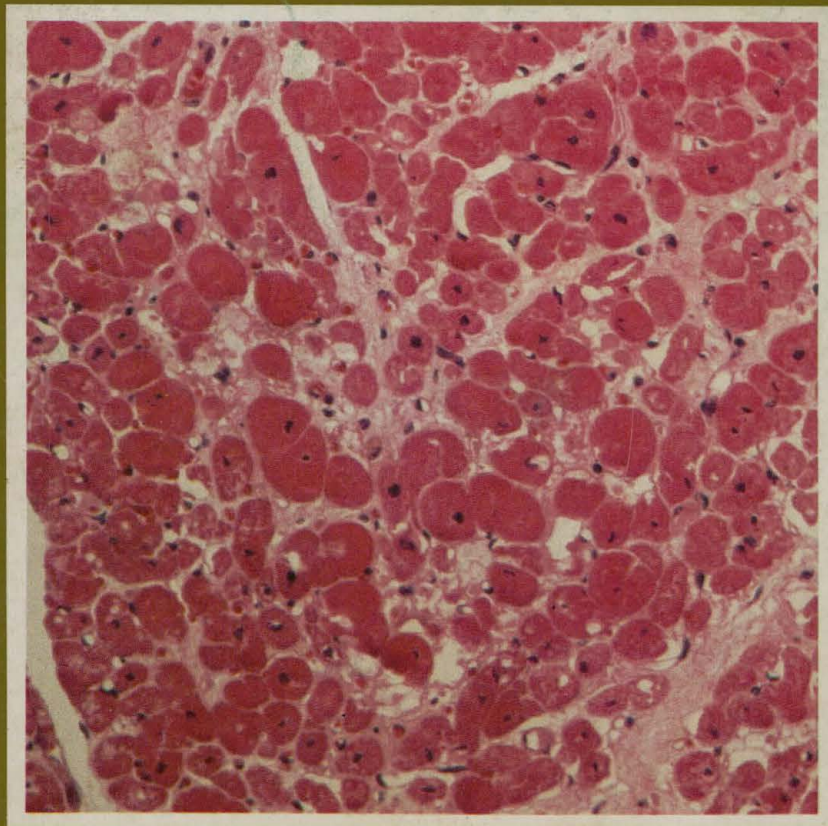


ISSN 0100-736X

Volume 14 Números 2/3
Abr/Set 1994

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. 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, 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:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adayr Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

Assessoria Científica (*Advisory Board*)

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

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, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970 (Brasil); Tel. (021) 682-1082; Fax (021) 682-1230.

A revista é editada dentro do

Programa de Apoio a Publicações Científicas

SCT/PR



em colaboração com o

Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

Figura da capa: Necrose de coagulação de fibras cardíacas e presença de edema intersticial, na intoxicação experimental por *Nerium oleander* em ovino. (Armién et al., p. 85)

Cover illustration: Coagulation necrosis of heart muscle fibers and interstitial oedema in experimental Nerium oleander poisoning of sheep. (Armién et al., p. 85)

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 14

Abril/Setembro 1994

Números 2/3

SUMÁRIO

Comparação do diagnóstico alérgico da tuberculose bovina entre a tuberculinização comparada e o teste de Stormont. <i>Langenegger J. & Herrmann G.P.</i>	49-55
Intoxicação experimental por <i>Piptadenia macrocarpa</i> (Leg. Mimosoideae) em bovinos. <i>Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J.</i>	57-63
Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na Baixada Fluminense. <i>Silva H.K., Vianna L.G. & Barbosa J.D.</i>	65-68
Experimentos sobre a toxidez de algumas plantas ornamentais em ovinos. <i>Armién A.G. & Tokarnia C.H.</i>	69-73
Diferenças antigênicas de clones de <i>Moraxella bovis</i>. <i>Schramm R.C. & Araújo F.L.</i>	75-78
Ocorrência da paraqueratose hereditária (Linhagem letal A-46) no Brasil. <i>Peixoto P.V., Moraes S.S. & Lemos R.A.</i>	79-84
Intoxicação experimental por <i>Nerium oleander</i> (Apocinaceae) em ovinos. <i>Armién A.G., Peixoto P.V., Barbosa J.D. & Tokarnia C.H.</i>	85-93

CONTENTS

Comparison of the allergic diagnosis of bovine tuberculosis using the comparative and Stormont tests. <i>Langenegger J. & Herrmann G.P.</i>	49-55
Experimental poisoning by <i>Piptadenia macrocarpa</i> (Leg. Mimosoideae) in bovines. <i>Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J.</i>	57-63
Rumen function tests in goats under pasture conditions in the Baixada Fluminense. <i>Silva H.K., Vianna L.G. & Barbosa J.D.</i>	65-68
Experiments on the toxicity of some ornamental plants in sheep. <i>Armién A.G. & Tokarnia C.H.</i>	69-73
Antigenic differences of clones of <i>Moraxella bovis</i> . <i>Schramm R.C. & Araújo F.L.</i>	75-78
Occurrence of inherited parakeratosis (Lethal trait A-46) in Brazil. <i>Peixoto P.V., Moraes S.S. & Lemos R.A.</i>	79-84
Experimental poisoning of sheep by <i>Nerium oleander</i> (Apocinaceae). <i>Armién A.G., Peixoto P.V., Barbosa J.D. & Tokarnia C.H.</i>	85-93

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.

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

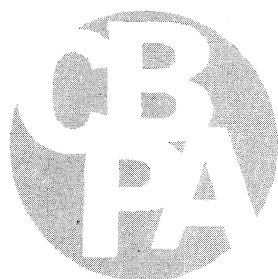
CDU 619:616 (81) (05)

Publicidade: Neotécnica Editora Ltda, Av. Passos 115, s/501
20051-040 Rio de Janeiro, Rj tel. (021) 263-7561

**PESQUISA
VETERINÁRIA
BRASILEIRA**

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 14, 1994



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.

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: Severo Sales de Barros, Santa Maria
Osmane Hipólito, São Paulo
Jerome Langenegger, Rio de Janeiro
Hugo Barboza de Rezende, Rio de Janeiro
Adayr Mafuz Saliba, São Paulo
Jefferson Andrade dos Santos, Niterói
Carlos Hubinger Tokarnia, Rio de Janeiro*

Assessoria Científica (Advisory Board)

C.C.P. Arteché, <i>Porto Alegre</i>	L. Grisi, <i>Rio de Janeiro</i>	A. Mayr, <i>München</i>
E.H. Birgel, <i>São Paulo</i>	E. Grunert, <i>Hannover</i>	H. Merkt, <i>Hannover</i>
H. Blobel, <i>Giessen</i>	J.A. Guimarães, <i>Rio de Janeiro</i>	G.E. Moya, <i>Rio de Janeiro</i>
P.G. Cabral, <i>Porto Alegre</i>	G. Habermehl, <i>Hannover</i>	R. Reis, <i>Belo Horizonte</i>
A.F.P. Castro, <i>Campinas</i>	E. Hofer, <i>Rio de Janeiro</i>	I.B.M. Sampaio, <i>Belo Horizonte</i>
M.S. Dayrell, <i>Coronel Pacheco</i>	M.R. Honer, <i>Rio de Janeiro</i>	H.G. Schatzmayr, <i>Rio de Janeiro</i>
G. Dirksen, <i>München</i>	M. Mariano, <i>São Paulo</i>	L.-CL. Schulz, <i>Hannover</i>

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. 14, No. 1, Jan./Mar. 1994

- Identification of First Stage Larvae L₁ of Bovine Nematodes.** [Identificação de larvas de primeiro estágio de nematódeos gastrintestinais de bovinos.] *R.K. Reinecke & N.D. Reinecke* 1-4
- Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae) em caprinos.** [Experimental poisoning of goats by *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae).] *J.D. Barbosa, A.G. Armien & C.H. Tokarnia* 5-13
- Aborto em bovinos causado pela ingestão de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae).** [Abortion in bovines caused by ingestion of *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae).] *L. Stolf, A. Gava, M.S. Varaschin, D.S. Neves, A.J. Mondadori & L.S. Scolari* 15-18
- Avaliação de um teste imunoenzimático competitivo na diferenciação de anticorpos induzidos pela vacina B19, no diagnóstico sorológico da brucelose bovina.** [Evaluation of a competitive enzyme immunoassay in the differentiation of antibodies induced by strain 19 vaccine, in the serodiagnosis of bovine brucellosis.] *L.A. Mathias, A.P. MacMillan, I. Greiser-Wilke & V. Moennig*..... 19-23
- Microelementos minerais e a “cara inchada” dos bovinos.** [Microelements and the periodontal disease “cara inchada” of cattle.] *S.S. Moraes, G.N. Silva & J. Döbereiner* 25-33
- Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida pela planta calcinogênica *Solanum malacoxylon*.** [Gastropathy in rabbits experimentally induced by the calcinogenic plant *Solanum malacoxylon*.] *J.A. Moraña, S.S. Barros, D. Driemeier & Y.E. Flôres* 35-42
- “Cara inchada” dos bovinos e deficiências minerais** [The periodontal disease “cara inchada” of cattle and mineral deficiencies]. *I.V. Rosa & J. Döbereiner*..... 43-48

Vol. 14, Nos. 2/3, Abr./Set. 1994

- Comparação do diagnóstico alérgico da tuberculose bovina entre a tuberculinização comparada e o teste de Stormont.** [Comparison of the allergic diagnosis of bovine tuberculosis using the comparative and Stormont tests.] *J. Langenegger & G.P. Herrmann* 49-55
- Intoxicação experimental por *Piptadenia macrocarpa* (Leg. Mimosoideae) em bovinos.** [Experimental poisoning by *Piptadenia macrocarpa* (Leg. Mimosoideae) in bovines.] *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner* 57-63
- Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na Baixada Fluminense.** [Rumen function tests in goats under pastures conditions in the Baixada Fluminense.] *H.K. Silva, L.G. Vianna & J.D. Barbosa* 65-68
- Experimentos sobre a toxidez de algumas plantas ornamentais em ovinos.** [Experiments on the toxicity of some ornamental plants in sheep.] *A.G. Armien & C.H. Tokarnia* 69-73

Diferenças antigênicas de clones de <i>Moraxella bovis</i>. [Antigenic differences of clones of <i>Moraxella bovis</i> .] <i>R.C. Schramm & F.L. Araújo</i>	75-78
Ocorrência da paraqueratose hereditária (Linhagem letal A-46) no Brasil. [Occurrence of inherited parakeratosis (Lethal trait A-46) in Brazil.] <i>P.V. Peixoto, S.S. Moraes & R.A. Lemos</i>	79-84
Intoxicação experimental por <i>Nerium oleander</i> (Apocinaceae) em ovinos. [Experimental poisoning of sheep by <i>Nerium oleander</i> (Apocinaceae).] <i>A.G. Armién, P.V. Peixoto, J.D. Barbosa & C.H. Tokarnia</i>	85-93

Vol. 14, No. 4, Out./Dez. 1994

Aspectos biológicos e ecológicos de <i>Desmodus rotundus rotundus</i> (Chiroptera) no Nordeste do Brasil. [Biological and ecological aspects of <i>Desmodus rotundus rotundus</i> (Chiroptera) in northeastern Brazil.] <i>O.A. Alencar, G.A.P. Silva, M.M. Arruda, A.J. Soares & D.Q. Guerra</i>	95-103
Intoxicação experimental por <i>Leucaena leucocephala</i> (Leg. Mimosoideae) em coelhos. [Experimental poisoning of rabbits by <i>Leucaena leucocephala</i> (Leg. Mimosoideae).] <i>P. Malafaia, A.G. Armién & P.V. Peixoto</i>	105-109
Aspectos clínico-patológicos complementares da intoxicação por algumas plantas tóxicas brasileiras. [Complementary clinical-pathological aspects of poisoning by some Brazilian toxic plants.] <i>C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & P.V. Peixoto</i>	111-122
Intoxicação experimental por <i>Pseudocalymma elegans</i> (Bignoniaceae) em ovinos. [Experimental poisoning of sheep by <i>Pseudocalymma elegans</i> (Bignoniaceae).] <i>L.B. Consorte, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia</i>	123-133
Ocorrência do carbúnculo hemático em animais no Brasil [Occurrence of anthrax in animals in Brazil, a review]. <i>J. Langenegger</i>	135-136

ÍNDICE DOS AUTORES

Author Index

Alencar O.A. 95	Herrmann G.P. 49	Reinecke R.K. 1
Araújo F.L. 75	Langenegger J. 49, 135	Rosa I.V. 43
Armién A.G. 5, 69, 85, 105	Lemos R.A. 79	Schramm R.C. 75
Arruda M.M. 95	MacMillan A.P. 19	Scolari L.S. 15
Barbosa J.D. 5, 65, 85	Malafaia P. 105	Silva G.A.P. 95
Barros S.S. 35	Mathias L.A. 19	Silva G.N. 25
Consorte L.B. 123	Moennig V. 19	Silva H.K. 65
Döbereiner J. 25, 43, 57, 111	Mondadori A.J. 15	Soares A.J. 95
Driemeier D. 35	Moraes S.S. 25, 79	Stöf L. 15
Flôres Y.E. 35	Moraña J.A. 35	Tokarnia C.H. 5, 57, 69, 93, 111, 123
Gava A. 15	Neves D.S. 15	Varachin M.S. 15
Greiser-Wilke I. 19	Peixoto P.V. 57, 79, 85, 105, 111, 123	Vianna L.G. 65
Guerra D.P. 95	Reinecke N.D. 1	

**XXV Congress of the World Veterinary Association (WVA) and XX Congress of the World
Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Yokohama, Japan, 3-9th September
1995**

(Secretariat for WVC'95, c/o Sankei Convention, Sankei Bldg 10F, 1-7-2, Chiyoda-ku, Tokyo 100, Japan;
Phone 81-3-3273-2084, Fax 81-3-3273-2439)

15º Encontro de Pesquisas Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, 11-12.11.1994

(Contatos: Dr. Flávio Ruas de Moraes, Departamento de Patologia Veterinária, FCAVJ/Unesp, Rodovia Carlos Tonanni, Km 5, Jaboticabal, SP 14870-000; Tel. (0163) 23-2500 ramal 117, Fax (0163) 22-2978 e 22-4275)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em original e uma cópia, escritos em português ou inglês, devem ser enviados ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 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 Prévias", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

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

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, 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 número 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 (IBICT-ABNT), (American Institute for Biological Sciences) e/ou (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 coloca-

dos 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 referências 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; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro, seguido de , mais o ano; se dois trabalhos não distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências); inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; e esclarecimento será acrescentado apenas ao final das respectivas referências, na forma: ; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e 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 pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último número 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; para 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 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 poderão 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.

