Havers, era mais intensamente mineralizada que as lamelas externas. Em todos os animais

encontravam-se alguns osteoneos incompletamente desenvolvidos com lamelas especiais mais fracamente mineralizadas. Em cinco animais observavam-se apenas alguns canais de Havers alargados, em 14 animais esse número era mais elevado. Na maioria dos canais de Havers alargados havia aposição de tecido ósseo, com uma bainha osteóide com uma espessura máxima de 7,9 a 18,1 μm .

Nos bovinos do tratamento com 126g de fosfato de Tapira,

observou-se uma maior atividade osteoclástica próximo à medular, onde canais vasculares alargados eram transformados em trabéculas permanentes.

Um bovino (652) mostrava, em relação a sua idade, uma compacta muito fina. Três animais (654, 662, 664) mostravam uma compacta com camadas múltiplas divididas por uma linha fortemente mineralizada. Em dois bovinos observaram-se dois períodos e em um bovino um período de parada de crescimento.

Em todos os tratamentos ocorria aposição e reabsorção de tecido ósseo endostalmente na compacta lateral e pleural. Na superfície endostal da compacta lateral de seis animais a reabsorção e a aposição encontravam-se em equilíbrio. Em seis animais predominava a aposição e nos sete restantes (655, 656, 657, 658, 661, 663, 667) predominava a reabsorção. O novo tecido ósseo apostado era recoberto por osteóide. O tecido osteóide recobria até 2/3 da superfície. A reabsorção era focal, podendo estender-se até 2/3 da superfície. Na superfície endostal da compacta pleural de cinco animais a aposição e a reabsorção apresentavam-se em equilíbrio (1:1) e cada um recobria 1/3 da superfície. Em 11 animais predominava a aposição, sendo que a superfície era recoberta de 1/3 a totalmente por bainhas osteóides. Em dois animais (656, 662) predominava a reabsorção sobre a aposição. A superfície de reabsorção recobria até 1/3 da superfície. A reabsorção era realizada por osteoclastos grandes. O novo tecido ósseo apostado era recoberto por osteoblastos grandes e mostrava bainhas de osteóide de espessura máxima entre 6,4 e 21,6 μm .

Todos os animais apresentavam no espaço medular uma rede trabecular que era mais densa próxima à compacta que no centro da medular. Na superfície trabecular encontrava-se superfície quiescente recoberta por osteoblastos pequenos e achatados, segmentos com reabsorção através de pequenos e grandes osteoclastos, assim como segmentos com aposição de tecido ósseo por osteoblastos grandes e cúbicos. Em 18 animais de todos os tratamentos predominava a superfície quiescente. Em um animal predominava a superfície com aposição. Em geral resultou que a superfície de reabsorção em todos os animais era menor que a superfície quiescente e da superfície de aposição. Dois animais (656, 658) do tratamento B mostravam, em comparação com os outros animais, uma superfície de reabsorção maior. Nos segmentos de aposição encontrava-se uma espessura máxima da bainha de osteóide de 9,0 a 19,4 μm . As bainhas osteóides no centro da medular eram, na maioria das costelas, um pouco mais finas e estendiam-se por uma superfície menor do que na periferia.

Em resumo, baseados nos achados, verificou-se que os animais de todos os tratamentos, dependendo da idade, mostravam pequenas diferenças na intensidade de crescimento, osteogênese e modelamento. Considerando-se estas diferenças, não se observaram alterações induzidas pela alimentação nos animais dos quatro tratamentos. Nos animais do tratamento B observou-se um leve aumento na absorção de tecido ósseo. Nos animais de todos os quatro tratamentos o tecido ósseo mineralizado apresentava grau de mineralização semelhante. Não houve diferença na espessura das bainhas

osteóides dos canais de Havers, das lamelas gerais e das trabéculas entre os animais dos diferentes tratamentos.

Experimento 2

Neste experimento, com duração de 33 meses, procurou-se esclarecer se ocorreu lesão de fluorose no esqueleto em consequência do flúor contido no fosfato de rocha (1,01%) ingerido pelos animais. A quantidade de mistura mineral, de fósforo e flúor ingeridos pelos animais com a suplementação mineral pode ser vista no Quadro 4.

Quadro 4. Ingestão diária da mistura mineral, fósforo e flúor, pelos bovinos (Experimento 2)

Mistura mineral	Nº de bovinos	Ingestão diária		
		Total (g)	Fósforo (g)	Flúor (mg)
Fosfato bicálcico	2	26,38	4,81	23,74
Fosfato bicálcico	3	18,44	3,36	16,59
+		+	+	+
fosfato de Tapira		11,26	1,34	113,72
Fosfato bicálcico	3	8,89	1,62	8,00
+		+	+	+
fosfato de Tapira		26,62	3,16	268,8
Fosfato de Tapira	3	26,48	3,15	267,45

Os resultados serão descritos em conjunto devido encontrarem-se apenas pequenas variações entre os tratamentos:

Sob o periosteio da compacta lateral todos os animais mostravam uma superfície fechada, que era em cinco animais completamente e em seis quase completamente recoberta por uma fina bainha de osteóide. Sob o periosteio da compacta pleural havia uma fina camada de osteóide recobrindo a superfície. Em dez animais ainda aparecia focalmente reabsorção osteoclástica. Nos locais de inserção dos músculos intercostais encontrava-se regularmente reabsorção de tecido ósseo.

A transformação da compacta em osteoneo, a espessura das bainhas osteóides, assim como o grau de mineralização dos osteoneos estão representados no Quadro 5 (Fig. 3). Tanto na compacta lateral como na compacta pleural a remodelação em osteoneos era variável, atingindo 1/3, 2/3 ou toda a compacta. Em relação à compacta pleural, em nove animais só 1/3 interno e em dois animais os 2/3 internos foram transformados em osteoneos. Na compacta lateral de sete bovinos somente 1/3 interno e em dois animais 2/3 internos foram transformados em osteoneos. A parte não transformada em osteoneos era constituída de lamelas radiais e tangenciais separadas por estreitos canais vasculares. Os osteoneos eram quase totalmente desenvolvidos e mostravam canais de Havers estreitos. A zona interna da lamela interna dos sistemas osteonais junto aos canais de Havers era intensamente mineralizados. Em todos os animais apareciam ainda alguns osteoneos com canais vasculares largos. Em três animais este número era um pouco mais elevado. Na maioria dos osteoneos com canais vasculares alargados ocorria aposição de tecido ósseo lamelar, onde encontrava-se uma bainha osteóide de 9,8 a 16,1 μm de espessura. Em alguns dos canais de Havers

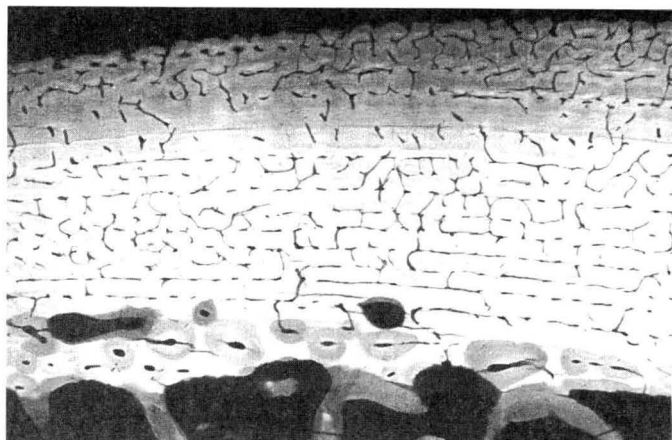


Fig. 3. Corte transversal de costela de bovino do Experimento 2, que ingeriu diariamente 267 mg flúor. Remodelação normal da compacta juvenal em osteôneos, mineralização normal do tecido ósseo. Microrradiograma, obj. 2,5.

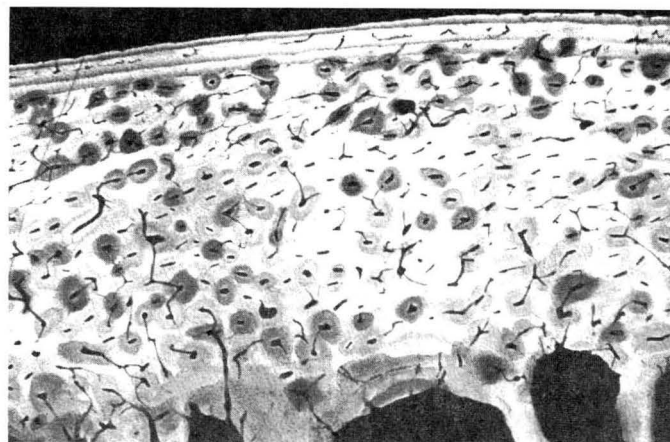


Fig. 4. Corte transversal de uma costela de bovino adulto do Experimento 3, que ingeriu diariamente 363,6 mg de flúor durante 84 meses. Osteoneos da compacta com canais de Havers estreitos com diferente conteúdo em mineral. Microrradiograma, obj. 2,5.

Quadro 5. Espessura (μm) das bainhas osteóides nos canais de Havers, assim como na superfície endostal da compacta lateral e na superfície das trabéculas. Transformação da compacta em osteoneos e grau de mineralização dos osteoneos. (Experimento 2, duração 33 meses)

Suplemento mineral	Bovino no.	Idade (meses)	Espessura da bainha osteóide (μm)			Compacta transformação em osteôneo		Frequência, osteôneos de baixo, médio e alto grau de mineralização
			Canais de Havers	Compacta, pleural	Superfície trabecular	Pleural	Lateral	
Fosfato bicálcico	831-1	45	12,2	14,0	14,5	+	++	1:2:1
	831-2	45	14,6	12,0	15,9	+	+	1:2:1
Fosfato bicálcico + fosfato de rocha	832-1	45	9,8	15,5	12,4	++	++	1:2:1
	832-2	45	13,7	15,7	15,5	+	+	1:2:1
	833-3	45	12,3	11,4	12,1	+	+	1:2:1
Fosfato bicálcico + fosfato de rocha	833-1	45	11,6	13,1	16,9	+	+	1:2:1
	833-2	45	16,1	18,3	18,4	+	+++	1:2:1
	833-3	45	15,8	11,9	16,9	+	++	1:2:1
Fosfato de rocha	835-1	45	15,6	18,5	18,3	++	+	1:2:1
	835-2	45	14,6	16,3	15,1	+	+	1:2:1
	835-3	45	13,3	11,7	18,2	+	+	1:2:1

alargados ocorria ainda reabsorção excêntrica de tecido ósseo por osteoclastos.

Tanto na compacta lateral como na compacta pleural apareciam na superfície endostal diferentes atividades: segmentos com superfície quiescente recobertos por osteoblastos pequenos e achatados, segmentos com aposição de tecido ósseo recoberto por osteoblastos grandes e cúbicos, assim como segmentos com reabsorção de tecido ósseo por osteoclastos. Aposição de tecido ósseo na compacta lateral encontrava-se em três animais apenas focalmente, em cinco animais em 1/3 da superfície e, em três animais, a aposição de tecido ósseo recobria de 1/3 a 1/2 da superfície. O tecido

ósseo aposto era recoberto por uma fina bainha de substância osteóide. Sobre a compacta pleural a aposição de tecido ósseo recobria em sete animais 1/3, em um animal 1/2 e em três animais quase completamente a superfície. Sobre a superfície endostal da compacta pleural, o tecido ósseo aposto mostrava uma bainha osteóide de 7 a 18,5 μm de espessura.

Na superfície das trabéculas predominava em todos os animais uma superfície lisa recoberta por osteoblastos pequenos e achatados. Em todos os bovinos predominava a aposição de tecido ósseo sobre a reabsorção. No tecido ósseo aposto apareciam bainhas osteóides de 11,4 a 18,3 μm de espessura. Em todos os bovinos aparecia, em pequeno

grau, reabsorção de tecido ósseo por pequenos e grandes osteoclastos.

Em resumo, dos achados resulta que a remodelação da compacta em osteôneos ocorria, com pequenas variações entre os animais, regularmente. O tecido ósseo mineralizado na compacta, osteôneos e lamelas, apresentava-se regularmente e de intensidade semelhante em todos os animais. A espessura das bainhas osteóides nos canais de Havers, assim como nas lamelas gerais e sobre as trabéculas, não mostrava diferença entre os animais do Experimento 2.

Experimento 3

O consumo das misturas minerais das novilhas até o 8º mês de gestação, quando ingeriram a mistura mineral à vontade, encontra-se no Quadro 6. Após o parto, as vacas ingeriram, através da mistura de concentrados, 60g/dia das respectivas misturas minerais.

Quadro 6. Consumo médio (g/animal/dia) das misturas minerais dos respectivos tratamentos (Experimento 3)

Tratamento	Ano		
	1985	1986	1987
Fosfato bicálcico	28,7	35,4	44,3
Fosfato de Tapira	22,7	29,1	38,7

Os resultados dos dois tratamentos serão descritos em conjunto devido à semelhança da estrutura óssea dos dois tratamentos:

Subperiostealmente, os achados eram uniformes nos animais dos dois tratamentos. Sob o periosteio da compacta lateral, a superfície era fechada completamente por uma fina camada de osteóide. Sob o periosteio da compacta pleural encontrava-se predominantemente uma superfície fechada que era revestida por uma fina bainha de substância osteóide.

Nas áreas não recobertas por substância osteóide encontrava-se focalmente reabsorção de tecido ósseo. Algumas lacunas de reabsorção também eram observadas nos locais de inserção dos músculos intercostais.

A transformação da compacta em osteôneos, a espessura das bainhas osteóides, assim como o grau de mineralização podem ser vistos no Quadro 7. (Fig. 4). Todos os animais mostravam uma compacta que era transformada em osteôneos em diferentes graus. A compacta lateral em três animais apresentava-se em avançado grau de remodelação em osteôneos recobertos por uma camada de lamelas gerais internas e externas. Entre os osteôneos encontravam-se ainda largas lamelas intersticiais. Em seis animais a compacta foi remodelada em osteôneos até 2/3 e, em um animal, o remodelamento limitava-se ao 1/3 interno. O resto da compacta mostrava ainda uma estrutura constituída de lamelas radiais e tangenciais, separadas por canais vasculares estreitos. O remodelamento em osteôneos na compacta pleural ocorria em velocidades semelhantes, assim que em cinco animais 1/3 interno e, em outros cinco, 2/3 internos foram transformados em osteôneos. Também na compacta pleural encontravam-se ainda superficialmente estruturas ricas em lamelas radiais e tangenciais. A maioria dos osteôneos era completamente desenvolvida e mostrava canal de Havers estreito. A lamela interna junto ao canal de Havers mostrava-se intensamente mineralizada. Em todos os animais encontravam-se alguns osteôneos incompletamente desenvolvidos, com lamelas especiais fracamente mineralizadas. Em todos os animais observaram-se ainda alguns osteôneos com canal vascular alargado. Na maioria dos osteôneos com canais de Havers alargados encontrava-se aposição de tecido ósseo e, em raros casos, reabsorção. O tecido ósseo sintetizado pelos osteoblastos era revestido por osteóide que tinha uma espessura de 4,3 a 17 μ m.

Na superfície endostal da compacta lateral e pleural predominava, em nove animais, a superfície quiescente que era recoberta por osteoblastos pequenos e achatados. Focalmente

Quadro 7. Espessura (μ m) das bainhas osteóides nos canais de Havers, assim como na superfície endostal da compacta lateral e na superfície das trabéculas. Transformação da compacta em osteoneos e grau de mineralização dos osteoneos. (Experimento 3, duração 7 anos)

Suplemento mineral	Bovino no.	Idade (meses)	Espessura da bainha osteóide (μ m)			Compacta transformação em osteoneo		Frequência, osteoneos de baixo, médio e alto grau de mineralização
			Canais de Havers	Compacta, pleural	Superfície trabecular	Pleural	Lateral	
Fosfato bicálcico	1325	96	12,4	4,0	14,0	++	++	1:2:1
	1327	96	17,0	10,8	9,4	++	++	1:2:2
	1331	96	5,3	10,3	4,3	++	++	1:2:2
	1332	96	6,3	4,7	6,4	+	++	1:2:2
	1333	96	12,9	7,7	11,5	++	+++	1:2:2
Fosfato de Tapira	1324	96	16,9	13,3	17,2	++	++	1:2:2
	1326	96	13,1	8,4	14,0	+	+++	1:2:2
	1328	96	8,5	9,7	8,5	++	+++	1:2:2
	1329	96	7,4	8,0	11,6	++	++	1:2:2
	1330	96	4,3	5,1	6,2	+	++	1:2:2

observava-se aposição de tecido ósseo. Em um animal a aposição de tecido ósseo lamelar era mais intensa. A aposição de tecido ósseo recobria a superfície endostal da compacta pleural em até 2/3 e a compacta lateral em até 1/3. O tecido ósseo aposto trazia uma bainha osteóide de 4,0 a 15,5 μm de espessura. Em todas as vacas observava-se, na superfície endostal da compacta lateral e pleural, pequeno grau de reabsorção. No espaço medular observava-se pequeno número de trabéculas.

Na esponjosa predominava, em todas as vacas, a superfície quiescente que era recoberta por uma camada de osteoblastos pequenos e achatados. A superfície de aposição de tecido ósseo era em todos os bovinos maior que a superfície de reabsorção. O tecido ósseo que foi recentemente aposto mostrava uma bainha osteóide de 4,3 a 17,2 μm de espessura. Em todos os animais observavam-se pequenas lacunas de reabsorção por osteoclastos.

Em resumo, os achados histológicos não mostraram diferenças entre os animais dos dois tratamentos. Não se encontraram indícios de aumento ou diminuição no remodelamento da compacta. A mineralização do tecido ósseo da compacta, dos osteôneos e das lamelas apresentava-se semelhante em todos os animais. Também na espessura das bainhas osteóides dos canais de Havers, lamelas gerais e trabéculas não se observaram diferenças entre os animais.

DISCUSSÃO

No presente trabalho foram colhidas amostras de costelas de bovinos que haviam ingerido o fosfato de rocha de Tapira por períodos curtos (6 meses) e por períodos longos (3 e 7 anos), para exame histológico e microrradiográficos, com o objetivo de se verificar alterações de deficiência de fósforo ou devidas à ingestão de níveis elevados de flúor.

No Experimento 1, nos animais que receberam suplementação com 128g de fosfato de Tapira por dia observou-se maior atividade osteoclástica no sentido do remodelamento, possivelmente devido a um hiperparatireoidismo, que provocou maior reabsorção óssea pelos osteoclastos.