6. Aos autores, serão fornecidas 50 separatas do seu trabalho publicado.

COMPARAÇÃO DO DIAGNÓSTICO ALÉRGICO DA TUBERCULOSE BOVINA ENTRE A TUBERCULINIZAÇÃO COMPARADA E O TESTE DE STORMONT¹

JEROME LANGENEGGER² e GEDER P. HERRMANN³

ABSTRACT.- Langenegger J. & Herrmann G.P. 1994. [Comparison of the allergic diagnosis of bovine tuberculosis using the comparative and Stormont tests.] Comparação do diagnóstico alérgico da tuberculose bovina entre a tuberculinização comparada e o teste de Stormont. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3):49-55. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

The comparison of the comparative tuberculin test and the Stormont method, performed at the same groups of animals, gave highly convergent results in bovines free from tuberculosis and also in infected groups with strong reactors. In weak reactors the results were highly discordant. A group of 21 bovines with negative results at the comparative tuberculin test, but reacting to avian tuberculin, was negative with the Stormont test. Twenty six bovines which reacted strongly positive (4.0mm or more) at the comparative test, with or without non-specific reactions, showed also positive reactions in 88.4%, suspicious reactions in 7.7% and negative reactions in 3.9% at the Stormont test. A group of 19 bovines, initially tested by the Stormont method and considered as infected, when retested by the comparative test after 90 days, showed 84.2% positive reactors and 15.7% negative ones. Groups of bovines with suspicious (2.0 to 2.9mm) or weakly positive reactions (3.0 to 3.9 mm) at the comparative test, showed 20.0% positive, 20.0% suspicious and 60.0% negative reactors in the suspicious group and 53.3% positive, 13.3% suspicious and 33.3% negative reactions in the weakly positive reactors by the Stormont test. Another group of bovines gave suspicious reactions when initially tested by the Stormont method, but showed 50.0% positive, 9.3% suspicious and 40.6 negative reactions when retested by the comparative test. The discordant results of the present and other investigations do not allow to recommend the Stormont test for use in routine procedures for the diagnosis of bovine tuberculosis before a critical evaluation has been made, with slaughter and bacteriological examination of reacting animals.

INDEX TERMS: Comparative tuberculin test, Stormont test, bovines, comparison.

SINOPSE.- A comparação entre a tuberculinização intradérmica comparada (tuberculina bovina e aviária) e a tuberculinização dupla (com 7 dias de intervalo) conhecida por teste de Stormont, revelou resultados altamente concordantes em grupos de bovinos sem tuberculose e em grupos de animais infectados com fortes reações alérgicas, no entanto, apresentou resultados bem discordantes nos reagentes suspeitos e fracamente positivos em ambos os testes cujas causas não puderam ser esclarecidas por exames necroscópicos e bacteriológicos por razões econômicas.

Em um grupo de 21 bovinos com resultados negativos na tuberculinização comparada, mas portadores de reações à tuberculina aviária, o teste de Stormont revelou também resultados negativos. Em 26 bovinos reagentes positivos no teste comparativo com aumento de espessura da dobra da pele (AEDP) acima de 4,0 mm, com ou sem reações inespecíficas, o teste de Stormont acusou também 88,4% de reações positivas, 7,7% reações

suspeitas e 3,9% reações negativas. Em outro experimento, um grupo de 19 bovinos reagentes positivos no teste de Stormont, quando retestado, 90 dias depois pelo teste comparativo, este revelou 84,2% de reagentes positivos e 15,7% de reações negativas.

Em grupos de bovinos com reações suspeitas (AEDPs entre 2,0 e 2,9 mm) ou fracamente positivos (AEDPs entre 3,0 e 3,9 mm) no teste comparativo, o teste de Stormont revelou 20,0% de reações positivas, 20,0% de reações suspeitas e 60,0% negativas, e 53,3% positivas, 13,3% suspeitas e 33,3% negativas respectivamente. Num grupo de bovinos que no teste de Stormont acusou reações suspeitas e que, 90 dias após foi retestado pela tuberculinização comparativa, esta acusou 50,0% de reagentes positivos, 9,3% suspeitos e 40,6% negativos.

Os resultados discordantes da presente pesquisa e da de outras não recomendam o uso rotineiro do teste de Stormont no diagnóstico da tuberculose bovina antes de uma avaliação científica criteriosa, com abate e exames bacteriológicos de animais reagentes.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Teste comparativo de tuberculina, teste de Stormont, bovinos, comparação.

¹ Aceito para publicação em 22 de fevereiro de 1994.

² Setor de Bacteriologia, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970.

³ Departamento de Microbiologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

A descoberta da reação imunológica alérgica aguda, tipo booster, em bovinos tuberculosos quando retestados 7 dias após, levou Kerr et al. (1946a) a preconizarem o uso do chamado teste de Stormont para esclarecer o diagnóstico da tuberculose crônica ou já muito evoluida, nas fases consideradas pre-anérgicas ou anérgicas, casos em que a tuberculinização convencional estaria sujeita a falhas.

O teste de Stormont tornou-se método oficial da tuberculinização na Irlanda do Norte em 1949 (Kerr et al. 1949), no entanto, em 1958 foi substituído pela tuberculinização intradérmica comparativa (Ritchie 1959).

Como a literatura registra resultados bastante discordantes entre os testes da tuberculinização intradérmica simples (TIS), da comparativa (TIC) e do teste de Stormont, e, como as três modalidades vem sendo utilizadas ainda no Brasil, julgamos oportuno, inicialmente, avaliar comparativamente o TIC e o teste de Stormont.

Revisão de literatura

Kerr et al. (1946a) ao tentar provocar a dessensibilização alérgica em bovinos com tuberculose através de sucessivas inoculações intradérmicas de tuberculina, em diferentes intervalos de tempo, observaram um fenômeno imunológico novo. Este se caracterizava por aumentos agudos, tipo booster, da sensibilidade da reação alérgica que alcançava seu auge 24 horas após a 2ª inoculação da tuberculina, feita no mesmo local da pele após um intervalo de sete dias.

Esta descoberta levou os autores a preconizarem o uso deste teste duplo como meio de reconhecer bovinos com tuberculose crônica ou já muito evoluida que nos testes convencionais já não reagem mais a ponto de satisfazer o diagnóstico alérgico da tuberculose.

A sensibilidade e a especificidade do teste de Stormont foram avaliadas comparativamente pelos autores (Kerr et al. 1946b, 1949) em 600 bovinos de abate, utilizando-se, simultaneamente, a tuberculinização intradérmica simples (TIS), a comparativa (TIC) e o teste de Stormont (TS) seguida dos exames anátomo-patológico e bacteriológico, estes últimos considerados referência.

O resultado desta pesquisa revelou que o TS era o mais sensível e mais específico conforme mostra o Quadro 1.

Quadro 1. Resultado comparativo das três modalidades de tuberculinização em 600 bovinos de abate

Modalidade do teste alérgico	Resultados discordantes	Falsas reações positivas	Falsas reações negativas
TIS	11,2 %	6,7	4,5 %
TIC	10,2 %	4,2	6,0 %
TS	3,3 %	1,3	2,0 %

Os mesmos autores também observaram que a supressão imunológica peri-parto era menos influenciada pelo teste de Stormont, bem como, a sensibilização por *Mycobacterium avium* não interferia no resultado do tes-

te, sendo dispensável o uso simultâneo da tuberculina aviária (Kerr et al. 1949).

Na mesma ocasião, os autores recomendaram que o TS não deveria ser utilizado em bovinos portadores de dermatite tuberculóide porque esta infecção provocaria falsas reações positivas. A dermatite tuberculóide, então conhecida como "skin lesions" ou "skin tuberculosis" é uma micobacteriose cujo agente etiológico não é cultivável e a reprodução experimental é difícil (Traum 1916, Edle & Phelps 1929, Robertson & Hole 1937, Krantz 1938, Thomann 1949).

No Brasil, a dermatite tuberculóide ainda não foi registrada oficialmente, no entanto, sua ocorrência já foi observada em nosso meio (Langenegger, dados não publicados).

Na Nova Zelândia, Jong & Ekdahl (1979) compararam várias técnicas de diagnóstico da tuberculose em bovinos que entre 60 e 70 dias antes haviam sido tuberculinizados pelo TIS na prega ano-caudal, como teste de triagem. Os resultados desta pesquisa divergiram muito dos encontrados por Kerr et al. (1946a,b, 1949). A título de exemplo extraiu-se os resultados da tuberculinização pelo TIS, TIC e TS com os critérios de interpretação comumente usados nestes testes, conforme mostra o Quadro 2.

Quadro 2. Resultados das três modalidades da tuberculinização intradérmica com os percentuais de falsos reagentes positivos e negativos dentre os 362 bovinos examinados

Modalidade do teste alérgico	Critérios de discordantes	Reagentes falsos positivos	Reagentes falsos negativos
TIS	AEDP ^a de 4,0 mm ou >	30 %	30 %
TIC	AEDP de 3,0 mm ou >	12 %	42 %
TS	AEDP de 5,0 mm ou >	15 %	54 %

^aAEDP - Aumento da espessura da dobra da pele.

Ao analisarem o resultado do TS, os autores mostraram que dos 26 bovinos portadores da dermatite tuberculóide apenas 2 (7,7%) animais apresentaram reações falsas positivas com AEDP igual ou superior a 5 mm e 10 (38,5%) com reações entre 3,0 e 5,0 mm.

No Brasil, Gottschalk et al. (1972) compararam as técnicas do TIS e do TS, aplicados na pele da tábua do pescoço, usando a tuberculina Velha de Koch (OT). Na interpretação do TS, os autores adicionaram a categoria de reagentes suspeitos com AEDPs entre 3,0 e 5,0 mm. Dos 241 bovinos submetidos aos dois testes, obtiveram os resultados apresentados no Quadro 3.

Quadro 3. Resultados dos testes intradérmico simples e de Stormont

Testes	Reagentes			Total
	Positivos	Negativos	Suspeitos	
TIS	83	110	48	241
TS	89	129	23	241

Foram sacrificados 59 bovinos dentre os reagentes suspeitos e positivos e, baseado nas lesões encontradas, houve 28,8% de erro no TIS e apenas 6,7% de falhas no TS.

MATERIAL E MÉTODOS

Os rebanhos utilizados na presente pesquisa pertenciam a produtores de leite tipo B e que adotavam o manejo comumente usado nas bacias leiteiras dos Estado de São Paulo e no Sul de Minas Gerais, mantendo os animais em regime de pasto com arraçoamento complementar no estábulo. Tratava-se de rebanhos com tuberculose ou com problemas de reações inespecíficas que mascaravam o diagnóstico alérgico.

As técnicas utilizadas no diagnóstico alérgico da tuberculose foram as seguintes:

1. Tuberculinização intradérmica comparativa (TIC)

Consistiu na inoculação simultânea da tuberculina aviária PPD com 2.500 UI, na dose de 0,1 ml e da tuberculina bovina PPD com 5.000 UI, também na dose de 0,1 ml, por via intradérmica, na região do omoplata antes e depois da espinha acromiana da escápula, a cerca de 15 cm de distância no sentido horizontal. Antes da inoculação das tuberculinas foi mensurada a espessura da dobra da pele com o cutímetro da marca Hauptner. As tuberculinas foram inoculadas com seringas da marca McIntock. A leitura, feita 72 horas depois, com nova medida da dobra da pele, foi complementada com dados sobre a reação local (espessura em aumento térmico e dor, presença de exsudação ou necrose e de estrias decorrentes da linfangite em direção ao linfonodo pré-escapular).

A interpretação das reações da tuberculinização baseou-se nos critérios adotados pelo Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária (MAARA) conforme mostra o Quadro 4 (Langenegger et al. 1991).

Quadro 4. Chave de interpretação da tuberculinização intradérmica comparativa em uso no Brasil

Teste comparativo		Diferença do AEDP ^c (mm)	Resultado da tuberculização
TB ^a	TA ^b		
TB menor que TA		-	Negativo
TB maior que TA		0,0 a 1,9	Negativo
TB maior que TA		2,0 a 2,9	Suspeito
TB maior que TA		3,0 ou mais	Positivo

Reação da tuberculina bovina.
 Reação da tuberculina aviária.
 Aumento da espessura da dobra da pele.

2. Tuberculinização intradérmica dupla, conhecida por teste de Stormont (TS)

Consistiu no inoculação dupla da tuberculina PPD bovina com 5.000 UI na dose de 0,1 ml, por via intradérmica, no mesmo local da região do omoplata, há cerca de 8 cm da crista acromiana da escápula. A primeira inoculação foi feita sem a medida da espessura de dobra da pele.

Decorridos 7 dias, foi feita a medida da espessura da dobra da pele no local da 1ª inoculação e logo, no mesmo lugar, foi feita a 2ª inoculação de tuberculina bovina, na mesma dose da 1ª. A leitura desta reinoculação foi realizada 24 horas após, mediante a nova mensuração da dobra da pele, e da verificação do aumento térmico e da dor local, bem como da presença de exsudato ou necrose e das estrias direcionadas para o linfonodo pré-escapular.

Quadro 5. Chave de interpretação do teste de Stormont

Teste de Stormont AEDP ^a (mm)	Resultado da tuberculização
0,0 a 3,0	Negativo
3,1 a 5,0	Suspeito
5,0 ou mais	Positivo

^a Aumento da espessura da dobra da pele.

O resultado do teste de Stormont foi obtido pelo aumento da espessura de dobra da pele (AEDP), cujos critérios, visto no Quadro 5, foram adotados por Correa & Correa (1992).

Quadro 6. Resultados obtidos em 21 bovinos negativos com reação inespecífica no TIC e submetidos ao TS

Número ou nome	Teste Comparativo			Teste de Stormont	
	AEDP ^a TA (mm)	AEDP ^b TB (mm)	TB-TA ^c (mm)	AEDP ^c TB (mm)	Resultado
4	3,4	3,8	0,4	1,6	Negativo
26	2,5	3,8	1,3	1,8	"
46	2,9	3,3	0,4	2,5	"
48	2,3	3,3	1,0	2,0	"
53	1,4	3,3	1,9	2,5	"
66	1,6	3,6	2,0	1,9	"
86	2,8	3,3	0,5	2,3	"
116	3,5	3,3	-0,2	1,6	"
124	2,3	3,3	1,0	1,0	"
136	2,6	3,5	0,9	1,0	"
240	2,4	3,3	0,9	2,5	"
336	2,3	3,9	1,6	3,0	"
394	2,3	4,0	1,7	2,3	"
443	2,6	4,0	1,4	2,9	"
508	3,5	3,4	-0,1	2,0	"
Dama	3,6	4,9	1,3	2,4	"
Dinda	3,1	3,5	0,4	1,0	"
Nacional	2,1	3,8	1,7	2,6	"
Invicta	4,3	4,7	0,4	1,8	"
Gertrudes	4,3	3,5	-0,8	1,5	"
Moleza	1,4	0,6	-0,8	-0,5	"
Média	2,72	3,52	0,80	1,93	

^a Aumento de espessura da dobra da pele na tuberculina aviária.
^b Aumento de espessura da dobra da pele na tuberculina bovina.
^c Diferença entre aumento da espessura da dobra da pele entre a tuberculina bovina e aviária.
^d Aumento de espessura da dobra da pele entre 8ª e 7ª dia.

Quadro 7. Resultados em 15 bovinos suspeitos no TIC, com e sem reação inespecífica submetidos ao TS

Número ou nome	Teste Comparativo			Teste de Stormont	
	AEDP ^a	AEDP ^b	TB-TA ^c	AEDP ^d	Resultado
	TA (mm)	TB (mm)	(mm)	TB (mm)	
9	1,0	3,6	2,6	1,8	Negativo
65	0,4	2,4	2,0	1,7	"
66	1,6	3,6	2,0	1,8	"
130	0,0	2,4	2,4	2,7	"
272	1,4	4,3	2,9	4,0	Suspeito
286	1,5	3,8	2,3	1,0	Negativo
383	2,5	4,6	2,1	21,5	Positivo
341	0,6	3,4	2,8	1,5	Negativo
570	0,4	3,2	2,8	2,7	"
Marreca	0,8	2,8	2,0	4,0	Suspeito
Sayonara	0,0	2,2	2,2	3,0	Negativo
Aritana	2,0	4,6	2,6	2,4	Negativo
Kátia	5,0	7,9	2,9	16,0	Positivo
Holanda	2,5	5,2	2,7	6,5	"
Fama	3,1	5,7	2,6	3,6	Suspeito
Média	1,52	3,98	2,46	4,28	

^a Aumento da espessura da dobra da pele na tuberculina aviária.

^b Aumento da espessura da dobra da pele na tuberculina bovina.

^c Diferença entre aumento da espessura da dobra da pele entre a tuberculina bovina e aviária.

^d Aumento da espessura da dobra de pele entre o 8º e 7º dia.

Quadro 8. Resultados obtidos nos 15 bovinos fracamente positivos pelo TIC e submetidos ao TS

Número ou nome	Teste Comparativo			Teste de Stormont	
	AEDP ^a	AEDP ^b	TB-TA ^c	AEDP ^d	Resultado
	TA (mm)	TB (mm)	(mm)	TB (mm)	
177	5,4	8,6	3,2	8,8	Positivo
207	1,1	4,4	3,3	1,3	Negativo
498	1,2	4,6	3,4	9,0	Positivo
1092	2,5	6,0	3,5	7,3	"
2324	2,4	5,4	3,0	3,9	Suspeito
7194	2,8	6,7	3,9	5,4	Positivo
8232	4,2	7,7	3,5	6,1	"
Bianca	0,9	4,2	3,3	1,5	Negativo
Jacira	0,5	4,2	3,7	7,4	Positivo
Mina	2,3	5,4	3,1	6,0	"
Cristina	0,4	3,4	3,0	2,4	Negativo
Oneida	2,2	5,5	3,3	2,5	"
Laura	0,0	3,5	3,5	-1,8	"
Hilda	0,1	3,1	3,0	4,0	Suspeito
Fachada	3,5	7,1	3,6	6,5	Positivo
Média	1,96	5,32	3,35	4,68	

^a Aumento da espessura da dobra da pele na tuberculina aviária.

^b Aumento da espessura da dobra da pele na tuberculina bovina.

^c Diferença entre as tuberculinas bovina e aviária.

^d Aumento da espessura da dobra da pele entre o 8º e 7º dia.

Experimento 1. Tuberculinização intradérmica comparativa seguida da do teste de Stormont

Após a obtenção do resultado do TIC, os bovinos que apresentavam reações negativas, suspeitas, fracamente positivas (diferença entre 3,0 e 3,9mm) e fortemente positivas (>4,0mm) e de preferência quando também tinham reagidos à tuberculina aviária, foram agrupados e retestados no 7º dia com tuberculina bovina e procedida a leitura no 8º dia, segundo a técnica do teste de Stormont.

Experimento 2. Tuberculinização pela técnica do teste de Stormont seguida da tuberculinização intradérmica comparada

Após obtenção do resultado do TS, os bovinos foram agrupados em reagentes negativos, suspeitos e positivos e 90 dias após, retestados pelo TIC.

Por razões econômicas, os bovinos portadores de reações suspeitas e positivas não puderam ser submetidos

Quadro 9. Resultados obtidos em bovinos fortemente positivo no TIC e submetidos ao TS

Número ou nome	Teste Comparativo			Teste de Stormont	
	AEDP ^a	AEDP ^b	TB-TA ^c	AEDP ^d	Resultado
	TA (mm)	TB (mm)	(mm)	TB (mm)	
30	3,4	20,7	17,3	20,5	Positivo
40	4,3	9,0	4,7	9,6	"
54	2,2	9,0	6,8	10,2	"
170	3,5	9,0	5,5	7,0	"
554	3,0	7,3	4,3	5,0	"
2066	0,9	6,5	5,6	6,4	"
4304	0,6	5,3	4,7	10,2	"
7053	0,0	4,9	4,9	7,8	"
8255	0,1	4,4	4,3	7,8	"
Caçamba	1,8	7,6	5,8	18,0	"
Jandira	2,8	7,3	4,5	15,0	"
Pantera	1,9	11,4	9,5	9,5	"
Eta	0,3	8,9	8,6	7,2	"
Kênia	1,9	11,5	9,6	7,5	"
Hortência	2,0	10,0	8,0	7,0	"
Hiena	2,2	6,8	4,6	3,8	Suspeito
Resenha	6,2	14,7	8,5	5,4	Positivo
Caicara	3,0	8,3	5,3	7,5	"
Balança	4,1	9,9	5,8	7,0	"
Portuguesa	2,7	6,7	4,0	5,0	"
Salmoura	1,3	8,2	6,9	5,5	"
Paca	0,5	10,5	10,0	4,8	Suspeito
Campista	3,5	9,9	6,4	16,8	Positivo
Moleza II	2,0	9,6	7,6	5,2	"
Lamparina	4,8	9,2	5,0	6,8	Positivo
Gemada	2,4	7,2	4,8	2,5	Negativo
Média	2,36	8,99	6,65	8,42	

^a Aumento da espessura da dobra da pele na tuberculina aviária.

^b Aumento de espessura da dobra da pele na tuberculina bovina.

^c Diferença entre as tuberculinas bovina e aviária.

^d Aumento de espessura da dobra da pele entre 8º e 7º dia.

aos exames necroscópicos e bacteriológicos. Na presente pesquisa também não foi dada atenção para a existência ou não de possíveis lesões da dermatite tuberculóide (skin lesions, skin tuberculosis).

RESULTADOS

Experimento 1

A comparação das técnicas de tuberculinização, nos grupos de animais testados pelo TIC e, logo em seguida, pelo teste de Stormont, apresentou os seguintes resultados:

a) Em 21 bovinos considerados negativos pelo TIC, mas com a maioria dos animais portadores de reações suspeitas ou positivas para a tuberculina aviária também revelaram resultados negativos no TS, conforme mostra o Quadro 6.

b) Em 15 bovinos com reações suspeitas pelo TIC, portadores ou não de reações inespecíficas, o TS revelou 3 animais com reações positivas, 3 com reações suspeitas e 9 reagentes negativos, respectivamente 20,0, 20,0 e 60% conforme ilustra o Quadro 7.

c) Em 15 bovinos considerados como a categoria dos reagentes fracamente positivos (AEDP entre 3,0 e 3,9mm) no TIC, o resultado do TS foi muito discordante, pois 7 (33,3%) animais reagiram negativamente, 2 (13,3%) com reação suspeita e apenas 8 (53,3%) acusaram reações positivas, conforme Quadro 8.

Quadro 10. Comparação dos resultados do TS com o TIC realizado 90 dias após em 19 bovinos

Animal no.	Teste de Stormont		Teste Comparativo				Resultado
	AEDP ^a (mm)	Resultado	AEDP TA ^b (mm)	AEDP TB ^c (mm)	TB-TA (mm)	Resultado	
472	5,0	Positivo	2,9	3,8	0,9	Negativo	
562	5,9	"	0,4	8,2	7,8	Positivo	
588	13,0	"	0,7	7,7	7,0	"	
633	27,4	"	0,6	6,1	5,5	"	
636	39,6	"	5,1	22,2	17,1	"	
2293	5,1	"	0,9	1,7	0,8	Negativo	
2433	5,1	"	1,0	5,1	4,1	Positivo	
2442	5,1	"	2,0	17,7	15,7	"	
6483	16,1	"	3,1	11,7	8,6	"	
6915	6,7	"	5,0	16,9	11,9	"	
7026	6,1	"	0,4	7,2	6,8	"	
7038	5,0	"	0,4	2,4	2,0	Negativo	
7154	10,0	"	1,4	8,2	6,8	Positivo	
7162	9,9	"	1,3	11,5	10,2	"	
7251	8,8	"	2,1	22,8	20,7	"	
7287	5,8	"	0,4	6,3	5,9	"	
7318	5,8	"	2,9	6,2	3,3	"	
7337	19,4	"	2,5	7,6	5,1	"	
7418	5,8	"	1,8	11,8	10,0	"	

^a AEDP = Aumento da espessura da dobra de pele.

^b TA = Tuberculina aviária.

^c TB = Tuberculina bovina.

d) Em 26 bovinos reagentes positivos no TIC, com AEDPs acima de 4,0mm, com ou sem reações inespecíficas, o TS mostrou-se concordante com o TIC em 23 (88,4%). Em apenas 2 (7,7%) animais acusou reação suspeita e em um (3,9%) reação negativa. O Quadro 9 apresenta os dados individuais.

Experimento 2

Neste experimento, os bovinos de uma fazenda foram testados, pelo TS e, 90 dias após, retestados pelo TIC, cujos resultados foram avaliados em um grupo de reagentes positivos e outro de 4 suspeitos:

a) Em 19 bovinos reagentes positivos no TS e mantidos isolados do resto do rebanho durante 90 dias, o TIC revelou que 3 animais (15,7%) eram negativos, e 16 (84,2%) reagiram positivamente. Pormenores sobre AEDPs das reações podem ser vistas no Quadro 10.

b) Em 32 reagentes suspeitos pelo TS, o reteste 90 dias após pelo TIC, revelou que 13 (40,6%) animais reagiram

Quadro 11. Comparação dos resultados dos 32 bovinos reagentes suspeitos no TS com os do TIC realizado 90 dias após

Animal no.	Teste de Stormont		Teste Comparativo				Resultado
	AEDPs (mm)	Resultado	ARDs TA (mm)	AEDPs TB (mm)	TB-TA	Resultado	
487	3,0	Suspeito	2,2	9,5	7,3	Positivo	
524	4,8	"	4,3	14,2	9,9	"	
546	4,2	"	2,3	2,6	0,3	Negativo	
563	3,9	"	0,7	2,7	2,0	"	
611	4,3	"	1,8	2,3	0,5	"	
635	4,2	"	4,0	3,9	0,0	"	
724	4,0	"	1,3	0,6	0,0	"	
754	4,9	"	0,9	6,2	5,3	Positivo	
2444	3,7	"	0,8	6,0	5,2	"	
2462	3,9	"	1,9	8,7	6,8	"	
2587	4,8	"	2,6	2,1	0,0	Negativo	
2627	4,8	"	2,0	4,2	2,2	Suspeito	
6696	4,9	"	4,8	6,0	1,2	Negativo	
7052	3,8	"	2,2	5,6	3,4	Positivo	
7090	3,7	"	0,5	1,6	1,1	Negativo	
7122	3,9	"	1,9	3,6	1,7	"	
7147	3,9	"	0,6	5,2	4,6	Positivo	
7169	3,2	"	1,7	13,9	12,2	"	
7180	3,8	"	0,7	0,3	0,0	Negativo	
7188	3,1	"	2,7	5,6	2,9	Suspeito	
7219	4,2	"	1,2	6,8	5,6	Positivo	
7241	4,2	"	3,0	14,0	11,0	"	
7286	3,9	"	1,0	1,1	0,1	Negativo	
7329	3,0	"	4,0	11,2	7,2	Positivo	
7353	3,8	"	1,3	24,9	23,6	Positivo	
7359	3,1	"	2,1	3,1	1,0	Negativo	
7402	4,9	"	1,3	4,1	2,8	Suspeito	
7434	3,9	"	2,6	8,4	5,8	Positivo	
7516	4,1	"	3,6	2,6	0,0	Negativo	
7544	3,1	"	6,1	9,1	3,0	Positivo	
7591	4,8	"	0,9	8,4	7,5	"	
7597	4,0	"	0,2	5,1	4,9	"	

negativamente, 3 (9,3%) apresentaram reação suspeita e 16 (50,0%) reagiram positivamente. O Quadro 11 mostra as reações individuais.

DISCUSSÃO

A análise dos resultados da comparação, avaliados apenas pelas duas modalidades do teste alérgico intradérmico, mostra que o TIC e o TS apresentaram resultados concordantes no grupo de 21 bovinos (Quadro 6), tidos como negativos para a infecção tuberculosa pelo TIC, independentemente da existência de sensibilizações alérgicas detectadas pela tuberculina aviária. Kerr et al. (1946a,b, 1949) observaram que a infecção por *Mycobacterium avium* não interferia no resultado do teste de Stormont. Este fato parece ocorrer também com outras micobactérias do grupo MAIS; pois Hermann (1992) demonstrou experimentalmente em bovinos que infecções por *M. intracellulare* também não mascaravam o teste de Stormont. Isto, no entanto, não exclui que possam existir na natureza em certas regiões, micobactérias oportunistas, com fatores antigênicos mais próximos do *M. bovis* e que venham interferir no teste de Stormont, como acontece com a dermatite tuberculóide.

A análise mostra ainda altos índices de concordância nos grupos de bovinos com reações positivas fortes no TIC (AEDP acima de 4 mm) que no teste de Stormont revelaram 88,4% de reações positivas (Quadro 9) e no grupo de 19 bovinos positivos no teste de Stormont e que, após 90 dias, 84,2% também reagiram positivamente no TIC. Os 3 bovinos que no TIC reagiram negativamente apresentavam-se no limiar de positividade (dois com 5,0 e um com 5,1 mm de AEDP) do TS o que provavelmente foi o motivo desta discrepância. Por outro lado, os resultados foram muito discordantes nos grupos de bovinos que no TIC apresentaram reações suspeitas (AEDPs entre 2,0 e 2,9 mm) e fracamente positivas (AEDPs entre 3,0 e 3,9 mm) bem como no grupo de 32 bovinos com reações suspeitas no TS, como ilustram os Quadros 7, 8 e 11.

A análise destes resultados, não permite chegar a uma interpretação lógica para este grau de discrepância. É verdade que ao nível das reações suspeitas as falhas mecânicas do operador são mais acentuadas. Como foi visto nos grupos negativos e positivos, a existência de reações inespecíficas nos grupos suspeitos também não indicam para uma interferência tão intensa.

Diante destes resultados não é possível antever qual das duas modalidades de tuberculinizar é mais sensível e mais específica.

A resposta correta a esta questão poderia ser alcançada mediante o abate com exame necroscópico e bacteriológico de um número estatisticamente significativo de animais que apresentem resultados discordantes entre as duas técnicas.

Um ponto importante, que não foi alvo na presente pesquisa, é a interferência da dermatite tuberculóide. Kerr et al. (1946a,b, 1949) advertiram, já naquela ocasião, de que bovinos portadores da "skin lesions" ou "skin tuberculosis", apresentaram menor número de reagentes

falsos positivos e falsos negativos no TIC do que no teste de Stormont (Quadro 2).