Nos estágios iniciais de uma fluorose observam-se alterações no esqueleto que correspondem a uma osteomalácia hipofosfatêmica (Cohrs 1941, Blakemore et al. 1948, Obel 1969). No Experimento 1, os bovinos ingeriram diferentes quantidades de flúor através do suplemento mineral, sendo que em um tratamento os bovinos chegaram a ingerir 1920 mg flúor/dia. Nas costelas examinadas não se observaram diferenças nas bainhas osteóides e na estrutura óssea que poderiam indicar efeito sobre o esqueleto do excesso de flúor ingerido. Os animais que receberam suplemento que não continha flúor se comportaram como aqueles que receberam pequenas e grandes quantidades de flúor do fosfato de rocha.

Vários fatores podem influenciar a manifestação dos sintomas de toxidez de flúor pelo animal: quantidade de flúor ingerida, intervalo de tempo da ingestão, flutuações da ingestão com o tempo, solubilidade do flúor ingerido, idade

do animal ao início da ingestão, nível geral de nutrição do animal, fatores de estresse e resposta biológica individual (NRC 1974). Segundo Kühnert (1991), a fluorose crônica dos bovinos pode ocorrer após longo tempo de ingestão de 1,5 mg de flúor/kg de peso vivo por dia. Como o flúor do fosfato de rocha é de menor disponibilidade, difícil absorção, os bovinos toleram doses diárias mais elevadas desse elemento quando comparado, por exemplo, com o fluoreto de sódio (Rand & Schmidt 1952, Underwood 1981). As lesões de fluorose no esqueleto desenvolvem-se no bovino adulto no sentido do remodelamento, assim que até que se tornem viáveis é necessário um longo período de tempo. É relatado que uma fluorose desenvolve-se apenas após ingestão de fosfato de rocha por alguns anos (Shupe et al. 1962). Em animais em desenvolvimento, onde a osteogênese é mais ativa, as lesões de fluorose desenvolvem-se mais rapidamente (Suttie et al. 1957). Baseado nisso, como no Experimento 1 os bovinos apresentavam idades diferentes, mas estavam em uma fase de desaceleração do crescimento, mesmo os animais com fosfato de rocha, que ingeriram 1920 mg de flúor/dia, portanto, acima do limite proposto por Kühnert (1991), não apresentaram nenhum sinal de fluorose. Não foi possível concluir se isso deveu-se à pequena absorção do flúor ou ao curto período de ingestão (6 meses) deste. Snook (1962) suplementou bovinos com 113 g de fosfato de rocha, com um teor de flúor de 1,3 a 1,5 %, durante 4 anos, sem observar sinais de fluorose.

Os Experimentos 2 e 3 eram de longa duração e foram conduzidos com animais a campo. No Experimento 2 os bovinos receberam uma suplementação de fósforo entre 3,15 e 4,81 g por dia. As quantidades de fósforo ingeridas foram suficientes para impedir transtornos da mineralização óssea. Os exames histológicos e microrradiográficos das costelas resultaram numa mineralização completa do tecido ósseo. Segundo Kirchgessner (1985), as necessidades de fósforo de um bovino em crescimento são de 17 a 35 g por dia. Os animais deste experimento não mostraram sinais de deficiência de fósforo no esqueleto. A ingestão de flúor por estes animais era entre 23,74 e 276,8 mg por dia. A dose maior de flúor é relativa, uma vez que era oriunda do fosfato de rocha, que apresenta baixa disponibilidade de flúor. Essa dosagem de flúor é bem inferior à dada como tóxica por Kühnert (1991). Também um efeito aditivo devido ao longo tempo de ingestão não era de se esperar, pois Snook (1962), como acima mencionado, não observou sinais de fluorose após alimentação de bovinos com fosfato de rocha contendo 1,3 a 1,5 % de flúor, durante 4 anos. Assim que nos animais deste experimento, que permaneceram em experimentação durante 33 meses, não era de se esperar uma diferença estrutural e na mineralização das costelas entre o grupo que recebeu a menor e o grupo que recebeu a maior dosagem de flúor.

No Experimento 3 os bovinos foram mantidos a pasto durante 7 anos e, durante esse período, receberam suplemento mineral, cuja fonte de fósforo era o fosfato bicálcico ou o fosfato de Tapira. O exame histológico das costelas não revelou diferenças na mineralização óssea, indicando que a

dieta basal suplementada com as duas fontes de fósforo era suficiente para atender às necessidades dos animais.

A quantidade de flúor ingerida diariamente pelos bovinos do tratamento com fosfato bicálcico, variou de 26 a 54 mg/animal, durante o experimento. Portanto, não era de se esperar alterações ósseas decorrentes de fluorose. Os bovinos que receberam o fosfato de Tapira como suplemento de fósforo, ingeriram de 49 a 185 mg de flúor/animal/dia. Isso equivaleu a um consumo de 0,69 a 1,38 mg de flúor/kg de peso vivo por dia. Não houve alteração na estrutura e na mineralização do tecido ósseo desses animais. Desta forma, pode-se concluir que a suplementação com o fosfato de rocha de Tapira nas quantidades registradas e os manejos alimentares empregados nos presentes experimentos, não foram capazes de provocar sinais de fluorose óssea nos bovinos.

REFERÊNCIAS

- Blakemore F., Bosworth T.J. & Green H.H. 1948. Industrial fluorosis of farm animals in England, attributable to the manufacture of bricks, the calcining of ironstone, and to enamelling processes. *J. Comp. Pathol.* 58:267-301.
- Call J.W., Butcher J.E., Shupe J.L., Blake, J.T. & Olson A.E. 1986. Dietary phosphorus for beefcows. *Am. J. Vet. Res.* 47(2):475-81.
- Cohrs P. 1941. Zur pathologischen Anatomie und Pathogenese der chronischen Fluorvergiftung des Rindes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 49:352-357.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Langenegger J. & Dutra, I.S. 1992. Epizootic Botulism of cattle in Brazil. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 99:188-90.
- Durand M.R.E. 1974. Phosphorus deficiency in cattle. *Tech. Bull. n° 3, Queensland Department of Primary Industries, Australia.*
- Johnson L.C. 1965. Histogenesis and mechanisms in the development of osteofluorosis, p. 424-441. In: Simens J.H. (ed.) *Fluorine Chemistry. Vol.4. Academic Press, New York.*
- Kirchgessner M. 1985. Mineral- und Wirkstoffe, S. 133-186. In: Kirchgessner M. (ed.) *Tierernährung. 6. verb. Auflage. DLG-Verlag, Frankfurt.*
- Kühnert M. & Gaede W. 1991. Vergiftungen durch Nichtmetalle und ausgewählte Verbindungen, S. 258-294. In: Kühnert, M. (ed.) *Veterinärmedizinische Toxikologie. Gustav Fischer, Stuttgart.*
- McDowell L.R. 1976. *Beef Cattle Production in Developing Countries.* University of Edinburgh Press, Edinburgh, p.216.244.
- NRC (National Research Council) 1974. Subcommittee on Fluorosis. Effects of fluoride in animals. National Academy of Sciences, Washington, DC. 70 p.
- Obel A.-L. 1969. Hypo- und hypervitaminosen, S.404-439. In: Joest, E. (ed.) *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere. Band 3. 3. Auflage. Paul Parey, Berlin.*
- Pilati C., Dutra I.S., Behrens K., Döbereiner J. & Dämmrich K. 1996. Diagnóstico da deficiência de fósforo em bovinos pelos exames histológicos e microrradiográficos de costelas. *Pesq. Vet. Bras.* 16(1):27-33.
- Rand W.E. & Schmidt H.J. 1952. The effect upon cattle of Arizona waters of high fluoride content. *Am. J. Vet. Res.* 13:50-61.
- Romeis B. 1989. *Mikroskopische Technik. 17. Auflage. Urban Schwarzenberg, München, S.499-500.*
- Shupe J.L., Miner M.L., Harris L.E. & Greenwood D.A. 1962. Relative effects of feeding hay atmospheric contaminated by fluoride residue, normal hay plus calcium fluoride, and normal hay plus sodium fluoride to dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.* 23(95):777-787.
- Shupe J.L., Miner M.L., Greenwood D.A., Harris L.E. & Stoddard G.E. 1963. The effect of fluorine on dairy cattle. II. Clinical and pathological effects. *Am. J. Vet. Res.* 24:964-979
- Shupe J.L. & Alther E.W. 1966. The effects of fluorides on livestock, with particular reference to cattle, p. 307-354. In: Eichler O., Faran A., Herken H., Welch A.D. & Smith F.A. (eds) *Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 20, part 1. Springer, New York.*
- Shupe J.L. 1969. Levels of toxicity to animals provide sound basis for fluoride standards. In: A Symposium on the Technical Significance of Air Quality Standart. *Environ. Sci. Technol.* 3:721-724.
- Shupe J.L., Butcher J.E., Olson A.E., Call J.W. & Blake J.T. 1986. Bone changes associated with dietary phosphorus deficiency in cattle. *Proc. World Congress on Diseases of Cattle 2(2):829-832.*
- Snook L.C. 1962. Rock phosphate in stock feeds. The fluorine hazard. *Aust. Vet. J.* 38:42-47.
- Suttie J.W., Miller R.F. & Phillips P.H. 1957. Effects of dietary NaF on cows. II. Effects on milk production. *J. Dairy Sci.* 40:1485-1491.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Moraes S.S. 1988. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 8(1/2):1-16.
- Underwood E.J. 1981. *The mineral Nutrition of Livestock. 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, England.*
- Zipkin I.R., Likins R.C., McClure F.J. & Steere A.C. 1956. Urinary fluoride levels associated with the use of fluoridated waters. *Publ. Hlth Rep.* 71:767-772.
- Zipkin I.R., Eanes E.D. & Shupe J.L. 1964. Effect of prolonged exposure to fluoride on the ash, fluoride, citrate and crystallinity of bovine bone. *Am. J. Vet. Res.* 25:1591-1597.

EFEITO DO SISTEMA DE MANEJO SOBRE O COMPORTAMENTO EM PASTEJO, DESEMPENHO PONDERAL E INFESTAÇÃO PARASITÁRIA EM OVINOS SUFFOLK¹

Eduardo Antonio da Cunha², Luiz Eduardo dos Santos², Domingos Sanchez Roda², Cláudia Rodrigues Pozzi³, Ivani Pozar Otsuk⁴, Mauro Sartori Bueno² e Carlos Frederico de Carvalho Rodrigues³

ABSTRACT.- Cunha E.A., Santos L.E., Roda D.S., Pozzi C.R., Otsuk I.P., Bueno M.S. & Rodrigues C.F.C. 1997. [Effect of a management system on grazing behaviour, ponderal growth and parasitic infestation of Suffolk ewes.] Efeito do sistema de manejo sobre o comportamento em pastejo, desempenho ponderal e infestação parasitária em ovinos Suffolk. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):105-111. Seção de Ovinos e Caprinos, Instituto de Zootecnia, Caixa Postal 60, Nova Odessa, SP 13460-000, Brazil.

Grazing behaviour, ponderal growth and level of parasitic infestation were studied in Suffolk breed sheep, from 1994 to 1995, in Nova Odessa, São Paulo. Two management systems were compared: restricted grazing, where the animals were released to the pastures at 9:50 a.m. and confined at 5:30 p.m., and 24 hour grazing, where the animals were maintained all the time in the paddocks, but with access to shelters. Thirty-four adult ewes were used in the summer period (17 under restricted grazing and 17 full-time grazing), and 42 ewes in the winter period (21 with restricted grazing and 21 full-time grazing). Also, for both seasons, 12 tracer animals, six in each grazing system, were used to obtain worm counts from their digestive tracts. For three consecutive days, grazing behaviour, that is, whether grazing or not, was observed in January/February (summer) and July/August (winter) at 30 minute intervals from 7:00 a.m. to 5:30 p.m., also whether the animals stayed in the sun or shade, irrespective of whether they were grazing or not. The level of parasitic infestation was evaluated under each system by eggs per gram countings (EPG) of the herd and the tracer animals, as well as by larvae count. It was concluded that restriction of grazing time by itself does not provide any effective control of parasitic infestation in sheep, however a better control was obtained in the summer period. Restricted grazing time was compensated by the greater activity of the animals during the hotter hours of the day, however, this behaviour affected the animal performance, resulting in lower weight gains. Greater forage availability in relation to estimated consumption may explain the similarity between the grazing times observed in both management systems, either in the summer or in the winter.

INDEX TERMS: Sheep, Suffolk, grazing behaviour, management, parasitic infestation.

SINOPSE.- Foi estudado o comportamento em pastejo, o desempenho ponderal e o nível de infestação parasitária em ovelhas da raça Suffolk, no período de 1994 a 1995, em Nova

Odessa, SP. Comparou-se dois sistemas de manejo: pastejo restrito, onde os animais foram soltos às 9:50h e presos às 17:30h e pastejo em período integral, no qual os animais não eram recolhidos, tendo a disposição abrigo para passarem a noite. Foram utilizadas 34 fêmeas adultas no verão (17 em pastejo livre e 17 em pastejo restrito) e 42 fêmeas adultas no inverno (21 em pastejo livre e 21 em pastejo restrito). Trabalhou-se ainda com 12 animais traçadores em cada estação do ano, sendo metade em cada sistema de manejo visando a contagem de nematódeos no trato digestivo dos animais. Durante 3 dias consecutivos nos meses de janeiro/fevereiro (verão) e julho/agosto (inverno) estudou-se, através da observação dos animais, a cada 30 minutos entre as 7:00 e 17:30h, o

¹ Aceito para publicação em 23 de maio de 1997.

Projeto IZ-14-006/93, financiado pela FAPESP (94/ 2854-4).

² Seção de Ovinos e Caprinos, Divisão de Zootecnia Diversificada, Instituto de Zootecnia (IZ), Caixa Postal 60, Nova Odessa, SP 13460-000.

³ Seção de Higiene Zootécnica e Análises, Divisão de Técnica Básica e Auxiliar, IZ, Nova Odessa, São Paulo.

⁴ Seção de Estatística e Técnica Experimental, Divisão de Técnica Básica e Auxiliar, IZ, Nova Odessa, São Paulo.

hábito de pastejo (pastando ou não; na sombra ou no sol). Acompanhou-se o nível de infestação parasitária dos animais em cada sistema, pela contagem do OPG do rebanho e dos traçadores e nematódeos recuperados nos traçadores. Concluiu-se que a restrição do horário de pastejo isoladamente não propiciou um controle efetivo da infestação parasitária nos animais mostrando. A restrição do tempo de pastejo é compensada pela maior atividade dos animais nas horas mais quentes do dia, todavia este comportamento afetou o desempenho, resultando em menor ganho de peso. A maior disponibilidade de forragem, em relação ao consumo estimado, pode explicar a similaridade entre os tempos de pastejo verificados nos dois sistemas de manejo, tanto no verão como no inverno.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ovinos, Suffolk, hábito de pastejo, sistema de manejo, infestação parasitária.

INTRODUÇÃO

A espécie ovina caracteriza-se pela extrema capacidade de adaptação às mais diversas condições de ambiente, verificando-se a sua ocorrência em quase todas as regiões do mundo. Isso decorre da facilidade do ovino em se adaptar às mais diferentes dietas, associada à sua acentuada capacidade de aclimação.

Como forma de aumentar a eficiência no controle termoregulador, o ovino procura adaptar-se às condições ambientais alterando seus hábitos de pastejo (Buono & Ruckebusch 1979, Bourbouze 1981, Berggren-Thommas & Hohenboken 1986), sendo que a duração da atividade, bem como a distribuição e a intensidade de pastejo variam com a estação do ano, manejo, condições climáticas e também com a disponibilidade de forragem.

Schwartz & Said (1981), Bourbouze (1981), Rios & Riley (1985) enfatizam o efeito da disponibilidade de forragem na determinação da frequência e intensidade de pastejo durante o dia e, por conseguinte, no desempenho animal. Por outro lado, as condições ambientais, tais como umidade relativa do ar, incidência de radiação solar e temperatura, podem afetar, não só o comportamento dos animais, como também o de alguns parasitas durante a sua fase livre nas pastagens (Hafez, 1973).

Banks et al. (1990) citam que em regiões tropicais, sob condições de criação intensiva, a ocorrência maciça de endoparasitas obriga o controle da infestação através do uso de anti-helmínticos a cada 3-4 semanas. Cita ainda que apesar do parasitismo gastrointestinal ser uma das mais sérias limitações à produção de ovinos e caprinos, verifica-se uma grande escassez de informações relativas à ecologia e comportamento das formas livres de endoparasitas de pequenos ruminantes nos trópicos.

No caso de helmintos que parasitam o sistema digestivo de ovinos, as larvas eclodidas de ovos depositados na pastagem tem maior sobrevivência quando a mesma apresenta suficiente cobertura vegetal de forma a manter elevado teor de umidade ambiente e proteção contra radiação solar intensa. Isto diminui a mortalidade de formas larvais livres que

contaminam a forragem, conforme comentado por Gordon (1953). Essa migração, das fezes para a forragem, pelas larvas infectantes que sobreviveram às condições inadequadas de ambiente (seco e alta radiação), que aumenta quando as condições ambientais melhoram, principalmente em função do maior teor de umidade no período de chuvas, também é comentada por Barger et al. (1994) e por Reinecke (1994).

Dessa maneira a restrição da atividade de pastejo nos horários iniciais da manhã, quando o teor da umidade ambiente no estrato superior da pastagem é elevado e a entrada dos animais em horários em que esse estrato apresente baixa umidade, poderia resultar na diminuição da infestação por endoparasitas, em função de uma menor ocorrência de larvas infestantes, conforme observado por Roda et al. (1995) em caprinos.

Vários autores (Herd et al. 1984, Sanyal 1993, Barger et al. 1994, Reinecke 1994), citam a importância do uso integrado de práticas de manejo de pastagens associadas ao uso profilático dos anti-helmínticos para que se obtenha sucesso na produção intensiva de ovinos a pasto. Reinecke (1994) cita ainda que outras alternativas devem ser estudadas, visto que a infestação de ovinos por parasitas gastrintestinais pode ser fator determinante da inviabilidade da criação intensiva a pasto de ovinos para abate.

O objetivo deste trabalho foi verificar, em ovinos da raça Suffolk, o efeito de dois sistemas de manejo (pastejo em período integral ou restrito), em duas épocas do ano (verão ou inverno), sobre o hábito de pastejo e desempenho ponderal, bem como no nível de infestação parasitária dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi estudado o comportamento em pastejo, o desempenho ponderal e o nível de infestação parasitária em ovelhas da raça Suffolk. O experimento foi conduzido no período de 1994 a 1995, na Unidade de Ovinos da Seção de Ovinos e Caprinos na Sede do Instituto de Zootecnia, localizada em Nova Odessa, SP, 22° 42' latitude Sul e 47° 18' longitude Oeste, com tipo climático Cwa (Koppen) (Santos et al. 1977).

Comparou-se dois sistemas de manejo: pastejo restrito, onde os animais foram soltos às 9:50h e presos às 17:30h e pastejo em período integral, no qual os animais não eram recolhidos, tendo a disposição abrigo para passarem a noite.

Foram utilizadas 34 fêmeas adultas no verão (17 em pastejo livre e 17 em pastejo restrito) e 42 fêmeas adultas no inverno (21 em pastejo livre e 21 em pastejo restrito). Trabalhou-se ainda com 24 traçadores, 12 no verão e 12 no inverno, sempre em grupo de quatro, substituídos à cada período de 21 dias, dois acompanhando o lote em pastejo livre e dois acompanhando o lote em pastejo restrito. Os animais utilizados foram selecionados do plantel do Instituto de Zootecnia, formando um lote uniforme quanto ao peso vivo, idade e estado fisiológico.

Durante 3 dias consecutivos nos meses de janeiro/fevereiro (verão) e julho/agosto (inverno) estudou-se, através da observação dos animais, à cada 30 minutos entre às 7:00 e 17:30h, o hábito de pastejo, isto é, o comportamento em relação a estarem pastando ou não, bem como em relação a estarem na sombra ou no sol, independentemente do fato de estarem em atividade de pastejo ou não. Para esse estudo considerou-se que a atitude anotada a cada momento de observação foi mantida durante a meia hora seguinte.

Através da estimativa do percentual de animais em atividade de pastejo, chegou-se ao percentual médio de animais nesta atividade durante todo o período estudado, possibilitando a estimativa do tempo médio de pastejo, em minutos, multiplicando-se o percentual médio de pastejo pelo período total estudado (630 minutos).

Em cada estação do ano (verão e inverno) os animais foram mantidos, por um período prévio de 15 dias nas condições experimentais, para adaptação, antes de se iniciarem as observações sobre o comportamento.

Os animais foram mantidos em uma mesma área de pastagem, cultivada com *Panicum maximum*, Jack cv Aruana, subdivididas em 5 piquetes de 4.000 m², manejados em sistema de rotação, com período médio de 7 dias de ocupação e 35 a 42 dias de repouso, com uma lotação de 34 ovelhas e quatro traçadores no verão e 42 ovelhas e quatro traçadores no inverno, mantendo-se uma lotação média de 19 a 23 cabeças/ha. Sessenta dias antes de cada período de coleta foi efetuado o corte mecânico para igualação da forragem, permanecendo o pasto vedado aos animais até o início do período de observação. Durante todo o período de coleta de dados os animais tiveram livre acesso a água e a cocho com sal mineral.

O nível de infestação parasitária foi estimado com base na contagem de OPG das ovelhas e no número de helmintos nos animais traçadores. Estes eram dois cordeiros com 5 a 6 meses de idade, criados livres de infestação parasitária e introduzidos no plantel durante 21 dias, nas mesmas condições dos lotes experimentais (pastejo livre e restrito). Após este período esses animais foram retirados dos lotes, sendo substituídos por outros traçadores, permanecendo por 7 dias isolados em baias, quando foram abatidos. Nas necropsias, após a separação das vísceras das carcaças, o abomaso, intestino delgado e intestino grosso eram duplamente atados, nas suas extremidades, para evitar a contaminação entre os órgãos. Posteriormente eram separados, abertos e lavados em baldes com capacidade de 2 litros. Uma alíquota de 10% era retirada a cada conteúdo e colocada em frasco com formol a 40% para identificação e contagem dos parasitas recuperados.

Previamente a cada período de coleta de dados (janeiro e julho), todos os animais, inclusive os traçadores, receberam tratamento antihelmíntico, de forma a se obter dois resultados consecutivos de valor zero para o OPG, sendo posteriormente coletadas amostras de fezes a cada 14 dias para determinação do número de ovos por grama de fezes (OPG), pela técnica de Gordon e Whitlock modificada (Ueno & Gonçalves 1988).

A avaliação da quantidade de forragem disponível e consumida foi feita, dentro de cada estação do ano, através de amostragem realizada no dia anterior à entrada dos animais no piquete e posteriormente na saída, para avaliação da quantidade da forragem disponível e da remanescente, coletando-se toda a forragem não consumida, até a altura de cinco centímetros. Para coleta das amostras utilizou-se um quadrado de ferro com 0,5 m de lado, sendo feita a pesagem e posterior secagem para determinação do teor de matéria seca a 65°C, visando estimar a disponibilidade de forragem.

Paralelamente, visando monitorar a qualidade da forragem disponível, foram feitas amostragens, no dia anterior a entrada dos animais, analisando-se o teor de Fibra e Proteína Bruta.

O consumo das ovelhas foi estimado com base na diferença entre a disponibilidade de forragem na entrada dos animais nos piquetes e a forragem remanescente por ocasião da saída.

No verão os animais foram pesados no início do período de observação e a seguir a cada 14 dias, visando verificar o efeito do sistema de manejo na variação do peso vivo dos animais de cada lote. No inverno não foi feito esse acompanhamento, visto que o plantel, metade em cada grupo, estava em gestação, impedindo a utilização dos dados de variação ponderal.

O trabalho foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2x2), considerando-se os tipos de manejo (livre ou restrito) e o período do ano (verão ou inverno).

Para a análise dos dados de comportamento em pastejo foi feita a transformação para arco seno, enquanto que os dados de número de helmintos nos traçadores e de OPG de traçadores e das ovelhas receberam transformação log (x + 0,5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Hábito de pastejo

O comportamento em pastejo das ovelhas pode ser visto nas Figuras 1 e 2, onde se observa o percentual de animais em atividade de pastejo durante o período estudado.

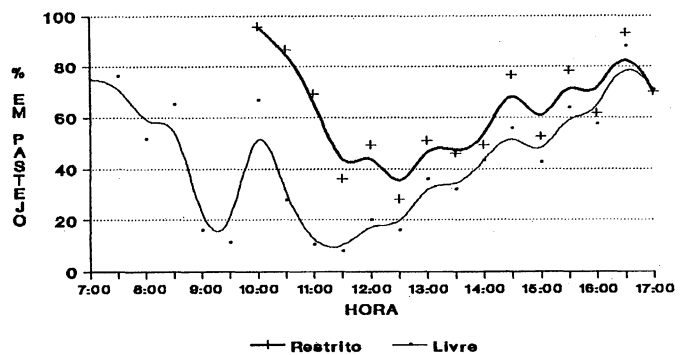


Fig. 1. Percentagem de pastejo no verão.

No verão os animais em pastejo livre tenderam a pastar já no início do dia, com a maior parte deles já em franca atividade logo às 7:00h, mostrando que o início de pastejo ocorre, provavelmente, antes desse horário. O percentual de animais em pastejo diminui progressivamente já a partir das 7:00h até às 9:30h. Ocorreu um pico de pastejo ao redor das

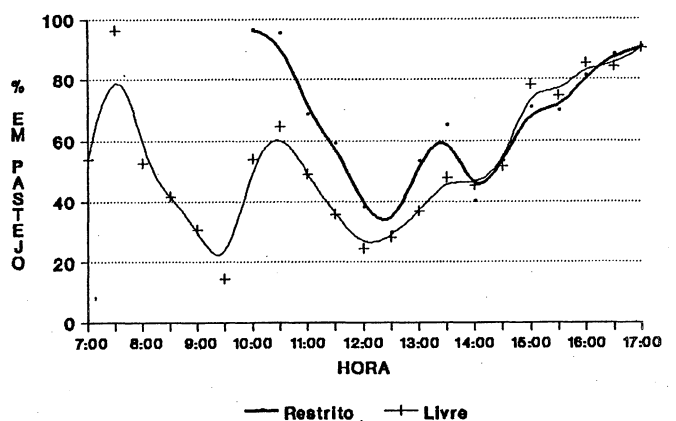


Fig. 2. Percentagem de pastejo no inverno.

10:00h mas somente a partir das 14:30h os animais retornaram, em sua maioria, ao pastejo.

Os animais em pastejo restrito, ao saírem das baias iniciam de imediato o pastejo, diminuindo progressivamente o percentual de animais em atividade até às 11:30h, à semelhança do lote em pastejo livre. Após às 13:00h houve um aumento progressivo no percentual de animais em pastejo até o final da tarde. Pode-se observar que o percentual de animais em pastejo foi maior no lote em pastejo restrito do que no livre, no qual a maioria dos animais reiniciou o pastejo somente uma hora e meia após.

No inverno o lote livre apresentou percentual inicial de animais em pastejo menor que no verão, sendo observado um aumento na frequência até as 9:30h. Entre 10:00 e 11:00h verificou-se que a maioria dos animais encontrava-se novamente em atividade de pastejo, frequência esta que diminuiu nas horas mais quentes do dia, elevando-se somente a partir de 13:30h. O lote em pastejo restrito apresentou comportamento distinto daquele observado no verão, o que indica que a limitação no tempo de pastejo, determinada pelo sistema restrito, forçou os animais deste lote a manterem a atividade de busca e apreensão de alimento de forma mais intensa que os do sistema livre, mesmo nos horários mais críticos, entre 11:00 e 14:00h, quando as condições de umidade e temperatura seriam teoricamente menos favoráveis.

Estas variações no comportamento dos animais nos diferentes momentos de observação ao longo do dia, também são citadas por Berggren-Thommas & Hohenboken (1986), que verificaram comportamento semelhante aos deste estudo, com uma maior porcentagem de animais em atividade de pastejo pela manhã e à tarde e pouca atividade entre 11:00 e 14:00h.

Também Bourbouze (1981), Schwartz & Said (1981), Rios & Riley (1985), citam que o comportamento dos ovinos em pastejo está ligado às condições climáticas do ambiente, todavia, afirmam que além destes, outros fatores tais como lotação, raça e disponibilidade hídrica podem afetar a distribuição e intensidade do pastejo durante o dia.

Neste trabalho verificou-se que os momentos de menor percentual de animais em pastejo, tanto no verão como no

inverno, não coincidem exatamente com aqueles de maior temperatura ambiente, todavia, percebe-se uma clara tendência à diminuição no percentual de animais em pastejo à medida em que a temperatura ambiente aumenta. Pode-se ainda observar um aumento acentuado de animais que procuram a sombra após às 8:30h, todavia, a maior frequência de animais à sombra, em atividade de pastejo ou não, ocorreu entre 11:00 e 14:30h, no verão, e entre 11:30 e 15:30h no inverno, enquanto que a temperatura ambiente atingiu valores mais altos entre 13:00 e 16:00h, tanto no verão como no inverno.

O fato do comportamento dos animais, em termos da atividade de pastejo e mesmo de procura ou não por sombra, ter sido afetado, mesmo que parcialmente, pelas condições de temperatura e umidade ambiente, indica que esses fatores devem ser considerados quando da definição do manejo, bem como na previsão de áreas de sombra nas pastagens.

Por outro lado esta parcialidade da influência da temperatura e umidade sobre a distribuição da atividade de pastejo pode ser explicada pelo fato de que as condições ambientais não ultrapassaram os limites de conforto térmico dos ovinos, citados por Barbosa & Silva (1995), inclusive nos horários de maior temperatura, oferecendo condições suficientes para que os animais que pastejaram nos horários mais quentes conseguissem manter a termorregulação.

O tempo de pastejo variou de 278 minutos, no lote em pastejo livre no verão, a 341 minutos no lote em pastejo livre no inverno, verificando-se valores intermediários para os animais em pastejo restrito, todavia, apesar da maior disponibilidade de tempo para pastejo no sistema livre, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) no valor médio da frequência de animais em pastejo em função do sistema adotado, conforme se observa no Quadro 1.

Bueno & Ruckebuch (1979) observaram que a época do ano influiu no período de pastejo, porém foi no verão que os animais tiveram maior tempo dedicado a atividade de pastejo. Comportamento similar foi observado em caprinos, na região sul do Estado de São Paulo, por Roda et al. (1992). Todavia, conforme estes últimos autores, quando em regiões mais quentes esta espécie apresentou tempos de atividade em pastejo maiores no inverno do que no verão, à semelhança do verificado neste trabalho, com valores da ordem de 465 e 416 minutos, respectivamente no inverno e no verão, para um período total de observação de 600 minutos, valores esses superiores aos observados com os ovinos.

Também Berggren-Thommas & Hohenboken (1986) verificaram tempo total de pastejo superior aos deste trabalho, citando valor da ordem de 553 minutos. Esses dados todavia, foram obtidos em condições de menor disponibilidade de forragem que aquela verificada neste trabalho.

Disponibilidade de forragem

No Quadro 2 é apresentada a disponibilidade e o consumo estimado de forragem, conforme a época do ano.

Verificou-se que, pela quantidade de forragem disponível, tanto no verão como no inverno, em comparação com a estimativa de consumo, sempre houve sobra de forragem

Quadro 1. Valores médios da frequência (%) de animais em atividade e tempo médio de pastejo (minutos), em itálico, no período de verão e inverno para os lotes em pastejo restrito e livre

Sistema de Pastejo	Período		Média
	Verão	Inverno	
Restrito	44,9 (0,06) ^a <i>283 min.</i>	47,4 (0,06) ^a <i>299 min.</i>	291 min.
Livre	44,2 (0,06) ^a <i>278 min.</i>	54,1 (0,07) ^a <i>341 min.</i>	309 min.
Média	<i>280 min.</i>	<i>320 min.</i>	

^aMédias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses são médias transformadas para Arco seno V ($x + 0,5$)/100.

Quadro 2. Valores médios da disponibilidade e do consumo estimado da forragem, no período de verão e inverno

Forragem (em kg de MS/ha)	Período	
	Verão	Inverno
Disponível	5.256	3.795
Consumida	2.116	1.965

sendo, portanto, suficiente para o atendimento das necessidades dos animais, visto que, o teor médio de Proteína Bruta nunca foi inferior a 10%, seja no verão, seja no inverno. Desta maneira, pode-se concluir que esta variável não deve ter sido a de maior influência na determinação do comportamento dos animais em pastejo, mas pode ter sido responsável pela tendência de dispêndio de maior tempo em pastejo no inverno em função da seleção de alimento pelos animais.

Schwartz & Said (1981) observaram maior deslocamento dos animais pela pastagem devido a menor disponibilidade de forragem, o que resultou na diminuição no período total de atividades relacionadas a ingestão de alimentos. Comportamento similar dos animais foi observado por Bourbouze (1981), que cita que a diminuição da disponibilidade de forragem tende a levar a uma diminuição no tempo total dispendido em alimentação e um aumento na velocidade de pastejo, determinando a diminuição na intensidade de seleção do alimento a ser ingerido. Já Rios & Riley (1985), ao contrário, observaram uma tendência a aumento no tempo total da atividade de pastejo à medida em que houve diminuição na disponibilidade total de forragem.

Variação ponderal

Os animais em pastejo livre apresentaram ganho médio de peso vivo no período de 3,55 kg, enquanto os animais em pastejo restrito tiveram ganho médio de 0,49 kg ($P < 0,05$), embora tenham permanecido em atividade de pastejo por períodos equivalentes. Isto, provavelmente, foi devido a maior possibilidade de seleção de alimento pelos animais do lote em pastejo livre, visto o maior tempo disponível para escolha dos melhores horários e locais da pastagem para esta atividade, o que provavelmente garantiu a ingestão de uma dieta de maior valor nutritivo. Também o maior desgaste dos animais em pastejo restrito, que apresentaram maior nível de atividade nos horários de temperatura ambiente mais elevada, portanto, menos adequados ao pastejo, pode ter determinado este resultado. Desta maneira, a restrição do horário de pastejo deveria ser compensada com a suplementação alimentar, com volumosos, aos animais.

Infestação parasitária

Nas Figuras 3 e 4 observa-se o número médio de parasitas recuperados nos traçadores, no verão e no inverno, conforme a espécie. Para as duas épocas do ano (verão e inverno), o nível de infestação parasitária total em função do sistema de manejo não diferiu ($P > 0,05$) nos animais de pastejo restrito ou livre. Verificou-se, porém, uma predominância de ocorrência de parasitas do gênero *Trichostrongylus* no verão, en-

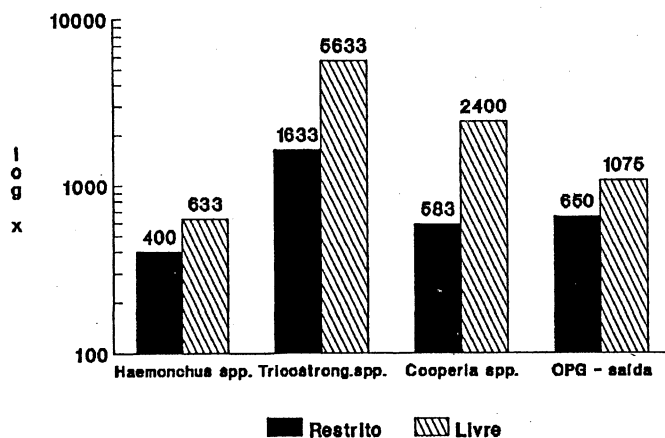


Fig. 3. Média de parasitas recuperados em ovinos traçadores no verão.

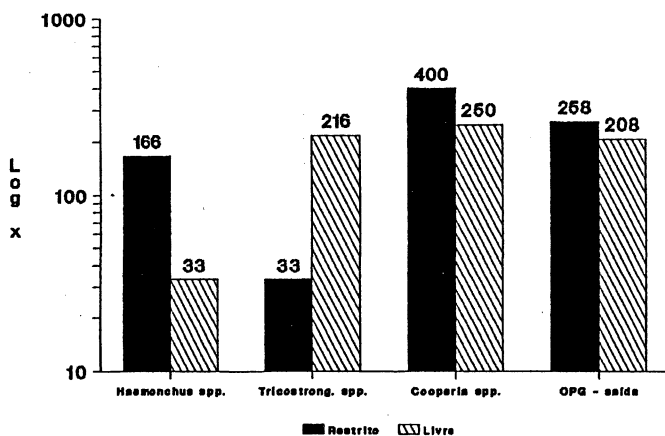


Fig. 4. Média de parasitas recuperados em ovinos traçadores no inverno.

quanto que no inverno há predominância do gênero *Cooperia*. O gênero *Haemonchus* também esteve presente nos animais dos dois sistemas e nas duas épocas do ano, mas sempre em menor número que as outras duas espécies.