Os resultados apresentados por Kerr et al. (1946a,b) mostraram acentuada superioridade do TS sobre o TIC. Cumpre lembrar que no período logo após a 2ª guerra mundial, os rebanhos europeus eram portadores de tuberculose crônica por falta do combate nos 7 anos de guerra. Isto certamente favoreceu o TS que tem a capacidade de reconhecer infecções pré-anérgicas ou já anérgicas para os testes simples. Isto está bem evidente através dos 6,0% de falsas reações negativas apresentadas pelo TIC e apenas 2,0 pelo TS. (Quadro 1)

Na Nova Zelândia, Jong & Ekdahl (1979) obtiveram resultados bem diferentes porque, ao nosso ver, a amostragem dos 362 animais examinados procediam de rebanhos criados mais extensivamente com menor prevalência da tuberculose e mais infecções recentes. Quanto a interferência da dermatite tuberculóide no diagnóstico alérgico da tuberculose os pesquisadores neozelandeses, confirmaram esta interferência, no entanto, com índices baixos nas reações positivas (7,7%) e maiores nas reações suspeitas (38,5%). Esta informação vem de encontro a uma observação prática que mostra haver, um número elevado de reações suspeitas no TS em nosso meio comparado com o do TIC.

Diante dos resultados do TIC e do TS da presente pesquisa, em que foi demonstrado alto índice de concordância nas reações negativas e fortemente positivas e acentuada discordância entre as reações suspeitas e fracamente positivas para o TIC, seria de grande interesse fossem estes divergências esclarecidas através de exames necroscópicos e bacteriológicos.

Enquanto isto não for feito, considerando-se que o teste de Stormont fôra idealizado para detectar bovinos com lesões tuberculosas crônicas bem evoluídas, e que nas tuberculinizações convencionais apresentam-se como reagentes pré-anérgicos ou mesmo anérgicos; considerando-se que a dermatite tuberculóide pode mascarar mais acentuadamente o diagnóstico específico pelo TS; considerando-se que o teste de Stormont necessita 3 visitas do Veterinário à fazenda e a movimentação do rebanho uma vez à mais do que no TIC, não há, até o momento, razões que justifiquem o uso do teste de Stormont como teste de rotina.

REFERÊNCIAS

- Anderson N. 1938. [Skin lesions in tuberculin reacting cattle in the veterinary district of Hemse, Gotland, Sweden]. Svensk. Vet. Tidskr. 43:3-11. (Vet. Bull. 9(3): 142, 1939)
- Correa W.M. & Correa C.M.M. 1992. *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos*. 2a ed. Editora Medsi, São Paulo. 843 p.
- Edler C., Lee A.M. & Phelps T.R. 1929. Studies with bovine skin lesions. J. Am. Vet. Med. Assoc. N.S. 28(1):51-67.
- Gottschalk A.F., Correa W.M. & Correa C.M.M. 1972. Tuberculose bovina. Diagnóstico pela prova tipo Mantoux e pela prova de Stormont. *Biológico*, S. Paulo, 38(12):424-428.
- Hedstrom H. 1949. [So-called skin tuberculosis in cattle]. Collected papers from the State Vet. Med. Inst. Stockholm, p. 180. (Vet. Bull. 20(6) Abstr. 1553, 1950)

- ermann G.P. 1992. Comportamento do teste de Stormont, frente às reações inespecíficas, no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. Tese de Mestrado, UFRRJ Itaguaí, RJ.
- ong D. & Ekdahl M.O. 1976. Evaluation of number of ancillary tuberculin tests in cattle. N. Z. Vet. J. 11(17):213-226.
- err N.R., Lamont H.G. & McGirr J.L. 1946a. Studies on tuberculin sensitivity in the bovine. Vet. Rec. 58(41):443-448.
- err W.R., Lamont H.G. & McGirr J.L. 1946b. Studies on tuberculin sensitivity in the bovine. Vet. Rec. 58(42):451-453.
- err W.R., Lamont H.G. & McGirr J.L. 1949. Further studies on tuberculin sensitivity in the bovine. Vet. Rec. 61(32):466-475.
- rantz G.T. 1938. [On the so-called skin tuberculosis of cattle]. Skand. Vet. Tidskr. 28:1-26. (Vet. Bull 9(3):142, 1939)
- Langenegger J., Langenegger C.H., Mota P.M.P.C. & Leite R.C. 1981. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. Pesq. Vet. Bras. 4(1):145-149.
- Ritchie J.N. 1959. Eradication of bovine tuberculosis, p. 713-736. In: Stableforth A.W. & Galloway J.A. (ed.) Infectious Diseases of Animals. Butterworths Scientific Publications, London.
- Robertson A. & Hole N.H. 1937. A preliminary report on the problem of the bovine skin lesion tuberculin reactor. J. Comp. Path. 50:39-57.
- Thomann H. 1949. Untersuchungen über das Vorkommen der "Skin-lesion" beim schweizerischen Braunvieh. Schweiz. Arch. Tierheilk. 91:237-264.
- Traum J. 1919. Further report on lymphangitis in cattle caused by acid-alcohol fast organism. J. Am. Vet. Med. Assoc. 55(8):639-652.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Piptadenia macrocarpa* (Leg. Mimosoideae) EM BOVINOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³ e JÜRGEN DÖBEREINER⁴

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1994. [Experimental poisoning by *Piptadenia macrocarpa* (Leg. Mimosoideae) in bovines.] Intoxicação experimental por *Piptadenia macrocarpa* (Leg. Mimosoideae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3):57-63. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

Piptadenia macrocarpa Benth. [*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan], a tree of northeastern Brazil, with the common name "angico preto", is told to be toxic for cattle, mainly if the leaves are in the wilting stage. In order to test its toxicity, the fresh, wilted and dried leaves, collected from several sites, were given orally to bovines. The smallest dose which caused death (in one of four animals) was 10g of the fresh leaves per kg of body weight. Doses of 13.9 g/kg or higher caused death in all exposed animals. The clinical course in five animals which died was peracute (1h 47min to 6h 36min); a 6th animal survived 11 days after the onset of clinical signs. In dried form leaves caused poisoning in two of five experimental animals, one showing severe symptoms but recovered, the other died. The clinical signs observed at the end of the administration of the plant material or shortly after consisted of difficulty in chewing, instability, difficulties in locomotion, muscular tremors, lassitude, somnolence, falling down, pronounced dyspnea, with difficulties of inspiration and slight to moderate meteorism. The main post-mortem finding was the presence of the administered leaves of *P. macrocarpa*, yet recognizable, at the entrance of the rumen. Only in the animal which showed a clinical course of 11 days histologic changes were found. These consisted of coagulative necrosis (red neurons) affecting focal areas of the cerebral cortex and beginning malacia. The leaves gave a positive test with picric-sodium paper for prussic acid, but the reactions were slow and varied in intensity. It was concluded that *P. macrocarpa* is a cyanogenic plant and could cause death in cattle when the animals have access to the leaves.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Piptadenia macrocarpa*, *Anadenanthera macrocarpa*, Leguminosae Mimosoideae, cyanogenic plant poisoning, pathology, bovines.

SINOPSE.- Pelos históricos obtidos no Nordeste, a árvore *Piptadenia macrocarpa* Benth. [*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan], com nome popular de "angico preto", é suspeita de causar mortes em bovinos, sobretudo quando suas folhas estiverem murchas. Para verificar a sua toxidez, as folhas, em estado fresco, murcho ou dessecado e de diversas procedências, foram administradas por via oral a bovinos. Somente as procedentes de árvores de Pimenteiras, Piauí, depois cultivadas na área do Km 47, município de Itaguaí, RJ, se revelaram tóxicas, tanto frescas como murchas, não se conseguindo demonstrar diferença de toxidez entre elas. Apenas um dos quatro animais que receberam a dose de 10g/kg, morreram. Já doses a partir de 13,9 g/kg causaram a morte de todos os animais. Os bovinos que adoeeceram mais do que levemente, morreram. A evolução nos casos fatais foi de 1h 47 min a 6h 36min; um animal, excepcio-

nalmente, apresentou curso clínico de 11 dias. A planta dessecada também causou intoxicação em dois dos cinco animais; um deles adoeceu gravemente, mas se recuperou, o outro foi à óbito. Os sintomas observados já no final ou minutos após a administração consistiram em dificuldade na deglutição, instabilidade, andar desequilibrado, dificuldade de locomoção, tremores musculares, lassidão, sonolência, queda, dispnéia acentuada, marcada dificuldade inspiratória e leve a moderado timpanismo. O principal achado de necropsia foi a presença da planta ainda reconhecível na parte crânio-ventral do rúmen. Com uma exceção, não foram encontradas alterações histológicas significativas. No animal que teve evolução de 11 dias, foi verificada necrose de coagulação do córtex cerebral, de distribuição focal ou por vezes extensivas, acompanhada de malácia incipiente. As folhas, submetidas à prova do papel picro-sódico, deram resultados positivos para o ácido cianídrico, porém as reações foram lentas e variáveis. Concluiu-se que *P. macrocarpa* é planta tóxica de ação cianogênica que pode causar mortes em bovinos quando eles têm acesso às folhas da árvore.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Piptadenia macrocarpa*, *Anadenanthera macrocarpa*, Leguminosae Mimosoideae, intoxicação por planta cianogênica, patologia, bovinos.

¹ Aceito para publicação em 2 de março de 1994.

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

³ Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Inst. Veterinária, UFRRJ; bolsista do CNPq (302342/86-9).

⁴ Embrapa-Saúde Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

INTRODUÇÃO

Uma revisão da literatura sobre a possível toxidez das folhas de *Piptadenia macrocarpa* Benth, árvore conhecida pelos nomes populares "angico-preto", "angico-vermelho" e "angico-de-carço", foi fornecida por Canella et al. (1966). Nesse mesmo trabalho são relatados os resultados de numerosos experimentos com as folhas frescas e murchas, bem como com as favas desta árvore, realizados em bovinos. Esses experimentos, com a planta procedente de Fortaleza, Quixeramobim e Quixadá, Ceará, resultaram praticamente negativos. As folhas frescas foram administradas em doses únicas de 10,0 a 16,7 g/kg e as folhas murchas em doses únicas de 4,3 a 18,9 g/kg; um animal recebeu dose diária de 14,89 g/kg das folhas frescas durante seis dias seguidos. As favas foram administradas em doses únicas de 6,2 e 14,8 g/kg; um animal recebeu dose diária de 7,4 g/kg das favas durante sete dias seguidos. Nesses experimentos observou-se que cerca a metade dos animais regurgitou conteúdo ruminal durante a administração das folhas e favas e dois animais, que receberam cada um 12,5 g/kg das folhas murchas, tendo ficado sob ação forte do sol durante algumas horas após a administração da planta, mostraram-se sonolentos e andavam com certo desequilíbrio; supeitando-se de insolação, eles foram co-

locados na sombra e lhes foi dado um banho frio; ficaram sonolentos até a noite, mas no dia seguinte não mostraram mais nada de anormal.

Em virtude das repetidas informações de que as folhas de *P. macrocarpa* seriam tóxicas, continuamos, durante as nossas viagens pelo Nordeste, no período de 1967/79, a realizar experimentos com a planta sempre que se oferecia a oportunidade. Somente nos experimentos realizados no município de Pimenteiras, Piauí, em 1979, as folhas desta árvore provocaram sintomas de intoxicação.

Sementes de *P. macrocarpa* colhidas naquela época no município de Pimenteiras, Piauí, foram semeadas na área do Km 47, município de Itaguaí, RJ, e com as folhas das árvores que nasceram dessas sementes, foi realizada uma série de experimentos em bovinos durante os anos de 1988/90.

No presente trabalho são fornecidos e discutidos os resultados dos experimentos com *P. macrocarpa* realizados em bovinos nos períodos de 1967/79 e 1988/90.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados experimentos com as folhas frescas, murchas e dessecadas de *Piptadenia macrocarpa* Benth. [*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan], árvore da



1



2

Fig. 1 e 2. *Piptadenia macrocarpa*; tronco com protuberâncias típicas (Mun. Pimenteiras, Piauí).

Quadro 1. Experimentos com as folhas de *Piptadenia macrocarpa* em bovinos, realizados no Nordeste

Bovino		Planta						Resultados		
Nº (reg. SAP)	Peso kg	Coleta		Administração			Desfecho	Sintomas	Evolução	
		Data e hora	Local	Data e hora	Quantidade g	Dose g/kg	Parte administrada			
2332	183	4.12.67 pouco antes do exp.	Mun. Limoeiro, PE Faz. Exp.	5.12.67 10:00-11:00h	3000 ^a (2000) ^b	16,4 (10,9)	Folhas murchas	Sem sintomas	-	-
2333	190	7.12.67 pouco antes do exp.	Mun. Limoeiro, PE Faz. Exp.	7.12.67 16:00-17:00h	1000	5,3	Favas maduras	Sem sintomas	-	-
2435	150	23.1.69 pouco antes do exp.	Mun. Recife, PE IPEANE	23.1.69 9:20-10:20h	2000	13,3	Folhas frescas	Sem sintomas	-	-
4212	200	13.1.79 pouco antes do exp.	Mun. Valente, BA Faz. S. Barnabé	13.1.79 16:45-18:00h	2000	10,0	Folhas frescas	Sem sintomas	-	-
4221	112	18.1.79 pouco antes do exp.	Mun. N.S. do Bonfim, BA Faz. Campo Verde	19.1.79 8:10-9:15h	1700	15,2	Folhas frescas	Sem sintomas	-	-
4222	145	18.1.79 pouco antes do exp.	Mun. N.S. do Bonfim, BA Faz. Campo Verde	19.1.79 8:10-10:15h	2000	13,8	Folhas frescas	Diarréia líquida passageira	20.1.77, às 15:50h abdômen um pouco abaulado, c/diarréia líquida, dispnéia. Às 21:30h c/fezes pastosas. Em 21.1.77, às 8:00h c/fezes pastosas quase normais	Aprox. 6h
4296 (22684)	60	23.11.79 às 17:00h	Mun. Pimenteiras, PI Barreiro	24.1.79 14:45-15:45h	900 ^a (600) ^b	15,0 (10,0)	Folhas murchas	Morreu	Às 15:45h c/leve timpanismo, instabilidade; às 16:07h leves tremores musculares na escápula; às 16:08h com forte instabilidade; às 16:26h caiu e ficou em decúbito lateral; pedalagem; morte às 17:00h	1h15min
4304	60	28.11.79 pouco antes do exp.	Mun. Pimenteiras, PI Barreiro	28.11.79 16:50-19:00h	1150	18,3	Folhas frescas	Adoeceu levemente	Durante a administração da planta muita eructação; às 19:25h apático, com leve desequilíbrio; às 19:30h com muita eructação, parado, apático; às 21:35h começou a ruminar. Em 29.11.79, às 7:00h em pé, normal	Aprox. 2h

^a Peso da planta quando fresca.^b Peso da planta quando murcha.

família Leguminosae Mimosoideae (Fig. 1 e 2). Folhas murchas significa folhas que, após a coleta, foram colocadas no sol durante cerca 4 horas e logo em seguida administradas.

Os experimentos consistiram na administração, a bovinos, de doses únicas manualmente por via oral.

Os animais que receberam a planta eram acompanhados clinicamente, e no caso de morte, foi feita imediatamente a necropsia, complementada por exames histológicos.

Para a demonstração da presença de ácido cianídrico nas folhas de *P. macrocarpa* foi usada a prova do "papel picro-sódico" (Canella et al. 1968).

RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos com as folhas de *Piptadenia macrocarpa* realizados no Nordeste no período de 1967 a 1979 constam no Quadro 1. Verifica-se que o bezerro que recebeu as folhas murchas de *P. macrocarpa* em Pimenteiras, Piauí, na dose de 15 g/kg, adoeceu imediatamente após o término da administração da planta, apresentando instabilidade, tremores musculares, timpanismo e morreu dentro de 1h 15min; as folhas mastigadas encontradas na parte crânio-ventral do rúmen,

junto à saída do esôfago, deram moderada reação positiva para o ácido cianídrico pela prova do papel picro-sódico, dentro de 5 minutos e acentuada reação positiva dentro de 15 minutos. O outro bezerro, que recebeu na mesma ocasião 18,3 g/kg das folhas frescas, adoeceu levemente mostrando sintomas durante duas horas.

O delineamento e parte dos resultados dos experimentos com as folhas de *P. macrocarpa*, realizados na área do Km 47, Itaguaí, RJ, constam no Quadro 2. Os principais dados obtidos nesses experimentos encontram-se nos tópicos que se seguem.

Doses tóxicas

Os animais que receberam doses de 5 g/kg (Bov. 4855) e 10 g/kg (Bov. 4867A) das folhas murchas de *P. macrocarpa* sequer mostraram sintomas de intoxicação. Dentre os três que ingeriram doses de 10 g/kg das folhas frescas, um mostrou leves sintomas (Bov. 4866A) e outro morreu (Bov. 4878). Dosagens entre 13,9 e 21 g/kg das folhas frescas levaram todos os 5 animais ao óbito.

A planta dessecada também provocou quadro de intoxicação, em dois dos cinco animais; um (Bov. 4919) adoeceu gravemente e se recuperou com a dose de 11,2 g/kg (correspondentes a 25,68 g/kg da planta fresca), planta

Quadro 2. Experimentos com as folhas de *Piptadenia macrocarpa* em bovinos, realizados no Km 47, Itaguaí, Rio de Janeiro

Bovino		Planta					Resultados	
N ^o (reg. SAP)	Peso kg	Coleta data e hora	Administração			Desfecho	Evolução	
			Data e hora	Quantidade g	Dose g/kg			Parte admi- nistrada
<i>Experimentos com as folhas frescas ou murchas</i>								
4855	155	23.11.88 9:00h	23.11.88 14:55-15:15h	925 ^a (620) ^b	5,0 (3,35)	Folhas murchas, deixadas no sol das 10:00 - 14:30h	Sem sintomas	-
4856 (24682)	173	23.11.88 9:00h	23.11.88 9:55-11:10h	3750	21,0	Folhas frescas	Morreu	1h47min
4866A	185	28.12.88 9:30-10:00h	28.12.88 10:40-11:20h	1850	10,0	Folhas frescas	Adoeceu levemente	6h
4866B (24686)	185	4.1.89 9:00-9:30h	4.1.89 12:30-13:45h	3580	19,3	Folhas frescas	Morreu	1h50min
4867A	143	28.12.88 9:30-10:00h	28.12.88 14:30-15:15h	1430 ^a (700) ^b	10,0 (4,9)	Folhas murchas, deixadas no sol das 10:15-14:30h	Sem sintomas	-
4867B (24710)	147	28.4.89 9:00h	28.4.89 10:00-12:50h	2450	16,6	Folhas frescas	Morreu	2h55min
4870	132	9.6.89 8:30h	9.6.89 10:20-11:30h	1320	10,0	Folhas frescas	Sem sintomas	-
4871 (24723)	141	9.6.89 8:30h	9.6.89 10:20-11:35h	2000	14,6	Folhas frescas	Morreu	11 dias
4873 (25003)	171	27.9.90 10:30-11:00h	27.9.90 13:40-14:45h	2380	13,9	Folhas frescas	Morreu	1h58min
4878 (25023)	125	8.11.90 10:00-10:30h	8.11.90 10:55-11:30h	1250	10,0	Folhas frescas	Morreu	6h36min
<i>Experimentos com as folhas dessecadas</i>								
4869	178	9.6.89	14.2.90 9:47-10:35h	1880 ^c (3446) ^a	10,5 (18,7)	Folhas dessecadas	Sem sintomas	-
4872	127	9.6.89	8.3.90 8:35-10:00h	1200 ^c (2088) ^a	9,45 (16,4)	Folhas dessecadas	Sem sintomas	-
4881	107	28.4.89	8.11.90 14:10-17:00h	1770 ^c (3100) ^a	16,5 (28,97)	Folhas dessecadas	Sem sintomas	-
4879 (25029)	151	27.9.90	23.11.90 13:45-14:50h	1200 ^c (2688) ^a	7,95 (17,8)	Folhas dessecadas	Morreu	2h24min
4919	139	8.11.90	13.7.91 9:10-10:50h	1570 ^c (3570) ^a	11,2 (25,68)	Folhas dessecadas	Adoeceu gravemente Se recuperou	6h55min

^aPeso da planta quando fresca.

^bPeso da planta quando murcha.

^cPeso da planta quando dessecada.

colhida 8 meses antes, o outro (Bov. 4879) foi à óbito após a ingestão de 7,95 g/kg (correspondentes a 17,8 g/kg da planta fresca), planta colhida 2 meses antes.

Sintomatologia e evolução

Os primeiros sintomas da intoxicação foram observados, ainda durante a administração ou minutos após o seu

término. Em dois experimentos com as folhas frescas (Bov. 4871, 4873), a administração foi interrompida pela absoluta incapacidade dos animais em continuar a engolir a planta, em um terceiro caso (Bov. 4867B) porque o animal começou a mostrar fortes tremores musculares e instabilidade. Em dois experimentos com a folha dessecada (Bov. 4879, 4919), a administração foi interrompida quando os animais começaram a apresentar sintomas de lassidão.

A evolução da intoxicação com a planta fresca ou murcha, nos casos letais, foi de 1h 47min a 6h 36min; em um, excepcionalmente, foi de 11 dias. O animal que adoeceu levemente (Bov. 4866A), recuperou-se 6 horas após a administração da planta.

Com a planta dessecada, no caso letal (Bov. 4879), a evolução foi de 2h 24min; o animal que não morreu após adoecer gravemente (Bov. 4919), recuperou-se 6h 55min após o término da administração da planta.

O quadro clínico caracterizou-se por dificuldade de deglutição, instabilidade, andar desequilibrado, dificuldade de locomoção, tremores musculares, lassidão, sonolência, queda, dispnéia acentuada, marcada dificuldade inspiratória, leve a moderado timpanismo e "pescoço em S".

Um resumo dos dados experimentais (complementares ao Quadro 2) referentes à sintomatologia dos animais que adoeceram, segue abaixo.

Planta fresca

Bovino 4856 (SAP 24682), recebeu em 23.11.88, das 9:55 às 11:10h, 3750 g (21,0 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 11:10h foi interrompida a administração da planta pois o animal só comia mais bem devagar. Às 11:17h, instabilidade, dificuldade em andar. Às 11:30h caiu, não conseguiu se levantar, ficando em posição esterno-abdominal; respiração profunda, repuxando as narinas. "Pescoço em S", às vezes balançando a cabeça. Sonolência, mugidos, respiração difícil, decúbito lateral, tremores e respiração laboriosa. Morte às 12:57h.

Bovino 4866 A, recebeu em 28.12.88, das 10:40 às 11:20h, 1850g (10,0g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 12:23h fazia movimentos de mastigação. Às 13:40h, 15:15h, 16:30h com andar lerdo. Às 18:30h sem sintomas.

Bovino 4866 B (SAP 24686), recebeu em 4.1.89, das 12:30 às 13:45h, 3580g (19,3 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 13:45h foi interrompida a administração da planta, pois o animal apresentava tremores musculares fortes, instabilidade acentuada, andar muito desequilibrado. Às 13:58h em decúbito esterno-abdominal, dispnéia com respiração audível, movimentos de mastigação, gemidos. Às 14:35h em decúbito lateral, movimentos de pedalagem, tentativas de se levantar, respiração muito laboriosa, timpanismo moderado, contrações clônicas generalizadas da musculatura esquelética. Morte às 15:35h.

Bovino 4867 B (SAP 24710), recebeu em 28.4.89, das 10:00 às 12:50h, 2450 g (16,6 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 12:50h foi interrompida a administração da planta, pois o animal não comia mais. Animal apático, deixou-se cair. Respiração dispnéica com narinas repuxadas. Ficou em posição esterno-abdominal e com o queixo no chão. Sonolência, respiração difícil. Às 14:25h em decúbito lateral, movimentos de pedalagem. Morte às 15:45h.

Bovino 4871 (SAP 24723), recebeu em 9.6.89, das 10:20 às 11:35h, 2000g (14,6 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 11:35h com respiração um pouco ruidosa e profunda; tangido, apresentou andar levemente desequilibrado. Interrupção da administração da planta. Às 12:08h muito desequilibrado, quase caindo, leves tremores musculares e sonolência. Às 12:36h deitou-se em decúbito esterno-abdominal, com o queixo encostado no solo. Sonolento, com taquipnéia. Às vezes colocava a cabeça no flanco. "Pescoço em S". Às vezes balançava a cabeça por falta

de firmeza; eructações audíveis. Às 21:45h em decúbito lateral. Colocado em posição esternal, ficou com a cabeça encostada no flanco. Tentativa de se levantar. Dispnéia. Às 22:15h movimentos bruscos com a cabeça. Caiu em decúbito lateral. Às 22:50h colocado novamente em posição esterno-abdominal, ficou com a cabeça encostada no flanco. De 10.6.89 até 12.6.89 ficou a maior parte do tempo em decúbito lateral; quando colocado em decúbito esternal, às vezes ficava nesta posição durante algum tempo, com a cabeça encostada no flanco, ocasionalmente fazia tentativas de se levantar. Em 10.6.89 apresentou hipotermia acentuada, mas nos dias seguintes a temperatura voltou ao normal. A frequência cardíaca (FC) variava entre 72 e 120, a frequência respiratória (FR) situava-se em torno de 16, por minuto. À partir de 13.6.89 ficou sempre em decúbito lateral. Ocasionalmente eliminava fezes ressequidas, tinha leves tremores musculares e contrações da musculatura esquelética. Temperatura (T) normal, FC entre 92 e 116, FR entre 12 e 20, rúmen com leves bracejos, 2 a 3 em 5 minutos. Em 20.6.89, às 8:00h, T 36,8, FC 96, FR 28, respiração irregular. Às 10:10h irrequieto, T 36,3, FC entre 60 e 80 irregular. Às 10:40h T 36,3, FC 80 fraco. Às 11:00h morto.

Bovino 4873 (SAP 25003), recebeu em 27.9.90, das 13:40 às 14:45h, 2380 g (13,9 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 14:45h espumava muito ao mastigar a planta e não engolia mais. Interrupção da administração da planta. Tangido, apresentou andar muito desequilibrado, levantando exageradamente os membros; com tremores musculares. Caiu em posição esternal. Respiração profunda abdominal, audível, taquicardia. Balançava a cabeça ou a apoiava no solo, à frente ou ao lado. Ocasionalmente tinha fases em que tremia com a cabeça, movimentava as pálpebras com frequência. Respiração cada vez mais dispnéica. Por fim caiu de lado, repuxava as narinas na inspiração; leves movimentos de pedalagem, tremores e leve timpanismo. Morte às 16:43h.

Bovino 4878 (SAP 25023), recebeu em 8.11.90, das 10:55 às 11:30h, 1250g (10,0 g/kg) das folhas frescas de *P. macrocarpa*. Às 11:35, quando tangido, andava um pouco lerdo; dados ração e capim, não comia. Às 11:45h, quando movimentado, com andar lerdo, meio cambaleante e leves tremores no trem posterior. Às 12h deitou-se; tangido, não se levantou. Respiração profunda; ficava com a cabeça às vezes levantada, às vezes com o focinho apoiado no solo. A partir das 13:30h havia períodos em que o animal fazia movimentos bruscos com a cabeça. Às 14:07 "pescoço em S". Às 15:22h crise de contrações generalizadas, salivação. Às 15:36h, 16:35h e 17h novas crises. No final da última caiu de lado; com dispnéia, movimentava as pálpebras com frequência. Às 17:13h forte crise com fortes movimentos de pedalagem; respiração pela boca semi-aberta. Às 17:23h leves movimentos de pedalagem, às vezes tremores da cabeça; opistótono. Morte às 18:11h.

Planta dessecada

Bovino 4869, recebeu em 14.2.90, das 9:47 às 10:35h, 1880 g (10,5 g/kg) das folhas dessecadas de *P. macrocarpa*. Às 10:35h não mais se conseguiu dar da planta.

Bovino 4872, recebeu em 8.3.90, das 8:35 às 10:00h, 1200 g (9,45 g/kg) das folhas dessecadas de *P. macrocarpa*. Às 10:00h não mais se conseguiu dar da planta.

Bovino 4879 (SAP 25029), recebeu em 23.11.90, das 13:45 às 14:50h, 1200 g (7,95 g/kg) das folhas dessecadas de *P. macrocarpa*. Às 14:50h animal apático; interrompida a administração da planta. Quando tangido, o animal apresentou andar muito lerdo, com leves tremores musculares. Às 14:55h ficou em decúbito esterno-abdominal. Às 15:10h fases de dispnéia. À partir das 15:12h mudanças frequentes da posição da cabeça, com focinho encostado no solo, cabeça meio inclinada. Corpo cada vez mais inclinado. Às vezes mugia. Às 15:45h em decúbito lateral, contrações clônicas-tônicas, gemidos, respiração ofegante. Às vezes ficava meio de lado, mas sempre voltava ao decúbito lateral. Às 16:20h respiração espaçada com a boca aberta, com a língua meio para fora. Às 16:40h respiração muito irregular e laboriosa, com a boca aberta, leve timpanismo. Às 17:13h escoou líquido ruminal pelas narinas. Parada dos batimentos cardíacos. Morte às 17:14h.

Bovino 4919, recebeu em 13.7.91, das 9:10 às 10:50h, 1570 g (11,2 g/kg) das folhas dessecadas de *P. macrocarpa*. Às 10:50h animal apático. Interrupção da administração da planta. Às 11:05 quando tangido, com andar levemente desequilibrado; leve dipnéia. Às 11:28h pisava no mesmo local. Às 11:32h caiu, ficando em decúbito esternal, com a cabeça

encostada no flanco. Às 11:41h tentativa frustrada de se levantar. Às 11:57h com tremores musculares. Às 12:05h "pescoço em S", cabeça encostada no flanco. Às 12:15h caiu de lado; logo em seguida voltou a posição esternal. Às 12:17h com movimentos de mastigação rápidos. Às 12:45 nova tentativa frustrada de se levantar, com tiques nervosos. Às 12:55h mugidos fortes. À partir de 13:22h começou a melhorar; sempre em decúbito esternal, com tremores musculares, às vezes com a cabeça encostada no flanco, superfície do corpo gelada. Às 14:55h o animal comeu capim, "pescoço em S". Às 16:58h levantou-se, com tremores musculares. Às 17:45h estava em pé, comendo capim, recuperado.