Mitchell & Fizesimonzs (1983), trabalhando com manejo alternativo no controle de infestação parasitária, observaram predominância de *Ostertagia*, no inverno, em regiões de clima subtropical, enquanto que Kumar & Joshi (1992) observaram, em condições de clima tropical, maior ocorrência de *Haemonchus* e *Trichostrongylus*.

Pandey et al. (1994) verificaram que o maior nível de infestação por parasitas gastrintestinais ocorre no final do período das chuvas, tendo sido observada a ocorrência de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis* e *Oesophagostomum columbianum* em maior quantidade, enquanto que *Strongyloides papillosus*, *Bunostomum* spp. e *Trichuris* spp. apareceram com menor frequência.

Na Figura 5 observa-se o número total de parasitas adultos recuperados do trato digestivo e os valores de OPG dos animais traçadores. A análise estatística não mostrou diferenças ($P > 0,05$), em função de época ou sistema.

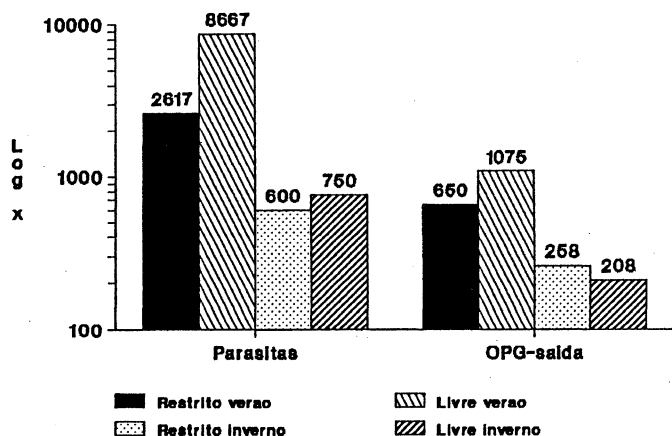


Fig. 5. Média de parasitas recuperados em ovinos traçadores e OPG (ovos por grama de fezes) médio do rebanho.

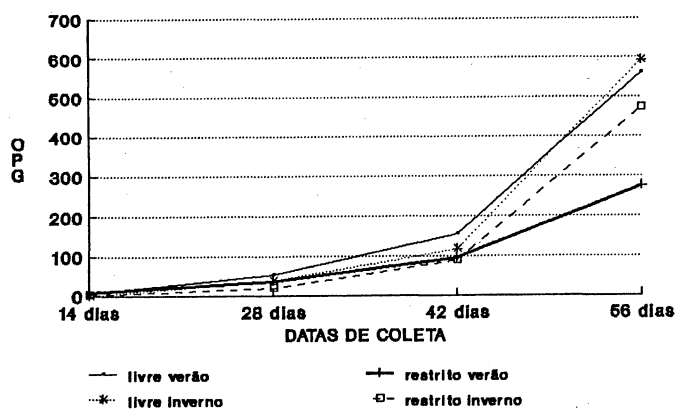


Fig. 6. OPG (ovos por grama de fezes) médio do rebanho, nas duas estações, conforme o tratamento.

A análise dos dados de OPG dos animais do rebanho, tomados a cada 14 dias (Fig. 6), mostrou que, no verão, aqueles em pastejo restrito apresentam um curva de reinfestação helmíntica menos ascendente que os de pastejo livre, a partir do quadragésimo segundo dia após o tratamento anti-helmíntico, todavia não foi detectada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. No inverno o valor de OPG foi semelhante em todas as épocas de coleta.

Apesar de não se ter detectado diferenças ($P > 0,05$) para as variáveis indicadoras do nível de infestação parasitária (número total de parasitas recuperados, OPG de traçadores e OPG de animais do rebanho), em função de épocas do ano e mesmo de sistema de criação, observando-se a Figura 6, verificou-se uma tendência a um maior nível de infestação no sistema de pastejo livre em relação ao restrito, no verão, com relação à última data de amostragem, confirmando a expectativa de uma menor velocidade de reinfestação nos animais em pastejo restrito.

Desta maneira a restrição do pastejo nos horários de maior teor de umidade no pasto, apesar de não propiciar isoladamente um controle efetivo, pode ser adotada como prática complementar, ao uso de anti-helmínticos, no controle da

infestação por helmintos em ovinos. Estes resultados estão em concordância com Sanyal (1993), que, trabalhando na Índia com ovinos da raça Merino, em junho e janeiro, em sistema de manejo de pastagem com monitoramento regular de níveis de larvas nas pastagens, verificou que esse procedimento, em combinação com o uso de medicação anti-helmíntica e rotação de pastagem, foi positivo em termos de controle do nível de infestação parasitária e desempenho animal.

Esses resultados coincidem ainda com as colocações de Herd et al. (1984), Banks et al. (1990), Reinecke (1994) e ainda com Roda et al. (1995) com caprinos, obtiveram resultados positivos no controle da infestação helmíntica com a associação de rotação de pastagens e restrição do horário de pastejo, possibilitando a diminuição na frequência de uso de medicamentos anti-helmínticos.

CONCLUSÕES

1. A restrição de pastejo foi compensada, em termos de tempo, pela maior atividade dos animais nas horas mais quentes do dia; todavia esse comportamento compromete o desempenho, resultando em menor ganho de peso.

2. A maior disponibilidade de forragem, em relação ao consumo estimado, pode explicar a similaridade entre os tempos de pastejo verificados nos dois sistemas de manejo, no período de tempo observado, tanto no verão como no inverno.

3. A restrição do horário de pastejo, isoladamente, não propicia controle efetivo da infestação parasitária em ovinos.

REFERÊNCIAS

- Banks D.J.D., Singh R., Barger J.A., Pratap B. & Le Jambre L.F. 1990. Development and survival of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* on pasture in a tropical environment. *Int. J. Parasitology* 20(2):155-160.
- Barbosa O.R. & Silva R.G. 1995. Índice de conforto térmico para ovinos. *Bolm Industr. Anim., Nova Odessa*, 52(1):29-36.
- Barger I.A., Siale K., Banks D.J.D. & Le Jambre L.F. 1994. Rotational grazing for control of gastrointestinal nematodes of goats in a wet tropical environment. *Vet. Parasitology* 53:109-116.
- Berggren-Thommas B. & Hohenboken W.D. 1986. The effects of sire-breed, forage availability and weather on the grazing behaviour of crossbreed ewes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 15 : 217-228.
- Bourbouze A. 1981. Utilization de parcos dans différents systemes de production. In: *Congrées de Tours. Nutrition et Systemes D'alimentation de la Chevre*. Tours. 429p.
- Bueno L. & Ruckebuch Y. 1979. Ingestive behaviour in sheep under field conditions. *Appl. Anim. Ethol.* 5 : 179-187.
- Gordón H.Mcl. 1953. The epidemiology of helminthosis in sheep in winter-reinfall regions of Australia. 1- Preliminary observations. *Aust. Vet. J.* 29: 337-348.
- Hafez E.S.E. 1973. Adaptación de los animales domesticos. Trad. por R. Palazon, A.M. Palazon y J. Palenzuela. Labor, Barcelona. 563 p.
- Herd R.P., Parker C.F. & McClure K.E. 1984. Epidemiologic approach to the control of sheep nematodes. *J. Am.Vet. Med. Assoc.* 184(6): 680-687.
- Kumar A. & Joshi B.P. 1992. Anthelmintic efficacy of ivermectin against naturally occurring gastrointestinal nematodes of sheep. *Indian Vet. J.* 69:935-937.

- Mitchell G.B.B. & Fizeimonz J. 1983. Control of ovine gastrointestinal helminthiasis by the use of 'clean' grazing and strategic dosing in the field. *Res. Vet. Sci.* 35 (1): 100-105.
- Pandey V.S., Ndao M. & Kumar V. 1994. Seasonal prevalence of gastrointestinal nematodes in communal land goats from the highveld of Zimbabwe. *Vet. Parasitology* 51:241-248.
- Reinecke R.K. 1994. Parasitic control in intensive x non-intensive systems - ruminants. *Vet. Parasitology* 54: 49-67.
- Rios G. & Riley J.A. 1985. Estudios preliminares sobre la produccion caprina com dietas a base de ramoneio em monte bajo em la zona herequera de Yucatan. I. Seleccion y valor nutritivo de plantas nativas. *Prod. Anim. Trop., Santo Domingo*, 10 (1): 1-11.
- Roda D.S., Santos L.E., Consiglierio R.F., Pinheiro M.G., Silva D.J. & Feitoza A.S.L. 1992. Influência do local e estação do ano sobre o comportamento de cabritos a pasto. *Bolm Industr. Anim., Nova Odessa*, 49(1): 35-48.
- Roda D.S., Santos L.E., Cunha E.A., Otsuk I.P. & Pozzi C.R. 1995. Comportamento e infestação parasitária de caprinos submetidos a diferentes sistemas de pastejo. *Bolm Industr. Anim., Nova Odessa*, 52(2):139-146.
- Santos L.E., Castilho E.A. & Destro S.R. 1977. Parâmetros termopluviométricos da região de Nova Odessa, SP, no período de 1967 a 1976. *Zootec., Nova Odessa*, 15 : 57-65.
- Sanyal P.K. 1993. Studies on monitoring of control strategy against ovine parasitic gastroenteritis in subtemperature Tamil Nadu. *Indian Vet. Med. J.* 15 (4): 261-65. (*Vet. Bull Abstr.* 3946).
- Schwartz H.S. & Said A.N. 1981. Dietary preference of goats and nutritive value of forage on semi-arid pasture in Northern Kenya. *Nutrition et Systemes d'Alimentation de la chevre. Symposium International, Tours*, p.515-524
- Ueno H. & Gonçalves P.C. 1988. Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes. Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre. 166p.

ANEMIA HEMOLÍTICA CAUSADA POR *Ditaxis desertorum* (Euphorbiaceae) EM BOVINOS¹

Carlos Hubinger Tokarnia², Bionô Roque das Chagas³, Adenisar Delgado das Chagas⁴ e Heloisa Kreling da Silva⁵

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Chagas B.R., Chagas A.D. & Silva H.K. 1997. [Hemolytic anemia caused by *Ditaxis desertorum* (Euphorbiaceae) in cattle.] Anemia hemolítica causada por *Ditaxis desertorum* (Euphorbiaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):112-116. Projeto Saúde Animal-Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

Ditaxis desertorum Pax et K. Hoffm., a herbaceous plant of the Euphorbiaceae family, caused hemoglobinuria due to its hemolytic properties, when force-fed fresh to bovines in daily doses of 1.0 to 2.5 g/kg; the hemoglobinuria appeared from the 4th to 8th day of the experiment. After a period of 3 to 5 days of severe hemoglobinuria and anemia, these symptoms disappeared in three of the four animals, although they continued to receive the plant. There was a rapid return to normal blood composition after cessation of the hemoglobinuria. The fourth bovine, which received 2.5 g/kg/day, over 5 days, had severe hemoglobinuria and anemia during the last 4 days of life and died on the 8th day. Post-mortem and histopathological examinations revealed hemoglobinuric nephrosis and liver distrophy with centrolobular necrosis of the parenchyma. A single dose of 7.7 g/kg or doses of 2.5 and 3 g/kg/day given during 2 days, caused colics and death within a few hours in the three other bovines; post-mortem examinations revealed congestion and oedema of the wall of rumen and reticulum. Case histories indicate that under natural conditions of ingestion only the hemolytic anemia occurs. Although palatable, the ingestion of *D. desertorum* in sufficient amounts to cause colics and lesions of the forestomachs is probably limited by its caustic properties.

INDEX TERMS: Poisonous plants, plant poisoning, *Ditaxis desertorum*, Euphorbiaceae, cattle, pathology, hemolytic anemia.

SINOPSE.- *Ditaxis desertorum* Pax et K. Hoffm., planta herbácea da família Euphorbiaceae, causou experimentalmente em bovinos um quadro caracterizado por hemoglobinúria em virtude de sua ação hemolítica, quando administrada por via oral em doses diárias de 1,0 a 2,5 g/kg (planta fresca), a partir do 4º ao 8º dia do experimento. Após um período de 3 a 5 dias em que os animais tiveram hemoglobinúria e anemia acentuadas, apesar de continuarem a receber a planta (du-

rante um total de 12 a 14 dias), em três dos quatro animais esses sintomas desapareceram. Verificou-se nesses casos uma rápida recuperação dos valores hemáticos logo que cessou a hemoglobinúria. O quarto bovino, que recebeu 2,5 g/kg/dia durante 5 dias, morreu no 8º dia, tendo apresentado durante os últimos 4 dias de vida hemoglobinúria e anemia acentuadas. À necropsia e nos exames histopatológicos deste animal foram verificadas nefrose hemoglobinúrica e distrofia hepática com necrose centrolobular do parênquima. Dose de 7,7 g/kg única ou quantidades de 2,5 e 3 g/kg/dia administradas durante 2 dias seguidos, causaram em três outros bovinos quadro clínico de cólica, com morte em questão de horas, verificando-se à necropsia acentuado edema da parede do rúmen e do retículo. Pelos históricos obtidos somente ocorre, sob condições naturais, a intoxicação caracterizada pelo quadro da anemia hemolítica, indicando que possivelmente a ingestão de *D. desertorum* em quantidades necessárias para

¹ Aceito para publicação em 27 de junho de 1997.

² Depto Nutrição Animal e Pastagem, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

³ Médico-Veterinário, Casa Mutirão, Wanderley, Bahia 47940-000.

⁴ Médico-Veterinário da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Wanderley, BA.

⁵ Depto Medicina e Cirurgia, UFRRJ.

causar o quadro com lesões dos proventrículos ser, apesar de sua boa palatabilidade, autolimitada pelo efeito cáustico da planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação por planta, *Ditaxis desertorum*, Euphorbiaceae, bovinos, patologia, anemia hemolítica.

INTRODUÇÃO

Em dezembro de 1995, por ocasião de estudos sobre doenças de etiologia obscura possivelmente causadas por plantas tóxicas, na região Oeste do Estado da Bahia, obtivemos no município de Wanderley, na Fazenda Santa Rita, histórico de doença de evolução subaguda em bovinos, em que a urina ficaria com "cor de sangue", e observada de uns 10 anos para cá. Esta doença só ocorreria em determinadas roças onde cresce uma planta herbácea muito pastada pelo gado e da qual o proprietário suspeitava. Trata-se de planta invasora. O gado se intoxica nas palhadas após a colheita do milho, de maio em diante. A planta continua verde na época da seca. Com 8 dias de permanência nestas roças, já apareceriam os primeiros sintomas da doença. Tirando os animais destas roças no começo da doença, estes se recuperariam logo.

Encontramos grande quantidade da planta apontada pelo proprietário, pastada, e que foi identificada pela Dra. Graziela Maciel Barroso, como *Ditaxis desertorum* Pax et K. Hoffm., planta da família Euphorbiaceae (Fig. 1 e 2).

Fomos informados que pelo cultivo sucessivo de milho, devido a aração e gradeação, em poucos anos a planta vai desaparecendo. A planta ocorre também na mata, mas em pequena quantidade.

Não encontramos na literatura dados sobre a toxidez de *D. desertorum*. Consequentemente a planta foi submetida a experimentação em bovinos para se verificar a sua toxidez, determinar as doses tóxicas e o quadro clínico-patológico da intoxicação.

MATERIAL E MÉTODOS

A planta fresca foi administrada por via oral em diversas dosagens e durante períodos variáveis, a nove bovinos jovens desmamados. Foram usadas as partes aéreas de *Ditaxis desertorum* Pax et K. Hoffm. (folhas e galhos finos), que foram coletadas no município de Wanderley, Bahia, em diversas ocasiões, e sempre guardadas em geladeira até o dia de sua administração, no máximo até 6 a 9 dias após a coleta.

Os bovinos de experimentação eram examinados antes do início das administrações da planta e duas vezes ao dia após a primeira administração, com tomada de temperatura, auscultação do coração, pulmão e rúmen, ocasião em que sempre se fazia coleta de amostra de urina, para verificação de hemoglobinúria. No decorrer do experimento era coletado sangue para hematimetria, consistindo na determinação do hematócrito, da hemoglobina e na contagem das hemácias, em alguns animais diariamente, em outros ocasionalmente.

Nos experimentos realizados em Wanderley, os animais durante o dia, eram soltos em um pasto onde eram observados durante parte do dia. Durante a noite eram mantidos em um curral. Nos experimentos realizados em nosso Instituto (Km 47, Rio de Janeiro),

os animais eram mantidos em baias individuais, com água e capim picado de capineira à vontade. Na parte da manhã eram soltos em um pequeno piquete.

Finalmente foram realizados experimentos com a planta dessecada, também em bovinos jovens, em nosso Instituto.

RESULTADOS

Ditaxis desertorum revelou-se tóxica para bovinos em nossos experimentos. Dependendo das doses administradas, causou sintomatologias distintas de intoxicação (Quadro 1). Dose elevada (7,7 g/kg) única ou doses médias (2,5 e 3 g/kg) repetidas em 2 dias seguidos, causaram um quadro clínico de cólica com morte em questão de horas. Os achados de necropsia consistiram, principalmente, em alterações do aparelho digestivo. Havia acentuado edema da parede do rúmen, sobretudo nas regiões próximas ao sulco esofágico, e da parede do retículo. As papilas do rúmen estavam avermelhadas e em algumas áreas se podia retirar fragmentos da camada epitelial com facilidade, deixando exposta a própria também avermelhada. A mucosa do abomaso em dois dos três animais (Bov. 5211 e 5505) esteve levemente avermelhada. Havia ainda leve esplenomegalia e leve ascite. Os exames histopatológicos revelaram principalmente lesões na parede do rúmen sob a forma de desprendimento do epitélio, congestão da própria, edema da submucosa acompanhado de congestão e hemorragias, edema na muscular e da serosa. Em um animal (Bov. 5503) o edema na muscular e serosa era acompanhado de congestão e hemorragias, e em dois animais (Bov. 5503 e 5505) havia infiltrados polimorfonucleares que no Bovino 5503 eram acentuados, nas áreas com edema.

Havia ainda acentuada congestão do baço nos três animais (Bov. 5211, 5503 e 5505) e em um animal (Bov. 5505) leve congestão das partes profundas da própria e na submucosa do abomaso.

Doses menores, de 1,0 g/kg, 1,5 g/kg e 2,0 g/kg, e em um bovino, também a de 2,5 g/kg, administradas diariamente, causaram um quadro caracterizado por hemoglobinúria e anemia a partir do 4º ao 8º dia do experimento. O animal (Bov. 5225), que ingeriu 2,5 g/kg/dia, durante 5 dias (a administração da planta foi interrompida quando o animal mostrou anorexia), morreu no 8º dia do experimento. Este animal apresentou a partir de 1h54min após o fim da primeira administração da planta, durante aproximadamente 8 horas, sinais de cólica, que não mais foram observados após as administrações seguintes. Teve hemoglobinúria e anemia acentuadas a partir do 4º dia do experimento até o dia da morte, no 8º dia (Fig. 3). Nos três outros animais (Bov. 5501, 5502 e 5508) após um período de 3 a 5 dias em que tiveram hemoglobinúria e anemia acentuadas, apesar de continuarem a receber a planta, num período total de 12 a 14 dias, esses sintomas desapareceram. Verificou-se uma rápida recuperação dos valores hemáticos logo que cessou a hemoglobinúria. Em nenhum animal foi verificado icterícia. O soro/plasma sanguíneo se apresentava hemolisado durante a fase da hemoglobinúria.

Porém o bovino que recebeu 2,5 g/kg/dia durante 12 dias (Bov. 5502), ao contrário dos outros dois animais, após a cessa-



Fig. 1. *Ditaxis desertorum*, no município de Wanderley, Bahia.

Fig. 2. *D. desertorum* em floração.

Fig. 3. Hemoglobinúria acentuada, causada por *D. desertorum*, confe-re à urina dos bovinos coloração comparável a de Coca-Cola.

ção da hemoglobinúria e recuperando-se da anemia, começou a mostrar diminuição do apetite, emagrecimento e pêlos arrepiados, e no 30º dia do experimento foi encontrado morto. Os outros dois animais (Bov. 5501 e 5508) nunca perderam o apetite.

Os achados de necropsia no único animal (Bov. 5225) que morreu durante a fase de hemoglobinúria, foram mucosas pálidas (esbranquiçadas), sangue aquoso, bexiga contendo urina com cor de vinho tinto, rins aumentados de volume com consistência de borracha, córtex renal na superfície e ao corte com coloração marrom-escura, esplenomegalia moderada, fígado na superfície e ao corte de cor alaranjada e com aspecto mosqueado, vesícula biliar estendida por bile verde-grossa e mucosa, conteúdo do rúmen, omaso, ceco e cólon ressequido.

As principais alterações histológicas foram observadas no fígado e rim. No fígado havia necrose de coagulação centrolobular acentuada, as células hepáticas na periferia da área de necrose apresentando processo de degeneração hidrópico-vacuolar (Sudan III negativo); os hepatócitos ao redor do espaço porta apresentavam pequenos vacúolos (Sudan III positivo). No rim foi observada grande quantidade de cilindros densos, de coloração vermelha levemente marrom, na luz dos túbulos uriníferos, e esferas semelhantes nos espaços de Bowman; as células epiteliais de muitos túbulos uriníferos apresentavam numerosas gotas de diversos tama-

nhos de substância da mesma natureza. Ainda havia nos espaços de Bowman e na luz de túbulos uriníferos substância albuminosa sob forma de esferas e cilindros. No baço foi constatada congestão acentuada.

Pela dessecação a planta perdeu toda sua toxidez. (Quadro 2)

DISCUSSÃO

As causas da anemia hemolítica, que é o resultado da destruição excessiva de hemácias circulantes, podem ser infecciosas, tóxicas ou imunológicas. Entre as tóxicas estão as causadas por plantas. Destas, são bastante conhecidas no hemisfério norte as intoxicações por *Brassica* spp., *Allium* spp. e *Mercurialis* spp. (Stöber 1970, Jones & Hunt 1983, Humphreys 1988, Kellerman et al. 1988, Radostits et al. 1994).

No Brasil, até agora somente conhecíamos *Brachiaria radicans* como pertencente a este grupo de plantas. Esta intoxicação se caracteriza por uma coloração marrom-avermelhada da urina, andar desequilibrado, mucosas pálidas e micções frequentes. Há anemia hemolítica e metemoglobinemia, elevado teor de nitrito no soro sanguíneo e hemoglobinúria. Os achados de necropsia consistem em rins tumefeitos e de coloração marrom. Histologicamente foram descritas, no rim, presença de hemoglobina nos espaços de Bowman, na luz dos túbulos uriníferos e no citoplasma

das células epiteliais desses túbulos, e no fígado, micronecrose em torno das veias centrolobulares. (Andrade et al. 1971a)

A princípio admitiu-se a hipótese de que o efeito nocivo de *B. radicans* estaria ligado ao seu alto teor de nitrato (Andrade et al. 1971a,b,c, Rosenfeld et al. 1971). Posteriormente se levantou a suspeita de que outro componente, que não o nitrato, fosse o responsável por sua ação tóxica (Andrade et al. 1972a,b, 1973, 1975, Rosenfeld et al. 1976, Lessi et al. 1981). Villalobos et al. (1981), baseando-se em estudos experimentais, concluíram que a sintomatologia, os achados anatomo-patológicos e os exames químicos do sangue indicam que na intoxicação por *B. radicans* existem dois fatores etiológicos importantes: a) os nitratos-nitritos indutores da formação de metemoglobina e b) um ou mais fatores desconhecidos responsáveis pelo dano hepato-renal e a hemólise intravascular.

Um aspecto interessante da intoxicação por *Ditaxis desertorum* em nossos experimentos foi que a mesma planta produziu dois quadros clínico-patológicos diferentes, na dependência da dosagem da planta ingerida; um quadro caracterizado por hemoglobínúria, em virtude de sua ação hemolítica, e outro, de cólica, devido o seu efeito cáustico.

As lesões renais encontradas no único bovino que morreu em função da ação hemolítica da planta, são descritas na literatura como nefrose hemoglobínúrica (Trautwein 1991). Em relação às lesões do fígado, Cohrs (1962) menciona como um fator importante das distrofias hepáticas, a hipoxidose; a necrose intralobular, principalmente distrofia hepática centrolobular com necrose, ocorre, de acordo com este autor, especialmente naquelas doenças em que há rápida e forte hemólise. Também Rubarth (1967) menciona anemia, e entre elas a anemia hemolítica, como causa de alterações hepáticas centrolobulares.

O outro aspecto importante foi que os animais que apresentaram o quadro clínico-patológico da anemia hemolítica se recuperaram após poucos dias (com uma exceção), apesar de continuarem a ingerir a planta. Pode-se pensar no desenvolvimento de um mecanismo no animal, no rúmen ou no fígado, pelo qual o princípio tóxico responsável pela anemia hemolítica fosse desativado.

Pelos históricos obtidos parece que sob condições naturais somente ocorre a intoxicação caracterizada pelo quadro de anemia hemolítica. Apesar de a planta aparentemente ter boa palatabilidade, pode se especular que devido ao seu efeito cáustico, demonstrado pelas lesões no rúmen e retículo quando administrada em quantidades maiores, os animais sob condições naturais não comem grandes quantidades da planta (2,5 g/kg ou mais) por dia.

Agradecimentos. - À Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação da planta; ao Assistente de Pesquisa João Luiz Bastos pela valiosa colaboração nos trabalhos de experimentação com a planta em Wanderley/Bahia; e aos criadores de Wanderley, que puseram os bovinos e as instalações a nossa disposição e forneceram históricos.

REFERÊNCIAS

- Andrade S.O., Peregrino C.J.B. & Aguiar A.A. 1971a. Estudos sobre *Brachiaria* sp. (Tanner Grass). I. Efeito nocivo para bovinos. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 38(3):135-150.
- Andrade S.O., Retz L. & Marmo O. 1971b. Estudos sobre *Brachiaria* sp. III. Ocorrências de intoxicações de bovinos durante um ano (1970-1971) e níveis de nitrato em amostras de gramínea. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 38(4):239-252.
- Andrade S.O., Retz L. & Velloso C.A. 1971c. Estudos sobre *Brachiaria* sp. (Tanner Grass). II. Dosagens de nitrato em soro de bovinos. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 38(3):151-161.
- Andrade S.O., Cosentino J.R. & Scott W.N. 1972a. Estudos sobre novilhas alimentadas diariamente com milho ou melão e *Brachiaria* sp. (Tanner Grass). Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 39(4):329-333.
- Andrade S.O., Figueiredo A.L. & Nothenberg M.S. 1972b. Estudos sobre *Brachiaria* sp. IV. Investigações sobre o efeito da gramínea, apresentando teor baixo de nitrato, em ovinos, bovinos e equinos. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 39(4):257-261.
- Andrade S.O., Retz L. & Nothenberg M.S. 1973. Studies on the toxic effect of *Brachiaria* sp. Ciência e Cultura, S. Paulo, 25(7):643.
- Andrade S.O., Nothenberg M.S., Retz L. & Bueno P.C. 1975. Estudos sobre cobaias alimentadas com *Brachiaria* sp. (Tanner Grass). Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 42:243-246.
- Cohrs P. 1962. Nieberle und Cohrs' Lehrbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere. 4.Aufl. Gustav Fischer, Stuttgart.
- Humphreys D.J. 1988. Veterinary Toxicology. 3rd ed. Baillière Tindall, London.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983. Veterinary Pathology. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Kellerman T.S., Coetzer J.A.W. & Naudé T.W. 1988. Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa. Oxford University Press, Cape Town.
- Lessi E., Vianna J.R. & Rodrigues P.C. 1981. Contribuição ao estudo da toxidez ocasional da *Brachiaria* sp. (Tanner Grass) em bovinos. Revta Bras. Med. Vet. 4(4):32-37.
- Radostits O.M., Blood D.C. & Gay C.C. 1994. Veterinary Medicine. Baillière Tindall, London.
- Rosenfeld G., Reichmann C.E. & Andrade S.O. 1971. Anemia hemolítica em bovinos alimentados com *Brachiaria* sp. (Tanner Grass). Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 38(4):267-273.
- Rosenfeld G., Reichmann C.E., Faria L.J. & Andrade S.O. 1976. Estudos sobre o quadro hemático de ovinos e equinos em pastagem de *Brachiaria radicans* Napper (Tanner Grass) no período do inverno. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 43(3/4):99-103.
- Rubarth S. 1967. Leber und Gallenwege, p. 1-299. Hypoxämische Leberveränderungen, p. 103-104. In: Dobberstein J., Pallaske G. & Stünzi H. (ed.) Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere, begründet von E. Joest. Band VI. Digestionsapparat, II. Teil. 3. Aufl. Paul Parey, Berlin.
- Stöber M. 1970. Pflanzenbedingte Schädigungen der Kreislauforgane, des Blutes oder der Blutbildung, p. 1255-1265. In: Rosenberger G. (ed.) Krankheiten des Rindes. Paul Parey, Berlin.
- Trautwein G. 1991. Harnorgane, p. 517-575. In: Schulz L.-C. (ed.) Pathologie der Haustiere. Teil I. Organveränderungen. Gustav Fischer, Jena.
- Villalobos S.J., Meneses G.A., León C.S. & Carballo C.G. 1981. Clínica y patología de la intoxicación con *Brachiaria radicans* Napper (Tannergrass). Cienc. Vet., Costa Rica, 3:163-169.

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Rhodococcus equi* EM EQUINOS DA REGIÃO DE BAGÉ, RS, PELO TESTE DE INIBIÇÃO DA HEMÓLISE SINÉRGICA¹

Andrea Lazzari², Agueda Castagna de Vargas³, Valéria Dutra⁴, Andreia Foletto Pedrozo⁵, Lucia Helena Niederauer Weiss² e Gregori Luis Ferreira⁶

ABSTRACT.- Lazzari A., Vargas A.C., Dutra V., Pedrozo A.F., Weiss L.H.N. & Ferreira G.L. 1997. [Seroepidemiology on *Rhodococcus equi* in horses from Bagé county, RS, by using the synergistic hemolysis inhibition test.] Seroepidemiologia de *Rhodococcus equi* em equinos da região de Bagé, RS, pelo teste de Inibição da Hemólise Sinérgica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):117-122. Depto Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900 Santa Maria, RS, Brazil.

Rhodococcus equi seroepidemiological studies were conducted. Sera used were collected from 290 apparently clinically normal mares and foals. The samples originated from 6 horse-breeding farms, located in the county of Bagé, Rio Grande do Sul, Brazil, which had different histories of *Rhodococcus equi* infections. To correlate the serological results with the presence of the agent in the intestine 123 fecal samples were collected. The synergistic hemolysis inhibition test was used. The test detects antibody against the "equi factor". Neutralizing antibodies against the equi factor were verified in 87.93% (255/290) of the animales tested. The geometric mean titer (GMT) of antibodies was higher in the foals when comparad with the mares. The serological results had a correlation with the isolation of *R. equi* in the feces. The rate of *R. equi* isolation and GMT titers was higher at the horse-breeding farm where clinical cases were registered. Further studies need to be done to establish the relation among the importance of serological titers and disease detection.

INDEX TERMS: Horses, serology, synergistic hemolysis inhibition.

SINOPSE.- Com o objetivo de avaliar a situação soropidemiológica da infecção por *Rhodococcus equi* na região de Bagé, RS, foram testadas 290 amostras de soro sanguíneo de éguas e potros aparentemente saudáveis, obtidos de 6 haras com dife-

rentes histórias de rodococose. Para relacionar o resultado sorológico com a presença deste agente bacteriano no trato intestinal destes animais, foram coletadas 123 amostras de fezes. O teste sorológico utilizado foi a inibição da hemólise sinérgica (IHS) que detecta anticorpos neutralizantes contra o "fator equi". Um percentual de 87,93% (255/290) dos animais amostrados apresentaram estes anticorpos. O título médio geométrico (GMT) destes anticorpos foi mais elevado nos potros do que nas éguas. A soropositividade destes equinos ao teste sorológico teve correlação com o isolamento do *R. equi* nas fezes dos respectivos animais. A maior taxa de isolamento de *R. equi* das fezes dos equinos e o maior GMT, ocorreu no único haras com casos clínicos recentes de enfermidade causada por esta bactéria. No entanto, todos os animais deste e dos demais haras, encontravam-se aparentemente saudáveis, sendo necessário, estabelecer em trabalho futuro, a possível relação entre títulos de anticorpos e sua importância na detecção da enfermidade.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Equinos, sorologia, inibição da hemólise sinérgica.

¹ Aceito para publicação em 14 de julho de 1997.

Trabalho extraído da dissertação de mestrado do primeiro autor, apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

² Médico Veterinário, Depto Medicina Veterinária Preventiva, Setor de Bacteriologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900 Santa Maria, RS.

³ Depto Medicina Veterinária Preventiva, Setor de Bacteriologia. Fax (055) 220 8695; Email: Agueda.@.CCR.UFSM.BR. Autor para correspondência.

⁴ Aluno do curso de Pós-Graduação (Área de Medicina Veterinária Preventiva) da UFSM.

⁵ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UFSM; bolsista do CNPq.

⁶ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da UFSM; bolsista da FAPERGS.

INTRODUÇÃO

Rhodococcus equi é um cocobacilo gram positivo capsulado (Bisping & Amsberg 1988, Carter & Cole 1990, Quinn et al. 1994) que pode ser encontrado no trato gastrointestinal de equinos (Takai et al. 1987, Woolcock et al. 1987). Pode causar em potros de até 6 meses de idade uma broncopneumonia piogranulomatosa, enterite ulcerativa e linfadenite mesentérica (Prescott & Hoffman 1993, Takai et al. 1995).

Segundo Prescott (1991) *R. equi* encontra-se distribuído mundialmente, sendo relatado como responsável por mais de 3% das mortes em potros, podendo alcançar taxas de mortalidade de 80% (Hillidge 1986). O pico de incidência da doença parece coincidir com o período em que os anticorpos adquiridos passivamente começam a desaparecer (Prescott 1987).

Após várias tentativas para detecção de anticorpos contra *R. equi*, foi descoberto que todas as cepas desta bactéria produzem uma exosubstância denominada "fator equi", composta por duas enzimas, a colesterol oxidase e a fosfolipase C (Prescott et al. 1982). Segundo Skalka & Svastová (1984/85), a produção "in vitro" do "fator equi" é uma importante característica desta bactéria, e apesar das diferenças na parede celular ou sorotipo capsular, a similaridade antigênica das enzimas possibilita sua utilização como antígeno.

Os testes desenvolvidos e utilizados para a detecção de anticorpos contra o "fator equi" são a imunodifusão em gel de ágar (Nakazawa 1980, Nakazawa et al. 1987, Sweeney & Wilkins 1992, Finger 1996); teste de inibição da hemólise sinérgica (IHS) (Prescott et al. 1984a) e a imunodifusão radial enzimática (Takai et al. 1990). O teste de IHS foi desenvolvido a partir da descoberta que o "fator equi" aumenta a atividade hemolítica de outras espécies bacterianas. Segundo Yager (1987), esta exosubstância age sinérgicamente com toxinas produzidas por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* para causar completa hemólise de eritrócitos de mamíferos. Skalka & Svastová (1984/85) descobriram que os anticorpos produzidos pelos equinos em resposta ao "fator equi" neutralizam a hemólise de eritrócitos previamente sensibilizados por bactérias que agem sinérgicamente com *R. equi*. Gaskin et al. (1990) comparando o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) com o teste de IHS, concluíram que o segundo apresenta maior sensibilidade, quantificando os anticorpos, no entanto de padronização e realização mais laboriosa.

Estudos sorológicos realizados em vários países indicam que *R. equi* está amplamente distribuído na população equina (Nakazawa 1980, Madigan et al. 1991, Sanada et al. 1992, Becu 1994) sendo encontrado inclusive em propriedades sem ocorrência da doença (Skalka 1987). No Brasil existem poucas publicações sobre estudos soroepidemiológicos, entre eles, dados publicados por Lazzari et al. (1996) no estado do Paraná e na região sudoeste do estado do Rio Grande do Sul e Finger (1996) nas regiões metropolitana e noroeste deste mesmo estado.