Anátomo e histopatologia

O principal achado de necropsia foi a presença da planta ainda reconhecível na parte crânio-ventral do rúmen. No animal que teve evolução de 11 dias, foi verificada, nos exames histológicos, necrose de coagulação (neurônios vermelhos) afetando áreas focais ou localmente extensivas do córtex cerebral; em alguns locais já existia reação macrofágica com focos incipientes de malácia.

Prova do papel picro-sódico

A planta, tanto fresca como murcha ou dessecada, submetida à prova do papel picro-sódico, deu resultados positivos para o HCN, porém as reações foram lentas e variáveis.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Não sabemos porque só *Piptadenia macrocarpa* procedente de Pimenteiras, Piauí, se revelou tóxica. Apesar de a planta das diversas procedências sempre ter sido identificada como *Piptadenia macrocarpa* Benth. ou *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan, talvez se trate de variedades ou taxa diferentes.

O resultado positivo das folhas ao teste do papel picro-sódico, aliado ao quadro clínico-patológico apresentado pelos animais, permite enquadrar *P. macrocarpa* entre as plantas cianogênicas.

Nos experimentos realizados em Pimenteiras, a planta murcha foi mais tóxica que a fresca. Já nos experimentos na área do Km 47, tal fato não se repetiu. Em uma ocasião, a dose de 10g/kg das folhas frescas ou das folhas murchas, não causou sintomas de intoxicação, em outra esta mesma dose das folhas frescas causou a morte do bovino, e doses um pouco superiores da planta fresca, sempre foram fatais.

A planta dessecada continuou tóxica, até 8 meses após sua coleta; quando guardada durante período mais longos, não mais se revelou tóxica. Há poucos dados na literatura sobre a manutenção da toxidez de plantas cianogênicas dessecadas. Aplin (1976) afirma que as plantas perdem o HCN quando cortadas, dessecadas ou quando submetidas a processo de volatilização. Feno preparado a partir de uma planta potencialmente perigosa será, quando bem seco, seguro para a alimentação de animais. Por outro lado, Kingsbury (1964) diz que feno fresco preparado a partir de algumas plantas pode ser perigoso, porém, com o passar do tempo, não haveria maiores riscos, provavelmente pela volatilização do HCN. Também a esse respeito, Van der Walt (1944) informa que a quantidade de HCN liberada por *Andropogon sorghum* é menor quan-

do o processo de dessecação é rápido. "Sudan grass" dessecado em forno perde um pouco de HCN, porém mais HCN é perdido quando esse processo é feito ao sol. Quando dessecado à sombra, o HCN é todo ou quase totalmente eliminado.

Em relação aos resultados da prova de papel picro-sódico, lentos e variáveis, com *P. macrocarpa*, Everist (1974) lembra que há glicosídeos que se desintegram com facilidade, outros se mantêm mais estáveis; a liberação do HCN em algumas plantas é mais rápida do que em outras, em função da natureza dos próprios glicosídeos ou do tipo e da quantidade de enzimas disponíveis para sua hidrólise (decomposição).

Em um bovino, a evolução da intoxicação foi de 11 dias, que é um acontecimento incomum. Casos de morte, com evolução protraída, devidos à intoxicação por HCN, devem ser extremamente raros, pois muito poucos têm sido relatados no homem e nos animais domésticos (Hartley 1963). Na intoxicação com uma única dose de HCN, os animais se recuperam rapidamente, sem sequelas, ou há morte rápida antes que as lesões se desenvolvam. A encefalopatia só é vista em casos de intoxicação severa em que os animais sobrevivem por um período suficientemente longo para permitir o desenvolvimento de alterações patológicas (Levine & Geib 1966) secundárias à anoxia (Sullivan 1985). No homem foram descritos diversos casos de intoxicação acidental desta natureza (vide revisão em Haymaker et al. 1952). Em relação aos animais só encontramos na literatura o registro de casos em um gato (Levine & Geib 1966) e em dois cães (Hartley 1963).

Porém há alguns trabalhos experimentais que se referem à encefalopatia após um único insulto em cães (Meyer 1933, Haymaker et al. 1952), macacos (Hurst 1940, Zimmerman cit. por Haymaker et al. 1952) e ratos (Levine & Stypulkowski 1959). A lesão descrita na maioria dos casos acima citados é uma encefalopatia de extensão variável, que afeta sobretudo a substância cinzenta, diversos núcleos cerebrais e córtex cerebelar. Em relação à localização das lesões, Haymaker et al. (1952) ponderam que a substância cinzenta provavelmente será mais afetada se o insulto for único, e a substância branca quando o insulto for repetido. Já Levine & Stypulkowsky (1959) afirmam, referindo-se à intoxicação por insultos únicos, que lesões da substância cinzenta tendem a ocorrer quando a intoxicação é severa e que lesões da substância branca ocorrem na intoxicação cianídrica menos severa.

Por outro lado, a intoxicação crônica, isto é, a ingestão de pequenas quantidades de HCN por períodos prolongados, é assunto bastante discutido na literatura, principalmente em relação ao homem. Segundo Van der Walt (1944), ainda não está claro até que ponto a intoxicação crônica por HCN ocorre nos animais domésticos. De acordo com Steyn (1977), quando plantas cianogênicas são ingeridas em doses abaixo da letal, por períodos prolongados, a intoxicação crônica poderia ocorrer sob duas formas. Na primeira, o sistema nervoso central seria afetado pela anoxia de longa duração; na segunda haveria um efeito bocígeno, pois os glicosídeos cianogênicos são transformados no fi-

gado em tiocianetos, menos tóxicos, que porém impedem a capacidade seletiva de absorção de iodo pela tireóide, provocando bócio. Detalhes sobre esse tópico são fornecidos por Van der Walt (1944), Steyn (1977), Conn (1978) e Montgomery (1980).

REFERÊNCIAS

- Aplin T.E.H. 1976. Cyanogenetic plants of Western Australia. Bulletin 3967, Western Australian Department of Agriculture. 14 p.
- Canella C.F.C., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1968. Intoxicação experimental pela "maniçoba" (*Manihot glaziovii* Muell. Arg.) em bovinos. Pesq. Agropec. Bras. 3:347-350.
- Canella C.F.C., Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1966. Experimentos com plantas tidas como tóxicas realizados em bovinos no Nordeste do Brasil, com resultados negativos. Pesq. Agropec. Bras. 1:345-352.
- Conn E.E. 1978. Cyanogenesis, the production of hydrogen cyanide, by plants, p. 301-310. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants in Livestock. Academic Press, New York.
- Everist S.L. 1974. Poisonous Plants of Australia. Angus and Robertson, Sidney.
- Hartley W.J. 1963. Polioencephalomalacia in dogs. Acta Neuropathologica 2:271-281.
- Haymaker W., Ginzler A.M. & Ferguson R.L. 1952. Residual neuropathological effects of cyanide poisoning. Military Surgeon 111(4):231-246.
- Hurst E.W. 1940. Experimental demyelination of the central nervous system. 1. The encephalopathy produced by potassium cyanide. Aust. J. Exp. Biol. & Med. Sci. 18:201-223.
- Kingsbury J.M. 1964. Poisonous Plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Levine S. & Geib L.W. 1966. Leukoencephalopathy in a cat due to accidental cyanide poisoning. Path. Vet. 3:190-195.
- Levine S. & Stypulkowski W. 1959. Experimental cyanide encephalopathy. Arch. Path. 67:306-323.
- Meyer A. 1933. Experimentelle Vergiftungsstudien. III. Über Gehirnveränderungen bei experimenteller Blausäurevergiftung. Ztschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat. 143:333-348.
- Montgomery R.D. 1980. Cyanogens, p. 143-160. In: Liener I.E. (ed.) Toxic Constituents of Foodstuffs. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Steyn D.G. 1977. Modern trends in methods of food production, food processing and food preparation which constitute a potential hazard to human and animal health. Cyanogens. Tech. Communication n. 136, Dep. Agric. Tech. Services, Rep. S. Africa, Pretoria, p. 13-18.
- Sullivan N.D. 1985. The nervous system. Cyanide poisoning, p. 250. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. Vol. 2. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Van der Walt S.J. 1944. Some aspects of the toxicology of hydrocyanic acid in ruminants. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind. 19(1/2):79-160.

PROVAS FUNCIONAIS DO SUCO DE RÚMEN DE CAPRINOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA FLUMINENSE¹

HELOISA KRELING DA SILVA², LUIZ GRAEFF VIANNA³ e JOSÉ DIOMEDES BARBOSA⁴

ABSTRACT.- Silva H.K., Vianna L.G. & Barbosa J.D. 1994. [Rumen function tests in goats under pasture conditions in the Baixada Fluminense.] Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na Baixada Fluminense. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3):65-68. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

The research was carried out to determine values for rumen functions in goats under pasture conditions in the Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. Ruminant samples were collected using an esophageal tube, from 16 goats during the month of November (spring). The macroscopic characteristics showed that the variation in color was from green to nut-brown, the smell was aromatic, the consistency was slightly viscous, and there was no sedimentation or floating. In the physico-chemical evaluations, the average values were: pH measured with a pH meter 7.13 ± 0.06 , and with a special indicator paper 7.04 ± 0.07 ; methylene-blue reduction, 6.21 ± 0.65 minutes; nitrite reduction, 7.55 ± 0.98 , 19.68 ± 2.74 , and 31.38 ± 4.38 minutes in the tubes with 0.2, 0.5 and 0.7 ml of KNO_2 , respectively; acidity 18.04 ± 1.63 units; glucose fermentation, 0.21 ± 0.06 and 0.47 ± 0.08 ml gas measured at 30 and 60 minutes; cellulose digestion, 50.84 ± 2.58 hours; and chloride 39.26 ± 2.41 mEq/l. Ruminant microbiotic analysis revealed variations in size, density, and active motility of the protozoa, and a mixed population of bacteria with a predominance of the Gram negative forms.

INDEX TERMS: Goats, rumen, fluid, protozoa, bacteria, Rio de Janeiro.

SINOPSE.- Esta pesquisa teve o objetivo de determinar valores para as funções ruminais em caprinos sob condições de pastagem na Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. Amostras de fluido ruminal foram coletadas através de sonda esofágica, de 16 caprinos, durante o mês de novembro (primavera). As características macroscópicas mostraram que a variação na coloração foi entre o verde e castanho, o odor foi aromático, a consistência levemente viscosa e não houve sedimentação ou flotação. Nos exames físico-químicos, os valores médios foram: pH medido com pHmetro $7,13 \pm 0,06$ e com papel indicador especial $7,04 \pm 0,07$; redução do azul de metileno $6,21 \pm 0,65$ minutos; redução de nitritos $7,55 \pm 0,98$, $19,68 \pm 2,74$ e $31,38 \pm 4,38$ minutos em tubos com 0,2, 0,5 e 0,7 ml de KNO_2 , respectivamente; acidez total titulável $18,84 \pm 1,63$ unidades; fermentação da glicose $0,21 \pm 0,06$ e $0,47 \pm 0,08$ ml de gás medidos em 30 e 60 minutos; digestão da celulose $50,84 \pm 2,58$ horas e cloretos $39,29 \pm 2,41$ mEq/l. A análise microbiológica ruminal revelou variações no tamanho, densidade e motilidade ativa de protozoários e uma população bacteriana mista com o predomínio de formas Gram negativas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Caprinos, rúmen, fluido, protozoa, bactéria, Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

As atividades fermentativas da microbiota ruminal promovem a degradação da parede celular vegetal através de digestão por enzimas que inexistem nos tecidos animais, possibilitando a nutrição do hospedeiro.

A busca do aumento da produtividade dos rebanhos, através da introdução de novas fontes de alimentos ricos em carboidratos de rápida fermentação ruminal, acarretou uma maior incidência de distúrbios digestivos nos ruminantes (Krogh 1959).

As provas de função ruminal (Holténus et al. 1959) assumiram grande importância no diagnóstico destas alterações, pela avaliação das atividades bioquímicas microbianas normais e patológicas dos reservatórios gástricos, auxiliando a estabelecer a etiologia, assim como, orientando a terapêutica e profilaxia adequadas.

Embora a literatura apresente trabalhos realizados com bovinos, é necessário que parâmetros de normalidade dos conteúdos ruminais sejam estabelecidos para as outras espécies domésticas devido às reconhecidas diferenças na capacidade digestiva e hábitos alimentares que apresentam (Moulin et al. 1987, Hofmann 1989).

Nos últimos anos, apesar da criação de caprinos no Brasil ter recebido grande incentivo e considerável desenvolvimento zootécnico, ainda existe uma escassez de trabalhos científicos sobre o estudo do suco ruminal destes animais nas condições climáticas e de manejo do País (Silva 1993).

¹ Aceito para publicação em 11 de março de 1994.

Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, realizada no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro, 23851-970.

² Médica Veterinária, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

³ Departamento de Medicina e Cirurgia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23835-970.

⁴ Médico Veterinário, Hospital Veterinário, UFRRJ.

Desta forma, a presente pesquisa teve como objetivo determinar padrões de normalidade para o suco ruminal de caprinos criados em regime extensivo de pastagem na Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Anatomia Patológica do Convênio Projeto Saúde Animal entre a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

Foram utilizados 16 animais, clinicamente saudáveis, sem raça definida (SRD), adultos, de ambos os sexos, submetidos à dieta de forragem verde, em que predominava a gramínea batatais (*Paspalum notatum*) em regime extensivo e água "ad libitum".

A dieta foi analisada para as seguintes frações: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo a metodologia da AOAC (1984).

As coletas de suco ruminal foram realizadas semanalmente durante o mês de novembro, no horário entre 7:00 e 8:00 horas, no período de repouso alimentar, sendo retirado um total de três amostras de 200 ml de cada animal, mediante o uso de uma sonda esofágica artesanal, constituída de um tubo plástico flexível, com diâmetro de 2 cm, apresentando uma das extremidades fenestrada e a outra ligada a uma bomba de sucção e a um tubo coletor (Fig. 1).

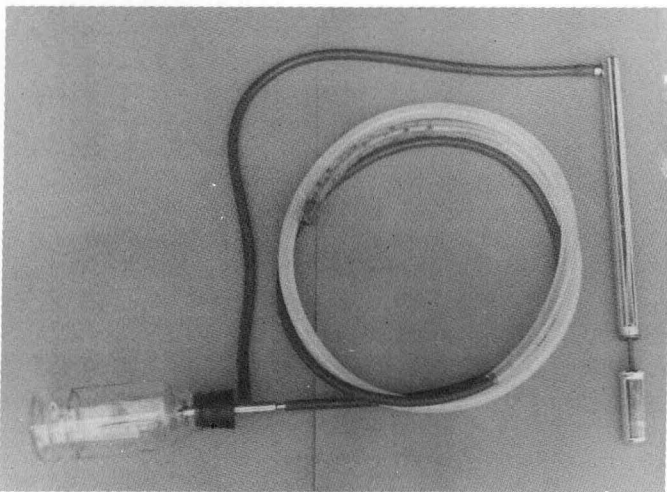


Fig. 1. Sonda esofágica artesanal: bomba de sucção, tubo de plástico fenestrado e vidro coletor.