Os testes sorológicos, associados a um monitoramento do processo da infecção, contribuem para um diagnóstico

precoce desta enfermidade (Skalka 1987), sendo que a IHS é utilizada também na determinação do título de anticorpos em equinos doadores de plasma hiperimune. O objetivo deste trabalho foi avaliar a situação sorológica de equinos nos haras em estudo, bem como fornecer dados epidemiológicos desta infecção na região sudoeste do estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de experimentação

Os equinos utilizados eram pertencentes a seis haras do município de Bagé, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O material foi coletado de éguas e potros com idade entre 2 dias e 5 meses de vida. Nenhum dos animais amostrados foi vacinado ou recebeu plasma hiperimune contra *R. equi*. Somente um haras, o de número 2, apresentou casos clínicos recentes causados por *R. equi*, sendo considerado uma propriedade com ocorrência endêmica da infecção. Os Haras 1, 4 e 6 possuíam registros de casos que ocorreram a alguns anos, e os animais dos Haras 3 e 5 nunca foram acometidos clinicamente.

Soro sanguíneo.

Foram coletadas 290 amostras, onde:

Potros	Éguas
Haras 1 29	52
Haras 2 07	09
Haras 3 16	32
Haras 4 31	35
Haras 5 08	14
Haras 6 23	34

A coleta foi realizada através da punção da veia jugular com tubos de ensaio contendo vácuo. Após a retração do coágulo as amostras de soro foram estocadas a -18°C até a execução do teste.

Amostras de fezes. Foram coletadas 123 amostras de fezes diretamente da ampola retal ou da porção superior do bolo fecal recém eliminado de 68 éguas e 75 potros. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos limpos e refrigeradas até a chegada ao laboratório, sendo processadas em no máximo 24h após a coleta.

Inibição da Hemólise Sinérgica (IHS)

Extração da toxina de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. A toxina (fosfolipase D) foi extraída segundo técnica descrita por Prescott et al. (1984a). A cepa utilizada foi obtida do Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (CPVDF).

O meio base utilizado para padronização dos reagentes e realização do teste foi o Tryptic Soy Agar (TSA⁷) acrescido de 0,1% de azida sódica⁸. O meio foi distribuído em alíquotas de 30ml, autoclavado e quando utilizado, mantido em uma temperatura de aproximadamente 50°C. Uma quantidade de 0,003g da toxina liofilizada de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, diluídas em 2ml de PBS (pH 7,0) foram utilizadas para sensibilizar eritrócitos de ovino previamente lavados (3 vezes) com salina estéril (0,85%). A concentração de eritrócitos adicionados foi de 3% do volume total do meio base utilizado para cada placa de Petri de 135x15mm. Estas placas sensibilizadas permaneciam durante 24 horas a temperatura ambiente antes de serem utilizadas.

⁷ DIFCO - Interlab Distribuidora de Produtos Científicos S.A., São Paulo, SP.

⁸ SIGMA - Pró-Análise Química e Diagnóstico Ltda, Porto Alegre, RS.

Produção do "fator equi". As etapas para produção do "fator equi" seguiram descrição de Prescott et al. (1984a), com algumas modificações. O isolado de *R. equi* utilizado (SB 96/93), mantido liofilizado, foi obtido de um abscesso da cavidade abdominal de um potro. Foi definido como uma unidade do "fator equi", a maior diluição do mesmo que, após um período de incubação de 3 dias à 37°C sobre uma placa de meio base contendo eritrócitos sensibilizados com a toxina de *C. pseudotuberculosis*, produziu uma zona de hemólise de 1-3mm ao redor do disco absorvente saturado.

Controle negativo. Soro sanguíneo de um potro recém nascido antes de mamar o colostro. Este animal pertencia a um haras de Bagé, estado do Rio Grande do Sul.

Controle positivo. Foi utilizado soro hiperimune produzido segundo descrição de Skalka & Svastová (1984/85) com algumas modificações. Os anticorpos foram obtidos à partir de aplicações semanais do "fator equi" em coelhos adultos. A aplicação do antígeno foi subcutânea na dose de 1ml, num total de 7 inoculações. A partir da 3ª aplicação do antígeno, coletou-se sangue por punção cardíaca para controle da produção dos anticorpos através do teste de inibição da hemólise sinérgica. Padronizou-se como uma unidade de anticorpo, a diluição mais alta de soro hiperimune, que misturado com uma unidade do "fator equi" neutralizou a zona de hemólise em torno do disco absorvente saturado após 3 dias de incubação à 37°C sobre uma placa de meio base contendo eritrócitos sensibilizados com a toxina de *C. pseudotuberculosis*. A diluição utilizada deste soro foi de 1:8.

Em cada placa de meio base contendo eritrócitos sensibilizados com a toxina de *C. pseudotuberculosis* foram colocados os seguintes controles: a) um disco embebido em uma unidade do "fator equi" (antígeno); b) um disco com uma unidade de soro controle positivo + uma unidade do antígeno e c) um disco com uma unidade do antígeno + mesma quantidade do controle negativo. Todas estas alíquotas foram distribuídas em placas de microdiluição com pipeta monocal 9.

Inicialmente foram analisadas as 290 amostras de soro sem diluir (puro), onde, distribuiu-se em placas de microdiluição, 20 microlitros de uma unidade de "fator equi" e a mesma quantidade do soro a ser testado.

Os controles e os soros a serem testados, depois de agitados durante 60 minutos a temperatura ambiente, embeberam discos absorventes estéreis de 6,35mm de diâmetro¹⁰ por 10 segundos, sendo posteriormente colocados sobre a placa previamente sensibilizada de IHS, observando-se uma distância mínima de 25mm entre os mesmos. As placas foram incubadas à 37°C durante 3 dias, quando então realizava-se a leitura do teste. Os soros positivos ao teste de IHS eram diluídos com PBS (pH 7,2) na razão 2, à partir da diluição 1:2 e testados até a determinação do título.

Os soros dos equinos (égua e potros), antes de serem submetidos à técnica de inibição da hemólise sinérgica, foram testados para a detecção de toxicidade sobre uma placa de eritrócitos sensibilizados.

Leitura:

- Negativo: Presença de um halo completo de hemólise ao redor do disco.
- Positivo: Ausência do halo de hemólise ao redor do disco.
- Título de anticorpo: A maior diluição do soro sanguíneo, que após um período de 3 dias nas condições acima descritas, inibiu a hemólise ao redor do disco absorvente.

⁹ Eppendorf Geratebau-Nethler Postfach 650670, 2000 Hamburg 65 Germany.

¹⁰ CEFAR - Promicro Comércio de Produtos Hospitalares Ltda, São Paulo, SP.

Isolamento e identificação de *R. equi* em amostras de fezes

As 123 amostras de fezes equinas foram processadas segundo descrição feita por Lazzari et al. (1997).

Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o programa SAS (Statistical Analysis System) versão 6,8 de 1992. Neste programa os dados foram submetidos a análise de variância e, quando houve diferença significativa, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey em um nível de significância de 5%. Realizou-se também o teste de qui-quadrado ($P < 0,05$) e análise de correlação (Pearson). Este último foi aplicado entre o percentual de isolamento e o percentual de animais soropositivos de cada haras.

RESULTADOS

Ao testar o "fator equi" obtido através da técnica descrita por Takai et al. (1984a) o resultado não foi considerado satisfatório. Optou-se então por utilizar o sobrenadante obtido após a segunda centrifugação descrita na técnica deste mesmo pesquisador, que demonstrou um resultado excelente no teste das placas.

Os resultados do teste sorológico foram expressos em títulos e título médio geométrico (GMT). Os percentuais de soropositivos, sem levar em consideração os títulos, estão representados no Quadro 1. A maior taxa foi encontrada no Haras 5 (95,50%) e a menor no Haras 2 (81,25%), não havendo porém, diferença significativa entre estes resultados.

Analisando separadamente as categorias animais (égua e potros) observou-se que em todos os haras, com exceção do Haras 2, o percentual de soropositividade foi igual (Haras 3) ou superior (Haras 1, 4, 5 e 6) no soro sanguíneo dos potros (Quadro 1). Os animais mais jovens que apresentaram anticorpos neutralizantes contra o "fator equi", possuíam 2 e 9 dias de vida. Os demais soropositivos tinham entre 1 e 5 meses de idade.

Quadro 1. Percentual de soropositividade dos haras as diferentes categorias animais ao teste de inibição da hemólise sinérgica

Haras	Potros			Éguas			Total %
	Nº	Pos.	%	Nº	Pos.	%	
1	29	26	89,65	52	42	80,76	83,95
2	07	05	71,42	09	08	88,80	81,25
3	16	14	87,50	32	28	87,50	87,50
4	31	31	100,00	35	28	80,00	89,40
5	08	08	100,00	14	13	92,85	95,50
6	23	23	100,00	34	29	85,29	91,23
Total	114	107	93,85	176	148	84,09	87,93

No Haras 1, 88% (22/25) das éguas com anticorpos neutralizantes para o *R. equi* possuíam seus potros soropositivos, da mesma forma no Haras 2 71,42% (5/7), Haras 3 86,66% (13/15), Haras 4 88,46% (23/26), Haras 5 e 6 100% (8/8 e 20/20 respectivamente). Um percentual de 7,92% (8/101) de potros, filhos de éguas soropositivas, não apresentaram estes anticorpos específicos. Estes dados se referem à parcela de éguas soropositivas (101) que possuíam o soro dos respectivos potros amostrados.

O título máximo detectado em cada propriedade foi de 1:4 nos Haras 1 e 3; 1:8 no Haras 5; 1:128 nos Haras 2 e 6 e 1:256 no Haras 4. Através do teste de Tukey ficou demonstrado que o título 1:2 foi o mais encontrado. Transformando estes dados em títulos médios geométricos (GMT), encontrou-se o maior GMT no Haras 2 (3,60) e o menor no Haras 3 (1,73). A análise das categorias animais revelou um GMT significativamente mais elevado nos potros, com uma variação de 5,03 no Haras 6 a 2,20 no Haras 1. No soro sanguíneo das éguas encontrou-se uma variação no título médio geométrico de 3,08 no Haras 2 a 1,17 no Haras 1 (Fig. 1).

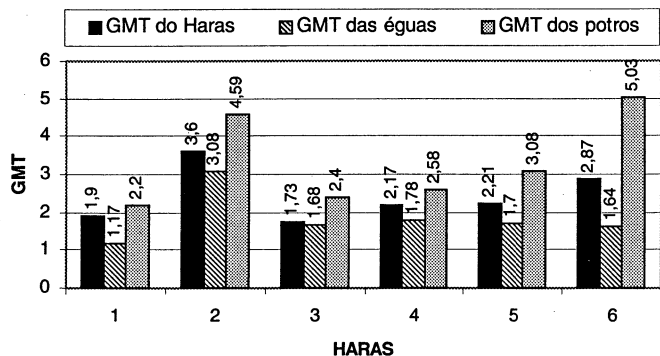


Fig. 1. Título médio geométrico (GMT) de anticorpos contra *R. equi* no soro sanguíneo de éguas e potros analisados pelo teste de inibição da hemólise sinérgica.

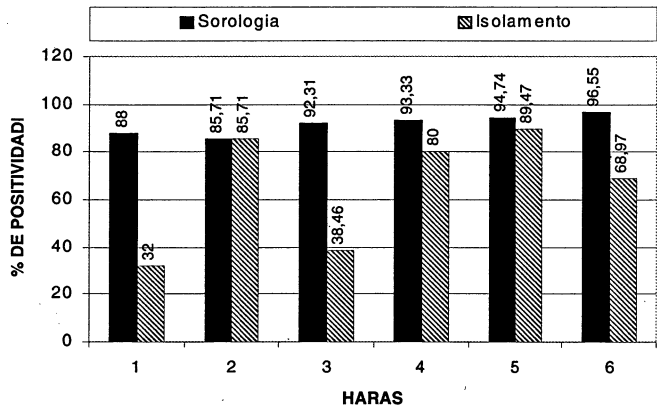


Fig. 2. Percentuais de soropositividade dos equinos a *R. equi* pelo teste de inibição da hemólise sinérgica e respectivas taxas de isolamento do mesmo agente nas fezes dos animais.

Dentro de cada haras, coletou-se um percentual de amostras de fezes dos animais que tiveram o soro sanguíneo amostrado. Analisando o resultado destas amostras (123), encontrou-se correlação ($P < 0,0473$) entre o isolamento de *R. equi* nas fezes e a soropositividade dos animais. Um percentual de 62,60% (77/123) das amostras foram positivas para o isolamento do *R. equi* nas fezes e para os anticorpos neutralizantes no soro sanguíneo, 30% (37/123) foram soropositivas, porém sem isolamento do agente nas fezes. De apenas 2,40% (3/123) das amostras coletadas foi isolado o

agente das fezes sem detectar anticorpos específicos no soro e 4,80% (6/123) foram negativos tanto para o isolamento quanto para a detecção de anticorpos. A observação individual de cada haras revelou que a maior correlação entre animais soropositivos e o achado da bactéria nas fezes ocorreu no Haras 2, onde, todos os animais com anticorpos contra *R. equi* eliminavam este agente pelas fezes. A menor correlação foi observada no Haras 1, onde, em somente 36,36% (8/22) dos animais soropositivos foi isolado a bactéria das fezes. Os demais percentuais de soropositivos e de isolamento da bactéria podem ser observados na Figura 2.

DISCUSSÃO

O resultado da sorologia demonstrou uma alta prevalência de anticorpos contra *R. equi* em todos os haras. Das 290 amostras de soro sanguíneo analisadas pela IHS, 255 foram positivas (87,93%), demonstrando a disseminação deste agente entre a população estudada (Quadro 1). Estes animais amostrados não apresentavam evidências clínicas de qualquer uma das formas de doença causada por *R. equi*. Portanto, este dado discorda de Prescott et al. (1984a), que sugerem que a detecção de anticorpos para o "fator equi" através da IHS pode ser usada no diagnóstico de pneumonia por *R. equi*. O alto percentual encontrado neste trabalho, associado a normalidade clínica dos animais e o isolamento do agente nas fezes, sugere uma estimulação antigênica para produção de anticorpos neutralizantes contra o "fator equi" a partir do agente que transita pelo trato intestinal dos éguas e que se multiplica no trato intestinal de potros (Takai et al. apud Sanaida et al. 1992). Gaskin et al. (1990) não concordam com esta sugestão, afirmando que estas exoenzimas não conseguem ultrapassar a barreira intestinal para induzir uma resposta imunológica. Para estes pesquisadores seriam necessários focos ativos de infecção, como uma linfadenite mesentérica ou então quadros pneumônicos. Entretanto, é pouco provável, apesar de não se ter pesquisado, que 87,93% destes animais possuíssem os focos ativos acima citados para desenvolver uma resposta imune. Analisando o Quadro 1, percebe-se que no Haras de número 2, classificado como de ocorrência endêmica e com casos recentes registrados, ocorreu o menor percentual de positividade que foi de 81,25%, sendo ultrapassado inclusive pelos Haras 3 (87,5%) e 5 (95,5%) que nunca tiveram problemas aparentes com esta bactéria. Esta diferença, no entanto, não foi significativa. Woolcock et al. (1987) constataram em seu trabalho, que animais pertencentes a propriedades com registros desta enfermidade, possuíam títulos muito maiores ao "fator equi" quando comparados com propriedades sem problema. Apesar do menor percentual de soropositividade ser encontrado justamente no Haras 2, o maior título médio geométrico de anticorpos foi detectado nesta propriedade, confirmando a constatação do pesquisador acima citado (Fig. 1). Talvez a incidência da enfermidade encontrada no Haras 2 esteja associada, conforme sugestão de Prescott (1991), a uma combinação de fatores como declínio de anticorpos derivados do leite materno, ausência de um mecanismo imune celular competente e a

presença ou não de isolados virulentos do *R. equi* no ambiente. Além do exposto acima, a amostragem de soro sanguíneo coletado neste Haras foi pequena, o que pode ter, de certa forma, influenciado o resultado.

Foi encontrado um total de 93,85% (107/114) de potros soropositivos e 84,09% (148/176) de éguas positivas (Quadro 1). Finger (1996) detectou também um maior percentual de soropositividade nos potros (39,1%) do que em éguas (14,6%), através do teste de IDGA. No único potro amostrado com 2 dias de vida, foi detectado anticorpos neutralizantes para o "fator equi", demonstrando provavelmente transferência passiva de imunidade, já que sua mãe era soropositiva. Dois animais com 9 dias de idade também apresentaram estes anticorpos, porém fica a dúvida se estes foram adquiridos passivamente ou produzidos ativamente, pois, segundo Gaskin et al. (1990), os potros soroconvertem para *R. equi* 7 dias após uma exposição experimental ao agente. Um pequeno percentual de potros, filhos de éguas soropositivas foram soronegativos (7,92%). Vários fatores poderiam levar a isto, entre eles, a ausência ou títulos muito baixos de anticorpos específicos no colostro destas éguas, a ingestão de quantidades inadequadas do colostro, ou, em caso de imunidade não passiva, a falta de exposição ao agente etiológico, imunossupressão ou infecção recente.

O título máximo de anticorpos contra o "fator equi" encontrado em cada haras foi bastante baixo. Os maiores títulos foram encontrados nos Haras 2 e 6 (1:128) e no Haras 4 (1:256). Porém, o título encontrado com maior frequência em todos os haras foi 1:2. O maior título médio geométrico (GMT) foi detectado no Haras 2 (com ocorrência endêmica) e o menor no Haras 3, onde nunca houve registro de enfermidade por esta bactéria (Fig. 1). O GMT dos potros foi significativamente mais elevado que das éguas. Talvez, este fato possa ser explicado pela maior exposição destes animais a este agente, devido ao hábito coprofágico (Takai et al. 1987). Skalka & Svastová (1984/85) encontraram em potros pertencentes a haras com história de infecção, através de um teste de neutralização do "fator equi" (EFN-Equi Factor Neutralization Test), um título máximo de 1:8 em animais com até 1 mês de idade, 1:256 até 2 meses, 1:512 de 2 a 4 meses de vida e 1:32 em potros entre 6 e 12 meses.

Analisando estatisticamente os resultados, encontrou-se correlação entre o isolamento de *R. equi* nas fezes e a soropositividade dos animais. A maior correlação ocorreu no Haras 2, onde 100% dos soropositivos eliminavam *R. equi* pelas fezes. A estimulação do sistema imune para produção de anticorpos neutralizantes do "fator equi" pode ser realizada tanto pela infecção do trato respiratório como por uma infecção do trato intestinal (Prescott 1991). Isto poderia explicar os 30% de animais soropositivos, citado nos resultados, mas sem a bactéria nas fezes. Outra explicação é a provável eliminação intermitente da bactéria nas fezes. Quanto aos animais com isolamento, mas soronegativos, vários fatores poderiam justificar tal resultado, como: infecção recente do trato intestinal; animal imunossuprimido, sem condições de armar uma resposta humoral ou a incapacidade do teste

detectar baixos títulos de anticorpos (Gaskin et al. 1990). Finger (1996) encontrou um percentual bastante inferior de animais com isolamento e sorologia positiva (34,38%) e 65,63% de isolamento positivo com sorologia negativa. Por se tratar de um dado soroepidemiológico devemos considerar que as regiões estudadas contribuíram para estas diferenças, mas principalmente o teste utilizado, que no caso de Finger foi a imunodifusão em gel de ágar.

CONCLUSÕES

- O título médio geométrico de anticorpos é mais elevado na propriedade com casos clínicos recentes de enfermidade causada por *R. equi*.
- A alta prevalência de anticorpos em animais aparentemente saudáveis sugere não haver relação entre sorologia e doença. Assim sendo, existe a necessidade de estabelecer a possível relação entre títulos de anticorpos e a sua importância na detecção da enfermidade.
- A soropositividade dos equinos ao teste de inibição da hemólise sinérgica apresenta correlação com o isolamento de *R. equi* nas fezes dos respectivos animais.
- O título médio geométrico de anticorpos contra *R. equi* encontrado nos potros é mais elevado que nas éguas.

REFERÊNCIAS

- Becu T. 1994. *Rhodococcus equi*: Diagnóstico serológico e imunoprofilaxia; experiências clínicas y de laboratorio en la República Argentina. I Congr. Equine Medicine, São Paulo, SP. (Abstract)
- Bisping W. & Amtsberg G. 1988. Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin. 339p.
- Carter G.R. & Cole J.R. 1990. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 5th ed. Academic Press, San Diego. 620p.
- Ellenberger M.A., Kaeberle M.L. & Roth J.A. 1984. Equine humoral immune response to *Rhodococcus (Corynebacterium) equi*. Am. J. Vet. Res. 45(11): 2428-2430.
- Finger G.P. 1996. Caracterização de amostras de *Rhodococcus equi* de equinos no Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFRGS, Porto Alegre. 98 p.
- Gaskin J.M., Brewer B. & Koterba A. 1990. Diagnostic significance of serological responses to *Rhodococcus equi* in horses. 8th ACVIM Forum, Washington. (Abstract)
- Hillidge C.J. 1986. Review of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* lung abscesses in foals: Pathogenesis, diagnosis and treatment. Vet. Rec. 119: 261-264.
- Lazzari A., Vargas A.C., Weiss L.H.N. & Borges C.H. 1996. *Rhodococcus equi*: sorologia e avaliação da transferência passiva de anticorpos para potros. Ciência Rural, Santa Maria, 26(2): 251-255.
- Lazzari A., Vargas A.C., Dutra V., Costa M.M. & Flores L.A.S. 1997. Aspectos epidemiológicos do *Rhodococcus equi* em equinos do município de Bagé, RS, Brasil. Ciência Rural, Santa Maria, 27(3):441-446.
- Madigan J.E., Hietala S. & Muller J. 1991. Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* pneumonia in foals by administration of hyperimmune plasma. J. Reprod. Fertil. 44 (Suppl.):571-578.
- Nakazawa M. 1980. Detection of colt serum antibody against *Corynebacterium equi* by agar gel diffusion. Jap. J. Vet. Sci. 42:551-555.
- Nakazawa M., Isayama Y. & Kashiwazaki M. 1987. Diagnosis of *Rhodococcus equi* infection in foals by the agar gel diffusion test with protein antigen. Vet. Microbiol. 15:105-113.
- Prescott J.F., Lastra M. & Barksdale L. 1982. Equi factors in the identification of *Corynebacterium equi* Magnusson. J. Clin. Microbiol. 16(5):988-990.

- Prescott J.F., Coshan-Gauthier R. & Barksdale L. 1984a. Antibody to equi factor(s) in the diagnosis of *Corynebacterium equi* pneumonia of foals. *Can. J. Comp. Med.* 48:370-373.
- Prescott J.F. 1987. Epidemiology of *Rhodococcus equi* infection in horses. *Vet. Microbiol.* 14:211-214.
- Prescott J.F. 1991. *Rhodococcus equi*: An animal and human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 4(1):20-34.
- Prescott J.F. & Hoffman A.M. 1993. *Rhodococcus equi*. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 9(2):375-384.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe, London. 648p.
- Sanada Y., Noda H. & Nagahata H. 1992. Serological survey of *Rhodococcus equi* infection in horses in Hokkaido. *J. Vet. Med. Sci.* 54(4):649-652.
- Skalka B. & Svastová A. 1984/85. Two techniques for detection of antibodies against *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* in horse sera. *Vet. Microbiol.* 10:293-300.
- Skalka B. 1987. Dynamics of equi factor antibodies in sera of foals kept on farms with differing histories of *Rhodococcus equi* pneumonia. *Vet. Microbiol.* 14(3):269-276.
- Sweeney C.R. & Wilkins P.A. 1992. Respiratory diseases in foals: Diagnostic tools for the equine practitioners approaching a herd problem. 38th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Davis. (Abstract)
- Takai S., Fujimori T., Katsuzaki K. & Tsubaki S. 1987. Ecology of *Rhodococcus equi* in horses and their environment on horse-breeding farms. *Vet. Microbiol.* 14:233-239.
- Takai S. Kazama N. & Tsubaki S. 1990. Radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibody to *Rhodococcus equi* in horse sera. *Japn. J. Vet. Sci.* 52(3):653-655.
- Takai S., Anzai T., Yamaguchi K., Kakizaki S., Takahagi J., Sato Y., Takehara F., Tamada Y., Matsukura S., Tani A., Kato M., Seno N., Sasaki Y. Tsubaki S. & Kamada M. 1994a. Prevalence of virulence plasmids in environmental isolates of *Rhodococcus equi* from horse-breeding farms in Hokkaido. *J. Equine Sci.* 5(1):21-25.
- Takai S., Sasaki Y. & Tsubaki S. 1995. *Rhodococcus equi* infection in foals - Current concepts and implication for future research. *J. Equine Sci.* 6(4):105-119.
- Woolcock J.B., Mutimer M.D., Bowles P.M. 1987. The immunological response of foals to *Rhodococcus equi*: A review. *Vet. Microbiol.* 14:215-224.
- Yager J.A. 1987. The pathogenesis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Vet. Microbiol.* 14:225-232.

ADHERENCE AND EXPERIMENTAL INFECTION OF BACTERIA ASSOCIATED WITH PERIODONTAL INFECTIONS OF YOUNG CATTLE IN BRAZIL ("CARA INCHADA")¹

Barbara Grassmann², Jürgen Döbereiner³, Iveraldo S. Dutra⁴, Peter A. Kopp² and Hans Blobel²

ABSTRACT.- Grassmann B., Döbereiner J., Dutra I.S., Kopp P.A. & Blobel H. 1997. [Adherence and experimental infection of bacteria associated with periodontal infections of young cattle in Brazil ("Cara inchada").] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):123-125. Embrapa-CNPAB/Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

In vitro- and *in vivo*-assays were conducted, to study the possible role of streptomycin- and actinomycin-producing soil actinomycetes for the pathogenesis of "Cara inchada" in cattle (CI). Adherence of *Bacteroides* spp. to epithelial cells of the bovine gingiva, known to be associated with the progressive lesions of CI, was significantly increased by the addition of streptomycin, actinomycin or antibiotic culture supernatants of the soil actinomycetes. Applications of these mixtures together with *Actinomyces pyogenes* to the marginal gingiva of the upper premolar teeth of about 1 month old Holstein Friesian calves did not lead to progressive lesions of CI. Only one calf exhibited a slight diarrhea and a temporary retraction of the gingiva at the site of application.

INDEX TERMS: "Cara inchada", cattle, periodontal infection, *Bacteroides* spp., streptomycin, actinomycin, adherence.

SINOPSE.- Aderência e infecção experimental de bactérias associadas com infecções peridentárias de bovinos jovens no Brasil ("cara inchada"). Foram realizados ensaios *in vitro* e *in vivo* para estudar o possível envolvimento de actinomicetos do solo como produtores de estreptomicina e actinomicina na patogênese da periodontite da "cara inchada" dos bovinos (CI). A aderência de *Bacteroides* spp. às células epiteliais da gengiva marginal de bezerros, dos quais se sabe estarem associados às lesões progressivas da CI, aumentou significativamente através a adição de estreptomicina, actino-

micina ou de antibióticos produzidos pelo cultivo de actinomicetos do solo. Aplicações de *Bacteroides* spp. e *Actinomyces pyogenes*, junto com os antibióticos, na gengiva dos dentes premolares maxilares de bezerros da raça holandês preto-branco, de cerca de 1 mês de idade, não provocaram lesões progressivas da CI. Somente um bezerro mostrou leve diarreia e retração temporária da gengiva no local da aplicação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: "Cara inchada", bovinos, infecção peridentária, *Bacteroides* spp., estreptomicina, actinomicina, aderência.

INTRODUCTION

Bacteroides spp. and *Actinomyces (A.) pyogenes* play a decisive role in the pathogenesis of "Cara inchada" in cattle (CI) (Blobel et al. 1984a,b, Blobel et al. 1987). It is of further interest that CI occurred in former forest areas and in the savanna ("cerrado") recently cleared for pasture and other agricultural use after "liming" that led to a modification of the soil microbiota with an increase of streptomycin-producing actinomycetes (Baldani et al. 1982, Döbereiner 1990, Dutra et al. 1993). Streptomycin was shown to increase the adherence of

¹ Accepted for publication on July 14, 1997.

Supported by the German Academic Exchange Service (DAAD) and the Brazilian National Research Council (CNPq).

² Institut für Bakteriologie und Immunologie, Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Giessen, Frankfurter Str. 107, D-35392 Giessen, Germany.

³ Embrapa-CNPAB/PSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil; bolsista CNPq (309294/88-1).

⁴ DAPSA, Unesp-Araçatuba, Caixa Postal 533, Araçatuba, SP 16015-050; bolsista CNPq (305967/85-1).

Bacteroides spp. to the epithelial cells of the bovine gingiva significantly *in vitro* (Kopp et al. 1996).

In this study we investigated the influence of actinomycin and culture supernatants of soil actinomycetes with antibiotic activities on the adherence of *Bacteroides* spp. to the epithelial cells *in vitro*. Then these studies were extended to determine if streptomycin and actinomycin could also promote infection under *in vivo*-conditions.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and culture conditions

Bacteroides spp., originally isolated from the gingiva of CI-lesions in young cattle (Blobel et al. 1984a,b, 1987), were cultured on CDC-blood agar plates (Dowell et al. 1977) under anaerobic conditions for 5 days at 37°C. For fluid cultivation a modified brain heart infusion (BHI) (Eley et al. 1985) was used. After adjustment to 10⁹ transmission at 620 nm (i.e. 10⁹ bacteria/ml) *Bacteroides* suspensions were kept at -20°C until use.

A. pyogenes was cultivated on blood agar plates under microaerobic conditions for 48 h at 37°C (Blobel et al. 1984a,b, 1987). Subsequently, one colony of these cultures was suspended in 1 ml phosphate buffered sodium (0.15 mol/l NaCl, 0.05 mol/l disodiumhydrogenphosphate-dihydrate; pH 7.5).

Actinomycetes, isolated from soil samples of farms with a high prevalence of CI, were kindly provided by Carlos Gava (Embrapa-CNPAB, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil). For antibiotic production these actinomycetes were cultivated in fluid APM-medium (Berwick 1988) under aerobic conditions for 7 days at 30°C. Biochemical characterization of these strains was conducted according to the methods of Pridham & Gottlieb (1948), Perlman & O'Brien (1956), Berd (1973), Pridham & Tresner (1974), Gordon (1974) and Land (1992). Culture supernatants could be obtained by centrifugation for 10 min at 10.000x g with subsequent sterile filtration (0.45 µm, Millipore, Bedford, Massachusetts, USA).

Adherence assays (in vitro)

Adherence assays with *Bacteroides* spp. and bovine epithelial cells were conducted as previously described by Kopp et al. (1996). Acti-

nomycin was added in increasing concentrations from 5 to 25 µg/ml. Culture supernatants of the actinomycetes contained 0.1 mg/ml protein according to the method of Lowry et al. (1951). All adherence assays were repeated 3 times.

Exposure of calves to the bacteria in the presence or absence of the antibiotics/culture supernatants (in vivo)

For the experimental infections 5 Holstein Friesian calves, 18 to 35 days of age, were used. Mixtures of the bacteria (*Bacteroides* spp. and *A. pyogenes*) with streptomycin and actinomycin as well as the antibiotic supernatants from actinomycetes in dosages indicated in Table 1 and 2 were applied to the marginal gingiva of the upper premolar teeth at the site of the interdental papilla 3 times daily. Calves were examined daily for periodontal lesions and diarrhea indicating CI.

RESULTS

In vitro-adherence assays

Addition of actinomycin in concentrations of 5 to 25 µg/ml increased the adherence of *Bacteroides* spp. to the oral epithelial cells of calves for up to 335% (Fig. 1).

Adherence was also increased significantly by antibiotic culture supernatants of soil actinomycetes from farms with a high prevalence of CI (Fig. 2).

Exposure of calves

After experimental infections of the 5 calves no progressive periodontal lesions developed. Only 1 (no. 4688) of the 5

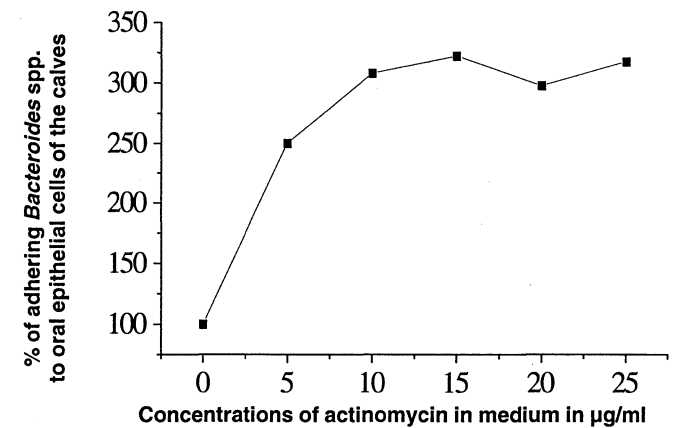


Fig. 1. Adherence of *Bacteroides* spp. to oral epithelial cells of calves after addition of actinomycin in increasing concentrations.

Table 1. Application-modus with Streptomycin

Calf number	<i>Bacteroides</i> spp. 10 ⁹ /ml	<i>A. pyogenes</i> 10 ⁹ /ml	Streptomycin
4688	400 µl	400 µl	20 µg/ml
4689	400 µl	400 µl	200 µg/ml
4690	400 µl	400 µl	2 mg/ml
4691	400 µl	400 µl	20 mg/ml
4692	400 µl	400 µl	200 mg/ml

Table 2. Application-modus with streptomycin, actinomycin and culture supernatants of soil actinomycetes with antibiotic activities

Calf number	<i>Bacteroides</i> spp. 10 ⁹ /ml	<i>A. pyogenes</i> 10 ⁹ /ml	Supernatants of streptomycetes	Combinations Streptomycin/Actinomycin	Streptomycin 200µg/ml	Actinomycin 200µg/ml
4688	400 µl	400 µl	/	/	100 µl	/
4689	400 µl	400 µl	/	/	/	100 µl
4690	400 µl	400 µl	/	/	/	/
4691	400 µl	400 µl	100 µl	/	/	/
4692	400 µl	400 µl	/	100 µl each	/	/

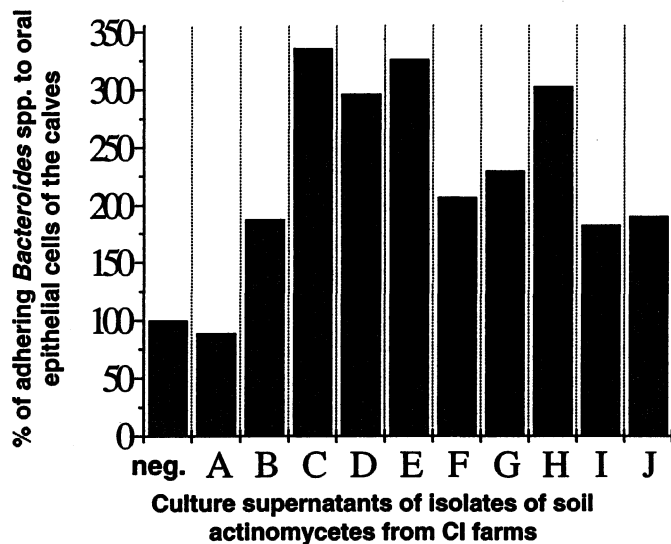


Fig. 2. Adherence of *Bacteroides* spp. to oral epithelial cells of the calves after addition of different culture supernatants from soil actinomycetes (neg. = without supernatants).

calves exhibited a slight retraction of the gingiva at the site of application and a diarrhea that persisted for a period of 6 days. Bacteriological examination of the feces of this calf revealed black pigmented colonies (*Bacteroides* spp.) on CDC-blood agar plates after cultivation under anaerobic conditions.

DISCUSSION

In the *in vitro*-assays actinomycin significantly increased the adherence of *Bacteroides* spp. to the oral epithelial cells of the calves as reported previously for streptomycin (Kopp et al. 1996). Both antibiotics (streptomycin and actinomycin) are produced by soil actinomycetes, isolated in increased numbers in soils of regions with a high CI-prevalence (Baldani et al. 1982, Döbereiner 1990, Dutra et al. 1993). Thus, there appears to be a correlation between the antibiotic activities in the soil and the development of CI-lesions in calves. Most of the actinomycetes isolated from soil of CI-farms were biochemically identified as streptomycetes. The antibiotics produced by these actinomycetes increased *in vitro* the adherence of *Bacteroides* spp. to the oral epithelial cells of the calves significantly. On the other hand, *in vivo*-exposure of calves to streptomycin, actinomycin or the antibiotic supernatants together with *Bacteroides* spp. and *A. pyogenes* within an observation period of 20 days did not lead to any progressive lesions in the periodontium. This could be explained by the relatively short time of exposure and low frequency of applications as well as possibly insuitable antibiotic

concentrations in comparison to natural conditions. Nevertheless, it was confirmed *in vitro* that antibiotics produced by soil actinomycetes enhanced the adherence of CI-associated bacteria to the host epithelial cells and probably play a role as determinant factor in the pathogenesis of CI.