O exame do suco ruminal era realizado imediatamente após a coleta e constava das provas macroscópicas de cor, odor, aspecto, sedimentação e flotação. Os exames físico-químicos consistiram de provas de determinação do pH, redução do azul de metileno, redução de nitritos, acidez total titulável, fermentação da glicose, digestão da celulose e determinação de cloretos, descritos por Rosenberger (1983). No exame microbiológico, a microbiota foi avaliada por estimativa da densidade, da motilidade e da por-

centagem de pequenos, médios e grandes protozários, enquanto que para as bactérias foram determinados o grupo dominante e a morfologia, de acordo com Baumgartner (1983).

Na análise estatística, as variáveis qualitativas foram submetidas à aplicação de teste específico e das variáveis quantitativas foram obtidos a média e o intervalo de confiança para a média, ao nível de 95% de certeza (Vieira 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame macroscópico, o suco ruminal apresentou as colorações verde clara em 50% das amostras, castanho-amarelada em 41,67% e a cor verde-oliva esteve presente em 8,33% das amostras, estando relacionadas com a alimentação à base de pastagem (Seren 1966, Rosenberger 1983).

O odor do suco ruminal, foi nitidamente aromático *sui generis* em 100% das amostras.

A consistência do suco ruminal foi levemente viscosa em 91,67% das amostras observadas e em 8,33% das amostras foi viscosa. As diferentes viscosidades podem ser atribuídas a variações individuais, em razão da influência de diversos fatores como a ingestão de água de bebida e o volume de saliva produzida (Silva 1993).

As partículas do suco ruminal ficaram suspensas no meio, sem atingir a superfície ou formar sedimento, durante os 30 minutos de realização da prova de sedimentação e flotação. Como os tempos para esta prova, de acordo com Nichols & Penn (1958) e Rosenberger (1983), são de 8,7 e 6,0 minutos, respectivamente, os resultados obtidos poderiam indicar uma reduzida atividade fermentativa da microbiota dos caprinos em estudo. Entretanto, os valores de normalidade citados por estes autores se referem

Quadro 1. Resultados estatísticos dos valores de normalidade dos exames físico-químicos do suco ruminal de caprinos em sistema extensivo de pastagem

		IC (5%) ^a	DP ^b	DPM ^c
pH	pHmetro fita	7,13 + 0,05	0,19	0,03
		7,04 0,04	0,25	0,04
Azul de Metileno	(min)	6,21	0,65	2,45
		0,32		
Nitritos (min)	0,2 ml (KNO ₂)	7,55	0,98	3,35
	0,5 ml (KNO ₂)	19,68	2,74	9,35
	0,7 ml (KNO ₂)	31,84	4,38	14,38
Acidez	(unidades)	18,84	1,63	6,49
		0,80		
Fermentação da glicose	30 min	0,21	0,06	0,18
	60 min	0,47	0,08	0,03
Digestão da celulose	(horas)	50:51	2:58	10:03
		14:04		
Determinação de cloretos	(mEq/l)	39,26	2,41	8,33
		1,20		

^a Intervalo de Confiança.

^b Desvio Padrão.

^c Desvio Padrão da Média.

a trabalhos realizados com bovinos que apresentam uma estratificação dos conteúdos do rúmen, o que não foi observado em caprinos (Warner 1962, Hofmann 1989). Assim, a ausência de flotação e sedimentação dos conteúdos "in vitro", a despeito da atividade normal da microbiota, pode ser atribuída às diferenças filogenéticas do rúmen/retículo e, em especial, do omo entre bovinos (grazers) e caprinos (intermediate feeders) (Hofmann 1989).

Os resultados dos exames físico-químicos são apresentados no Quadro 1.

As diferenças entre as médias de pH do suco ruminal, obtido por pHmetro (potenciômetro) e por fita (papel indicador), quando comparadas pelo "teste t" de Student, não foram significativas (5%). De acordo com Holtenius (1957), os resultados obtidos indicam que os valores de pH permitiram a normalidade dos processos enzimáticos e microbianos do suco ruminal dos caprinos. As pequenas diferenças entre estes resultados e os de 6,20 a 7,20 e 5,47 a 7,23 citados por Blood et al. (1983) com fita e de Abe et al. (1973) com pHmetro, respectivamente, são decorrentes de vários fatores que influenciam o pH, entre eles, a natureza da dieta e o período digestivo de menor intensidade em que se efetuaram as coletas. Devem ser consideradas, ainda, as características digestivas que variam entre os ruminantes em relação à taxa de produção e alcalinidade da saliva, importantes para a manutenção do pH (Leek 1983, Kolb 1984). Apesar do baixo valor nutricional da pastagem, revelado pelas percentagens de proteína bruta e FDA (Quadro 2) e dos tempos obtidos serem superiores aos verificados por Dirksen (1969) e por Campos Neto et al. (1977), a microbiota ruminal dos caprinos foi ativa na redução do azul de metileno, com tempos semelhantes aos citados por Rosenberger (1983).

Quadro 2. Resultados da análise da pastagem *Paspalum notatum*, expressos na matéria natural

MM%	MS%	PB%	FDN%	FDA%
04,82	33,29	02,41	25,14	12,59

A microbiota que atua sobre os compostos nitrogenados foi eficiente em reduzir os nitritos do suco ruminal de caprinos em tempos semelhantes aos citados por Rosenberger (1983) e Souza (1990) para bovinos e ovinos, respectivamente. O teste foi suficientemente preciso para indicar a redução dos nitritos mesmo em presença de dieta de baixo valor nutricional. Também a prova de redução do azul de metileno demonstrou eficiência, embora com maior praticidade e rapidez na avaliação da capacidade redutiva da microbiota ruminal.

A coleta do suco ruminal dos animais para a prova da acidez total titulável foi realizada no período alimentar em que são observadas as menores taxas de ácidos graxos voláteis, responsáveis pelo grau de acidez no rúmen (Briggs et al. 1957) que, associada a dieta exclusiva de baixo valor nutritivo (Leek 1983), decerto, foram as causas da acidez reduzida, uma vez que foi inferior aos valores de 26 unidades obtidas por Oliveira (1991), trabalhando com bovi-

nos e as 29 unidades observadas por Feitosa (1991), em pesquisa com o suco ruminal de ovinos.

Na estimativa indireta da capacidade da microbiota fermentar a glicose, através da produção de gás em sacarômetro de fermentação, foram obtidos por Holtenius et al. (1959), Zambrano (1975), Schulz (1977) e Oliveira (1991) resultados superiores aos obtidos com os caprinos deste experimento. As contagens bacterianas mais baixas ocorrem no repouso alimentar (Upadhye et al. 1978), período em que foram efetuadas as coletas do suco ruminal, estando, portanto, a atividade fermentativa reduzida. Esta, e a deficiência dietética em proteína degradável e carboidratos solúveis, podem justificar a baixa produção de gás observada.

Para a digestão da celulose, nas mesmas condições de regime alimentar, Oliveira (1991), trabalhando com bovinos, obteve tempos médios de 46 horas e Feitosa (1991), com ovinos, citou não ter havido ruptura do fio de algodão em todas as amostras e naquelas em que foi observada, ocorreu entre 48 e 72 horas, diferindo dos valores apresentados por Hoflund et al. (1948) trabalhando com ovinos e por Schulz (1977), com bovinos, cujos valores entre 48 e 52 horas, assemelham-se, no entanto, aos verificados neste experimento. Estes resultados podem indicar que as diferenças entre os coeficientes de digestibilidade e as variações entre as espécies estão ligadas ao tempo de retenção da digesta no rúmen/retículo e não em função de possíveis diferenças nas populações de microorganismos fibrolíticos entre as espécies de ruminantes (Hofmann 1989).

Na determinação de cloretos, os valores verificados para os caprinos em estudo foram superiores a 15 e 25 mEq/l; 11 e 25 mEq/l e 23,5 e 26,5 mEq/l citados por Rosenberger (1983) e Oliveira (1991), trabalhando com bovinos e por Feitosa (1991), com ovinos, respectivamente. Garry (1990) afirmou que a quantidade de cloretos é semelhante no suco ruminal e na saliva e que esta, segundo estudo de Seth (1976) com caprinos, apresenta valores de 26 a 42 mEq/l. Assim, é seguro afirmar que ocorrem variações entre espécies, considerando a sensibilidade do teste e que os animais não apresentaram qualquer sintomatologia de alteração digestiva durante o experimento.

Ao exame microscópico do suco ruminal, a análise dos protozoários revelou densidade e mobilidade variando entre média e muito alta, predominando os pequenos sobre os médios e estes sobre os grandes protozoários. Estes resultados indicam que uma avaliação estimativa dos ciliados permitiu confirmar a inexistência de anormalidades digestivas nos pré-estômagos, uma vez que a importância dos protozoários, do ponto de vista clínico, reside na sua sensibilidade às alterações ruminais, em especial nos casos onde a dieta pode produzir valores de pH menores que 6,0.

O controle microbiológico do suco ruminal revelou a predominância dos microrganismos Gram negativos sobre os Gram positivos em 100% das amostras e a presença de cocos isolados, estreptococos, bastonetes, sarcinas, rose-tas e bacilos. Esta microbiota bacteriana mista coincide

com os tipos observados no suco ruminal de bovinos em pastagem (Rosenberger 1983) e de bovinos de matadouro (Souza 1990).

Considerando que todos os animais permaneceram saudáveis durante o período de estudo, os valores determinados para o suco ruminal podem ser considerados normais para a espécie caprina, em período de repouso alimentar, nas condições de pastagem da Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro.

Agradecimentos. - Os autores agradecem à Diagnóstica Merck Química e Comércio e Indústria Química S.A. pela doação do "Kit" Comercial para determinação volumétrica de cloretos.

REFERÊNCIAS

- Abe M., Shibui H., Iriki T. & Kumeno F. 1973. Br. J. Nutr. 29:197-202.
- Association of Official Analytical Chemists 1984. Official Methods of Analysis A.O.A.C., Washington, D.C.
- Baumgartner W. 1983. Labordiagnostik in der Klautierpraxis. 5. Untersuchung des Pansensaftes. Tierärztl. Umsch. 38:558-561.
- Blood D.C., Henderson J.A. & Radostits O.M. 1983. Clínica Veterinária. 5a. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1121 p.
- Briggs P.K., Hogan J.P. & Reid R.L. 1957. The effect of volatile fatty acids lactic acid and anatomia on rumen pH in sheep. Aust. J. Agric. Res. 8:674-90.
- Campos Neto O. 1977. Aspectos físico-químicos do conteúdo do rumen e suas implicações na patogenia das enfermidades deste órgão. Comunicado Científico, Esc. Med. Vet. Zootec., USP, 1(1):7-81.
- Dirksen G.V. 1969. Ist die Methylenblau Probe als Schnelltest für die klinische Pansensaftuntersuchung geeignet? Dtsch. Tierärztl. Wschr. 76:305-309.
- Feitosa F.L.F. 1991. Avaliação do líquido ruminal de ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale criados em regime extensivo de pastagem, no município de Botucatu. Dissertação (Mestrado) Fac. Med. Vet. Zootec, Unesp-Botucatu. 88p.
- Garry F.B. 1990. Indigestion in ruminants, 747-782. In: Smith B.P. (ed.) Large Animal Internal Medicine. Vol. 1. C.V. Mosby, St. Louis.
- Hoflund S., Quin J.I. & Clark R. 1948. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa. XV. The influence of cellulose digestion (a) in the rumen and (b) in ruminal ingesta as studied in vitro. Onderstepoort J. Vet. Sci. 23:395-409.
- Hofmann R.R. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: A comparative view of their digestive system. Ecologia 78:443-457.
- Holtenius P. 1957. Nitrite poisoning in sheep, with special reference to the detoxification of nitrite in the rumen. Acta Agric. Scand. 7:113-163.
- Holtenius P., Björck G. & Hoflund S. 1959. Die Untersuchung von Pansensaftproben. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 66:554-558.
- Kolb E. 1984. Fisiologia Veterinária. 4ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 610p.
- Krogh N. 1959. Studies on alterations in the rumen fluid of sheep, specially concerning the microbial composition, when readily available carbohydrates are added to the food I. Sucrose. Acta Vet. Scand. 1:74-97.
- Leek B.F. 1983. Clinical diseases of the rumen: a physiologist's view. Vet. Rec. 113:10-14.
- Moulin C.H.S., Mouchrek E. & Tanaka T. 1987. Uso de subprodutos agrícolas na alimentação de caprinos mestiços leiteiros. Palhada de feijão. Inf. Agropec. 13:38-40.
- Nichols R.E. & Penn K.E. 1958. Simple methods for the detection of unfavorable changes in ruminal ingesta. J. Am. Vet. Med. Assoc. 133:275-277.
- Oliveira P.B. 1991. Estudo do suco ruminal de bovinos criados em regime extensivo de pastagem (*Brachiaria decumbens*) no município de Botucatu. Dissertação (Mestrado) Fac. Med. Vet. Zootec., Botucatu. 42p.
- Rosenberger G. 1983. Exame Clínico dos Bovinos. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 429p.
- Schulz J.A. 1977. Tratado de Enfermedades del Ganado Vacuno. Tomo I. Acribia, Zaragoza. 430p.
- Seren E. 1966. Enfermedades de los Estómagos de los Bovinos. Tomo I. Acribia, Zaragoza, p. 242-247.
- Seth O.N., Rai G.S., Yadav P.C. & Pandey M.D. 1976. A note on the rate of secretion and chemical composition of parotid saliva in sheep and goat. Indian J. Anim. Sci. 46:660-663.
- Silva H.M.K. 1993. Estudo do suco ruminal de caprinos criados em regime extensivo de pastagem na Baixada Fluminense, RJ. Dissertação (Mestrado) Inst. Med. Vet. UFRJ, Itaguaí. 69p.
- Souza P.M. 1990. Conservação do suco de rumen: avaliação das características macroscópicas, microscópicas e determinadas provas funcionais. Dissertação (Mestrado) Depto. Med. Vet., UFRPe, Recife. 87p.
- Upadhye A.S., John E. & Keshavamurthy B.S. 1978. Studies on the bacterial population of rumen and biochemical changes in the ruminal fluid under ragi straw feeding. J. Agric. Sci. 12:121-124.
- Vieira S. 1986. Introdução à Bioestatística. 4ª ed. Campus, Rio de Janeiro. 294p.
- Zambrano A.F.A. 1975. Algumas provas funcionais do rúmen em bovinos submetidos a diferentes regimes alimentares. Dissertação (Mestrado) Esc. Vet., UFMG. Belo Horizonte. 57p.
- Warner A.C.I. 1962. Enumeration of rumen microorganisms. J. Gen. Microbiol. 28:119-128.

EXPERIMENTOS SOBRE A TOXIDEZ DE ALGUMAS PLANTAS ORNAMENTAIS EM OVINOS¹

ANÍBAL GUILLERMO ARMIÉN² e CARLOS HUBINGER TOKARNIA³

ABSTRACT.- Armien A.G. & Tokarnia C.H. 1994. [Experiments on the toxicity of some ornamental plants in sheep.] Experimentos sobre a toxidez de algumas plantas ornamentais em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 14(2/3):69-73. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

For determinations of possible toxic effects of ornamental plants for sheep the following plant species were tested: *Allamanda cathartica* and *Thevetia peruwiana* of the Apocinaceae family, *Codiaeum variegatum*, *Codiaeum* sp., *Euphorbia cotinifolia*, *Euphorbia pulcherrima* and *Euphorbia turucalli* of the Euphorbiaceae family, *Datura arborea* of the Solanaceae family, and *Caladium bicolor*, *Alocasia antiquorum*, *Dieffenbachia picta*, *Monstera deliciosa*, *Philodendron hastatum* and *Philodendron* sp. of the Araceae family. The aerial parts without flowers or fruits of these plants were hand fed at the largest possible doses. In these amounts and under the conditions of these experiments the above mentioned plants did not cause or caused only slight non-specific symptoms of poisoning, with the exception of some species of the Araceae family, which provoked quite specific symptoms of moderate intensity.