REFERENCES

- Baldani J.L., Baldani V.L.D., Xavier D.F., Body R.M. & Döbereiner Joh. 1982. Efeito da calagem no número de actinomicetos e na porcentagem de bactérias resistentes à estreptomicina na rizosfera de milho, trigo e feijão. *Revta Microbiol.*, S. Paulo, 13: 250-263.
- Berd D. 1973. Laboratory identification of clinically important aerobic actinomycetes. *Applied Microbiol.* 25: 665-681.
- Berwick P.G. 1988. Beta-lactam and aminoglycoside production from streptomycetes. *J. Appl. Bacteriol.* 64: 9-15.
- Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984a. Bacterial isolations from „Cara inchada“-lesions in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):73-77.
- Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984b. Bakteriologische Aspekte bei der „Cara inchada“ von Junggrindern in Brasilien. *Giessener Beiträge zur Entwicklungsforschung, Reihe I, Band 10, JLU Giessen.*
- Blobel H., Döbereiner J., Rosa I.V., Lima F.G.F. & Dutra I.S. 1987. Bakteriologische Untersuchungen an der „Cara inchada“, einer periodontalen Erkrankung bei Rindern in Brasilien. *Tierärztl. Umschau* 2: 152-157
- Döbereiner J. 1990. Towards the etiology of „Cara inchada“, a periodontal disease of young cattle in Brazil. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97: 482-490.
- Dowell Jr. V.R., Lombard G.L., Thompson E.S. & Armfield A.Y. 1977. Media for isolation, characterization and identification of obligately anaerobic bacteria. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- Dutra I.S., Matsumoto T. & Döbereiner J. 1993. Surtos de periodontite em bezerros („cara inchada“) associados ao manejo de solo. *Pesq. Vet. Bras.* 13(1/2):1-4.
- Eley A., Greenwood D. & O'Grady F. 1985. Comparative growth of *Bacteroides* species in various anaerobic culture media. *J. Med. Microbiol.* 19: 195-201.
- Gordon M.A. 1974. Aerobic pathogenic *Actinomycetaceae*, p. 175-188. In: Lennette E.H., Spaulding E.H. & Truant J.P. (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Kopp P.A., Dutra I.S., Döbereiner J., Schmitt M., Grassmann B. & Blobel H. 1996. Streptomycin increases the adherence on oral epithelial cells of *Bacteroides melaninogenicus* involved in the periodontal lesions of „Cara inchada“ in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 16(2/3):53-57.
- Land G.A. 1992. Identification of the aerobic actinomycetes, p. 4.0.1-4.1.9. In: Isenberg H.D. (ed.) *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol. 1, 1st ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr J.A. & Randall R.J. 1951. Protein measurement with the folin reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Perlman D. & O'Brien E. 1956. Utilization of carbohydrates by strains of *Streptomyces griseus*. *J. Bacteriol.* 72: 214-218.
- Pridham T.G. & Gottlieb D. 1948. The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* 56: 107-114.
- Pridham T.G. & Tresner H.D. 1974. Streptomycetaceae, p. 747-881. In: Buchanan R.E. & Gibbons N.E. (ed.) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Williams and Wilkins Company, Baltimore.

INTOXICAÇÃO POR SALINOMICINA EM BOVINOS¹

Aldo Gava², Angelica T. Barth Wouters³, Flademir Wouters³, Luiz Nizgoski⁴
e Claudio S. L. Barros⁵

ABSTRACT.- Gava A., Wouters A.T.B., Wouters F., Nizgoski L., & Barros C.S.L 1997. [Salinomycin poisoning in cattle.] Intoxicação por salinomicina em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 17(3/4):127-130. Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV/UEDESC, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88520-000, Brazil.

An outbreak of salinomycin toxicosis is reported. Out of a lot of 46 Simmental heifers 13 died after presenting incoordination, stiff gait, diarrhea, weight loss, muscle tremors, reduced tolerance to exercise, dyspnea and, occasionally, dark urine. Some animals were found dead or died when forced to move. Gross lesions consisted basically of pale areas in the myocardium, subepicardial hemorrhages, hydropericardium, hydrothorax, pulmonary congestion and edema, and, in some cases, pendent subcutaneous edema and nutmeg liver. Main histopathological changes consisted of necrosis and loss of myocardial fibers which were replaced by fibrous connective tissue. Approximately 9 days before the first deaths the heifers had been treated for eimeriosis with a premix containing 6% of salinomycin.

INDEX TERMS: Cardiomyopathy, cattle diseases, salinomycin, toxicosis.

SINOPSE.- Descreve-se um surto de intoxicação por salinomicina em bovinos. De um grupo de 46 novilhas Simmental, 13 morreram após manifestação de incoordenação, andar rígido, diarreia, emagrecimento, tremores musculares, cansaço após pequenos movimentos, dispnéia e, ocasionalmente, urina escura.

Os animais eram encontrados mortos ou morriam subitamente quando movimentados. As lesões macroscópicas consistiam basicamente de áreas pálidas no miocárdio, hemorragias subepicárdicas, hidropericárdio, hidrotórax, congestão e edema pulmonar e, em alguns casos, edema de declive e fígado de noz-moscada. Os principais achados microscópicos foram lesões multifocais de necrose e perda de fibras miocárdicas, que eram substituídas por tecido conjuntivo fibroso. Cerca de 9 dias antes do início da mortandade, as novilhas tinham sido medicadas para eimeriose, com um premix contendo 6% de salinomicina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Cardiomiopatia, doenças de bovinos, salinomicina, intoxicação.

INTRODUÇÃO

A salinomicina faz parte do grupo de antibióticos ionóforos, produtos metabólicos de *Streptomyces* spp., usados como aditivo de alimentos para controlar a coccidiose e estimular ganho de peso em aves, bovinos e outras espécies. São poliésteres carboxílicos, que formam complexos lipossolúveis, que facilitam o transporte iônico através de membranas biológicas e podem causar graves distúrbios celulares funcionais e morfológicos (Novilla 1992). A salinomicina foi colocada no mercado dos EUA em 1983, para controle da coccidiose de aves (Novilla 1992) e, na Alemanha, como promotor de crescimento e engorda de suínos em 1987 (Ganter et al. 1995). Intoxicações podem ocorrer por ingestão excessiva de antibióticos ionóforos em função de falhas na mistura da droga à ração (Ganter et al. 1989), engano nas dosagens (Rollison et al. 1987), uso em espécies não-alvo mais susceptíveis (Griffiths et al. 1989, Salles et al. 1994), ou uso em associação com drogas que potencializam seus efeitos (Ganter et al. 1995). Em aviários onde as aves recebem tratamento com antibióticos ionóforos, suas fezes podem conter níveis condideráveis da droga e camas desses aviários fornecidas como alimentação de ruminantes podem produzir a intoxicação (Perl et al. 1991). A salinomicina tem sido descrita como causa de intoxicação em equinos (Rollinson et

¹ Aceito para publicação em 14 de outubro de 1997.

Trabalho financiado pelo CNPq (Proc. 530198/93-2).

² Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV/UEDESC, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88520-000.

³ Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, mestrado em Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900 Santa Maria, RS.

⁴ Fundação ABC, PR 151, Km 155,5, Castro, PR 84166-990.

⁵ Depto Patologia, UFSM, Santa Maria, RS 97119-900.

al. 1987), suínos (Ganter et al. 1989) e perus (Griffiths et al. 1989).

A intoxicação por ionóforos pode causar morte rápida (Perl et al. 1991, Wouters et al. 1997a) ou pode haver evolução crônica, com sinais de insuficiência cardíaca congestiva (Radostits et al. 1995). Os sinais clínicos mais frequentes são anorexia, incoordenação, andar rígido e relutância em mover-se, diarreia, tremores musculares, mioglobínúria, depressão, emaciação e decúbito (Schweitzer et al. 1984).

Nos casos de morte após curso agudo, as lesões macroscópicas podem ser poucas ou ausentes (Rollinson et al. 1987, Griffiths et al. 1989, Wouters et al. 1997b). Em bovinos, o coração tende a ser o órgão mais afetado pela toxicose (Van Vleet et al. 1983, Perl et al. 1991) e as alterações caracterizam-se por áreas e estrias pálidas no miocárdio, e hemorragias subepicárdicas e miocárdicas (Van Vleet et al. 1983, Wouters et al. 1997a). Hidropericárdio, hidrotórax, edema pulmonar, dilatação cardíaca, ascite, fígado com aspecto de noz-moscada e edema subcutâneo de declive são observados com frequência (Schweitzer et al. 1984, Perl et al. 1991). O edema pulmonar geralmente apresenta distribuição interlobular. Essas alterações são secundárias à insuficiência cardíaca congestiva. São descritas também áreas pálidas em músculos esqueléticos, predominantemente naqueles de movimentos mais intensos como diafragma e quadríceps femoral (Wouters et al. 1997a).

As lesões histológicas do miocárdio constituem-se de degeneração e necrose de miofibras (Van Vleet et al. 1983, Schweitzer et al. 1984, Wouters et al. 1997a,b) acompanhadas, dependendo do período de evolução, de infiltração por macrófagos e proliferação de fibroblastos entre as fibras. Mineralização ocorre raramente, e quando ocorre é discreta. Há perda de miofibras com substituição por tecido fibroso (Van Vleet et al. 1983). Necrose e congestão centrolobulares podem ser observadas no fígado, associadas à fibrose nos casos mais crônicos de insuficiência cardíaca (Schweitzer et al. 1984).

MATERIAL E MÉTODOS

Dados relacionados à apresentação clínica e lesões macros-cópicas foram colhidos na propriedade onde o surto ocorreu. Necropsias de 6 bovinos foram realizadas e fragmentos de vários órgãos foram colhidos, processados e corados com hematoxilina e eosina. Secções do músculo esquelético, miocárdio e fígado foram coradas pela técnica de Masson para tecido conjuntivo.

RESULTADOS

O surto ocorreu no município de Castro, Paraná, durante o período de janeiro a abril de 1994, em um lote de 46 novilhas Simmental de 2 a 3 anos importado da Argentina. As novilhas eram mantidas em confinamento, alimentadas com silagem pré-secada de azevém, feno de aveia, silagem de milho, ração comercial e água à vontade. Cerca de 15 dias após a chegada ao confinamento, algumas novilhas apresentaram diarreia, sendo feito diagnóstico de eimeriose. Todo o lote foi então medicado com 7,920kg de um premix contendo 6% de salinomicina e adicionado a 59 kg de fubá. A mistura foi

fornecida em cocho comunitário, na proporção de 0,5 kg/vaca/dia, por 3 dias consecutivos. Após 6 dias do término da ingestão da mistura, vários animais manifestaram diarreia, andar lento com os membros rígidos, anorexia, emagrecimento, sinais de cansaço e taquipnéia após movimentação e um dos animais tinha urina escura. Alguns animais, manifestaram ainda ingurtação da jugular e edema de declive (Fig. 1). Em um período de 8 dias, morreram nove novilhas. Posteriormente morreram mais quatro animais, sendo que o último morreu 3 meses após a ingestão do premix. Esses animais que morreram, foram encontrados mortos ou morreram repentinamente após movimentação.

À necropsia, as alterações mais frequentemente observadas foram congestão e edema pulmonar, aumento do volume cardíaco, áreas pálidas no miocárdio (Fig. 2), avermelhamento da mucosa do intestino delgado, fígado de noz-moscada, edema da vesícula biliar, hidropericárdio, hemorragias subepicárdicas e, em alguns animais, havia hidrotórax, ascite e edema subcutâneo de declive.

As alterações microscópicas mais consistentes nos casos examinados foram necrose e perda de fibras cardíacas com proliferação de tecido conjuntivo fibroso (6 novilhas) (Fig. 3), necrose, congestão e hemorragias centrolobulares no fígado (3 novilhas), associadas a fibrose (1 novilha), necrose de músculos esqueléticos (3 novilhas) e congestão e edema pulmonares (1 novilha).

DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por antibiótico ionóforo foi baseado na epidemiologia, nos sinais clínicos, nas lesões macro e microscópicas e na verificação de níveis considerados tóxicos de salinomicina.

A dose de salinomicina recomendada para o tratamento de bovinos é de 0,6 mg/kg de peso vivo. No presente surto, no entanto, foi constatado que a dose inicialmente estabelecida totalizou 21,3 mg/kg, que é cerca de 3,5 vezes maior que a dose recomendada.

O fornecimento em cocho comunitário permitiu que alguns animais ingerissem maior quantidade da droga, enquanto que outros não consumiram a quantidade estipulada de 1,5 kg da mistura. A diferença entre as quantidades ingeridas individualmente pode se explicar pela dominância social de alguns animais, bem como, a não aceitação da mistura, manifestada por várias novilhas. Somando-se a estes fatores deve-se considerar também as variações quanto a suscetibilidade individual à intoxicação (Wouters et al. 1997a,b). As variações na evolução do quadro clínico da toxicose devem estar relacionadas às diferentes quantidades ingeridas por animal.

A apresentação de mortes súbitas associadas à movimentação prévia dos animais e o achado de edemas na forma de hidropericárdio, hidrotórax, edemas subcutâneos e pulmonar, ascite e fígado noz-moscada estão relacionados a insuficiência cardíaca. Isto é explicado pelas lesões encontradas no miocárdio, órgão mais consistentemente afetado.



Fig. 1. Bovino com jugular ingurgitada e edema submandibular, na intoxicação espontânea por salinomicina.

Fig. 2. Coração mostrando áreas pálidas no miocárdio, na intoxicação espontânea por salinomicina (Bov. SAP Lages 5397).

Fig. 3. Perdas de miofibras e fibrose cardíaca na intoxicação espontânea por salinomicina (Bov. SAP, Lages 5400). HE, obj. 16.

A perda de miofibras cardíacas associada à substituição por tecido conjuntivo foi evidenciada pelo tricrômico de Masson. A proliferação de tecido conjuntivo em consequência à necrose e perda de miofibras é comum no miocárdio, onde a regeneração é bastante limitada.

A intoxicação por antibióticos ionóforos em bovinos deve ser diferenciada de outras condições que induzam à morte súbita, lesões cardíacas e lesões musculares. O grupo de plantas que causam morte súbita sem prévias alterações clínicas, não causam lesões sobre o miocárdio. No Brasil, a única planta conhecida até o presente momento, que causa lesões cardíacas são *Tetrapteryx* spp. (Tokarnia et al. 1989). Lesões sobre o músculo esquelético e cardíaco são descritas na intoxicação por *Senna occidentalis* (Barros 1993). No entanto, na intoxicação por esta planta, a principal lesão descrita ocorre no músculo esquelético, enquanto que, na intoxicação por salinomicina, as lesões predominantes foram observadas no miocárdio. Uma investigação sobre a presença destas plantas e o histórico, bem como algumas diferenças nos aspectos clínico e morfológico poderão ser úteis para o diagnóstico diferencial. Na deficiência de vitamina E e/ou selênio são atingidos animais jovens, em crescimento rápido, com predisposição maior naqueles em que as mães recebem alimentos de baixa qualidade. Essa doença afeta músculos esqueléticos e cardíacos que apresentam áreas brancas

correspondentes à necrose associada à abundante mineralização dos tecidos lesionados (Hulland 1993).

Agradecimentos.- Aos veterinários Aldori José Corso e José Delmiro Solak e à Cooperativa Central de Castrolanda, Castro, PR, pelo apoio na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Barros C.S.L. 1993. Intoxicações por plantas que afetam o sistema muscular, p. 201-213. In: Riet-Correa F, Mendez M.C. & Schild A.L. (ed.) Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Hemisferio Sur, Montevideo.
- Ganter M., Wendt M. & Kuczka A. 1989. Salinomycinvergiftung in einem Schweinemastbestand. Prakt. Tierarzt. 10:7-12.
- Ganter M., Kieckhöfer H., M. & Kuczka A. 1995. Intoxicação aguda por salinomicina/tiamulin em suínos. Hora Vet., Porto Alegre, 15(85):12-16.
- Griffiths G.L., Hillier P. & Sutherland R.J. 1989. Salinomycin poisoning in point-of-lay turkeys. Aust. Vet. J. 66(10):326-329.
- Hulland T.J. 1993. Muscle and tendon, p. 183-265. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. 4th ed. Academic Press, San Diego.
- Novilla M.N. 1992. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. Vet. Hum. Toxicol. 34(1):66-70.
- Perl S., Shlosberg A., Hoida G., Davidson M., Yakobson B. & Orgad U. 1991. Cardiac failure in beef cattle fed poultry litter. Vet. Rec. 129: 35-36.
- Radostits O.M., Blood D.C. & Gay C. C. 1995. Veterinary Medicine. 8th ed. Baillière Tindall, London. 1763 p.

- Rollinson J., Taylor F.G.R. & Chesney J.N. 1987. Salinomycin poisoning in horses. *Vet. Rec.* 121:126-128.
- Salles M.W.S., Barros C.S.L. & Barros S.S. 1994. Ionophore antibiotic (narasin) poisoning in rabbits. *Vet. Hum. Toxicol.* 36(5):437-444.
- Schweitzer D., Kimberling G., Spraker T. & Sterner F.E. 1984. Accidental monensin sodium intoxication of feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184(10):1273-1276.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Döbereiner J., Consorte L.B. & Gava A. 1989. *Tetrapteryx* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. *Pesq. Vet. Bras.* 9(1/2):23-44.
- Van Vleet J.F., Amstutz H.E., Weirich W.E., Rebar A.H. & Ferrans V.J. 1983. Clinical, clinico-pathological and pathological alterations in acute monensin toxicosis in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 44(11):2133-2144.
- Wouters A.T.B., Wouters F. & Barros C.S.L. 1997a. Intoxicação experimental por narasina em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 17(2):82-88.
- Wouters F., Wouters A.T.B. & Barros C.S.L. 1997b. Intoxicação experimental por narasina em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 17(3/4):89-95.