INDEX TERMS: Ornamental plants, toxicity, sheep.

SINOPSE.- Em função das dúvidas que se tem levantado sobre a toxidez de algumas plantas ornamentais para animais de fazenda, foram efetuados experimentos em ovinos, com as seguintes plantas: *Allamanda cathartica* ("alamanda") e *Thevetia peruwiana* ("chapéu-de-Napoleão") da família Apocinaceae, *Codiaeum variegatum* ("cróton"), *Codiaeum* sp. ("cróton"), *Euphorbia cotinifolia* ("aiapana", "maleiteira"), *Euphorbia pulcherrima* ("bico-de-papagaio") e *Euphorbia turucalli* ("avelós") da família Euphorbiaceae, *Datura arborea* ("trombeteira") da família Solanaceae, e *Caladium bicolor* ("tajá", "tinhorão", "coração-sangrento"), *Alocasia antiquorum* ("orelha-de-elefante"), *Dieffenbachia picta* ("comigo-ninguém-pode"), *Monstera deliciosa* ("costela-de-Adão"), *Philodendron hastatum* ("filodendron") e *Philodendron* sp. da família Araceae. A administração das partes aéreas frescas recém-coletadas sem flores e frutos dessas plantas foi feita manualmente, por via oral, nas maiores doses únicas possíveis. Verificou-se que as plantas nestas dosagens e condições não causaram sintomas de intoxicação ou apenas leves sintomas, não específicos, com exceção de algumas plantas da família Araceae, que produziram quadro clínico bastante típico, de intensidade moderada.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas ornamentais, toxidez, ovinos.

¹ Aceito para publicação em 28 de março de 1994.

² Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

³ Depto Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq 305010/76-VT).

INTRODUÇÃO

Ocasionalmente tem-se levantado a hipótese de que algumas plantas ornamentais poderiam ser a causa de intoxicação em animais de fazenda. As propriedades tóxicas dessas plantas são conhecidas pela ocorrência ocasional de casos de intoxicação no homem e em animais de estimação, e por isto têm sido bastante divulgadas em publicações direcionadas a médicos, como também a veterinários que se dedicam à clínica de animais de estimação (Steyn 1941, Aplin 1976, Fowler 1980, Schwartsman 1979, Albuquerque 1980, Scavone & Panizza 1980, Frohne & Pfänder 1984, Roth et al. 1984, Wagstaff 1992). A maioria dos estudos toxicológicos sobre essas plantas são de natureza química. De uma maneira geral há poucos dados experimentais. Em relação a animais de fazenda, os dados experimentais são ainda mais escassos. Para se poder confirmar diagnósticos de intoxicação por essas plantas em animais de fazenda, é preciso saber se realmente são tóxicas para essas espécies, quais as doses letais e quais os quadros clínico-patológicos que provocam. O presente estudo visou obter esses dados, para a espécie ovina, através da administração de plantas ornamentais comuns na região do Estado do Rio de Janeiro.

Os estudos sobre a toxidez de *Nerium oleander* e *Rhododendron*, únicas plantas testadas nesta série que causaram intoxicação grave com morte de animais, serão tratados à parte.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos consistiram na administração das folhas frescas de plantas ornamentais coletadas no Estado do Rio de Janeiro. Em alguns experimentos com plantas da família Araceae, foram administradas as folhas e os talos (pecíolos), em outros as folhas sem os talos. Foram usados ovinos adultos, de ambos os sexos. As plantas eram administradas manualmente por via oral. Procuramos administrar as maiores doses únicas possíveis. Os animais eram mantidos em baias individuais, com capim e água à vontade. Antes e durante os experimentos, os ovinos eram examinados clinicamente, pelo menos três vezes ao dia; o consumo do capim e o aspecto das fezes eram controlados.

Dois animais (Ov. 5056 e 5077) que receberam plantas da família Araceae, foram sacrificados para estudo histológico quando o edema da língua e da boca estava bem patente, respectivamente 2h50min e 4h58min após o começo da administração da planta. Fragmentos de língua e lábio, esôfago e pré-estômagos, bem como de coração, pulmão, fígado, rim, baço, linfonodos, glândulas de secreção interna, das diversas partes do tubo digestivo, bem como do sistema nervoso central, foram coletados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados à 5 micra e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos com plantas ornamentais em ovinos constam no Quadro 1.

Verifica-se que nessas dosagens e condições as plantas relacionadas não causaram sintomas de intoxicação ou somente leves sintomas - só um animal adoeceu moderadamente (Ov. 5005 que recebeu 20 g/kg de *Allamanda cathartica*) - e sem sintomatologia específica, com exceção de algumas plantas da família Araceae, que produziam quadro clínico bastante típico, de intensidade moderada.

Seguem alguns dados sobre os experimentos em que os animais adoeceram:

Apocinaceae

Allamanda cathartica. As doses mais elevadas administradas, 20 e 25 g/kg, produziram leves e moderados sintomas. Porém 7,5 e 10 g/kg ainda produziram leves sintomas. Os principais sintomas observados foram anorexia, hipomotilidade e atonia ruminal e taquicardia.

Thevetia peruwiana. A dose mais elevada administrada, 20 g/kg, causou leves sintomas. Dose de 2 g/kg ainda provocou sintomas de intoxicação. Os principais sintomas observados foram hipomotilidade ruminal, fezes menos consistentes, chegando a líquidas em um animal.

Euphorbiaceae

Euphorbia pulcherrima. As doses mais elevadas administradas, de 10,6 e 20 g/kg, produziram leves sintomas de anorexia e atonia ruminal.

Solanaceae

Datura arborea. A dose mais elevada de 20 g/kg, produziu leves sintomas de arritmia cardíaca moderada e fezes menos consistentes.

Araceae

Este grupo se distinguiu pela sintomatologia relacionada com o efeito local das plantas, isto é, edema da língua, nos lábios e na face. Na intoxicação por *Alocasia antiquorum* e *Dieffenbachia picta* essas alterações eram acentuadas (Fig. 1 e 2), ocorrendo ainda sialorréia e dificuldade de apreensão dos alimentos. Na intoxicação por *D. picta* havia, adicionalmente, necrose do epitélio da mucosa bucal. Já *Philodendron hastatum* e *Monstera deliciosa* só causaram alterações muito leves. É importante salientar que mesmo na intoxicação pelas aráceas que causaram quadros de intoxicação mais graves, os animais não correram risco de vida.

Nos animais sacrificados para estudos histológicos foram verificadas as seguintes alterações: No ovino 5057 (SAP

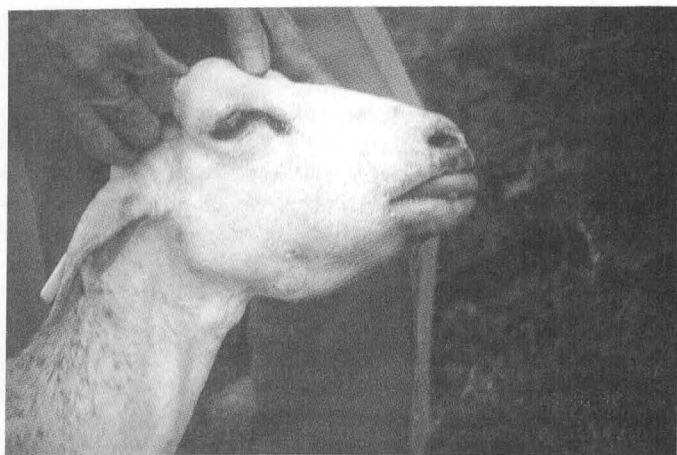


Fig. 1. Acentuado edema da língua, nos lábios e na face, com protrusão da língua. Intoxicação experimental por *Alocasia antiquorum* (Ovino 5057).



Fig. 2. Acentuado edema da língua. Intoxicação experimental por *A. antiquorum* (Ovino 5057).

Quadro 1. Experimentos em ovinos com plantas ornamentais, coletadas no Estado do Rio de Janeiro

Planta (Família/ nome científico)	Ovino		Administração			Sintomas				
	N ^o	Peso kg	Data	Quantidade ^a g	Dose g/kg	Desfecho	Início dos sintomas após o começo da administração	Evolução	Recuperado após começo da administração	Manifestações
Apocinaceae <i>Allamanda cathartica</i> ("alamanda")	5056	13	30.6.92	97,5	7,5	Adoeceu levemente	39h45min	54h15min	94h	Aumento da intensidade dos batimentos cardíacos com leve duplicação do primeiro som
	5057	13	30.6.92	130	10	Adoeceu levemente	14h10min	250h30min	11 dias	Arritmia cardíaca, anorexia, polaquiúria, hipomotilidade ruminal
	5025	20	6.7.92	300	15	Adoeceu levemente	2h45min	86h30min	89h	Anorexia; no início atonia ruminal, posteriormente hipomotilidade com movimentos incompletos, polaquiúria e taquicardia
	5005	32,5	15.7.92	640	20	Adoeceu moderadamente	6h25min	88h35min	95h	Animal em estação ou decúbito esternal; anorexia, apatia, ranger de dentes, atonia ruminal, movimentos incompletos do rúmen, tremores musculares, pêlos arrepiados, congestão moderada das mucosas visíveis, polidipsia, polaquiúria, oligúria, duplicação do primeiro som dos batimentos cardíacos
	5007	26	19.8.92	650	25	Adoeceu levemente	3h04min	75h56min	79h	Apatia, anorexia, atonia ruminal, hipomotilidade ruminal, taquicardia, aumento da intensidade dos batimentos cardíacos com duplicação do primeiro som, mucosa ocular congesta, tremores musculares, pêlos arrepiados, extremidades frias
<i>Thevetia peruviana</i> ("chapéu-de-Napoleão")	5059	16	19.11.92	240 ^b	15	Adoeceu levemente	15h25min	21h40min	37h	Atonia ruminal, taquicardia, leve arritmia
	5003	28	20.6.92	28	-	Sem sintomas	-	-	-	-
	5026	22,5	30.6.92	45	2	Adoeceu levemente	25h27min	111h53min	137h	Leve arritmia cardíaca com duplicação do primeiro som
	5021	20	6.7.92	100	5	Adoeceu levemente	21h34min	23h56min	45h	No início atonia ruminal; taquicardia e leve arritmia
	5007	26	15.7.92	390	15	Adoeceu levemente	22h45min	91h46min	114h	Fezes pastosas e líquidas de coloração verde-marron-amarelada
Euphorbiaceae <i>Codiaeum variegatum</i> ("cróton")	5053	27	14.11.92	540	20	Adoeceu levemente	11h07min	34h11min	45h	Taquicardia, leve arritmia e duplição do primeiro som, hipomotilidade ruminal, atonia ruminal, polidipsia, fezes pastosas, freqüente ato de deglutição de saliva
	5045	49	29.4.92	490 ^c	10	Sem sintomas	-	-	-	-
	5020	18	16.5.92	370	20,5	Sem sintomas	-	-	-	-
	5020	23	17.4.92	300 ^b	13	Sem sintomas	-	-	-	-
	5004	31,5	23.4.92	315 ^b	10	Sem sintomas	-	-	-	-
<i>Euphorbia pulcherrima</i> ("bico-de-papagaio")	5056	15	3.9.92	300	20	Sem sintomas	-	-	-	-
	5029	21	20.4.92	210 ^d	10	Sem sintomas	-	-	-	-
	5003	32	12.5.92	340	10,6	Adoeceu levemente	19h20min	45h30min	65h	Apatia, anorexia, parada dos movimentos do rúmen
<i>Euphorbia turicalli</i> ("avelós")	5060	20	15.9.92	400	20	Adoeceu levemente	7h15min	82h45min	90h	Apatia, anorexia, leve arritmia cardíaca, atonia ruminal, ranger de dentes
	5028	16	15.6.92	260	16,5	Sem sintomas	-	-	-	-
Solanaceae <i>Datura arborea</i> ("trombeta")	5029	15	15.6.92	300	20	Sem sintomas	-	-	-	-
	5052	34	13.5.92	540	15,8	Sem sintomas	-	-	-	-
Araceae <i>Caladium bicolor</i> ("tajá", "tinhorão", "coração-sangrento")	5025	16,5	18.5.92	330	20,0	Adoeceu levemente	6h15min	81h00min	87h	Moderada arritmia cardíaca, fezes pastosas
	5053	23	12.5.92	100 F/T ^e	4,4	Sem sintomas	-	-	-	-

Quadro 1 (cont.). Experimentos em ovinos com plantas ornamentais, coletadas no Estado do Rio de Janeiro

Planta (Família/ nome científico)	Ovino		Administração			Sintomas				
	N ^o	Peso kg	Data	Quantidade ^a g	Dose g/kg	Desfecho	Início dos sintomas após o começo da administração	Evolução	Recuperado após começo da administração	Manifestações
<i>Alocasia aniquorum</i> ("orelha-de-eflante")	5047	45	22.4.92	270 F	6,0	Adoeceu moderadamente	0h35min	159h10min	160h	Edema acentuado da língua, nos lábios e na face, atonia e movimentos incompletos do rúmen, dificuldade na apreensão de alimentos, sialorréia moderada, no início constipação
	5004	26	12.5.92	150 F	5,8	Adoeceu levemente	0h43min	75h57min	77h	Leve edema da língua, nos lábios e na face, dificuldade na apreensão dos alimentos, hipomotilidade e movimentos incompletos do rúmen, fezes pastosas
	5052	27	18.6.92	200 F/T	7,4	Adoeceu moderadamente	0h15min	112h35min	113h	Acentuado edema da língua, nos lábios e na face, acentuada sialorréia, dificuldade na apreensão dos alimentos, movimentos incompletos do rúmen
	5056 (SAP 26147)	17,5	12.10.92	170 F/T	9,7	Adoeceu leve/moderadamente	0h15min	2h35min	Sacrificado	Acentuado edema da língua, nos lábios e na face, acentuada sialorréia, dificuldade na apreensão dos alimentos
<i>Dieffenbachia picta</i> ("comigo-ninguém-pode")	5021	31	10.4.92	310 F	10,0	Adoeceu moderadamente	0h25min	105h	105h	Moderado edema da língua, nos lábios e na face, acentuada sialorréia, acentuada necrose difusa do epitélio da língua com área de erosão, dificuldade na apreensão dos alimentos, movimentos incompletos do rúmen
	5022	50	12.5.92	290 F	5,8	Adoeceu moderadamente	30min	239h25min	240h	Acentuado edema da língua, nos lábios e na face, acentuada sialorréia, acentuada necrose difusa do epitélio do rúmen; dificuldade na apreensão dos alimentos, hipomotilidade do rúmen com movimentos incompletos, leve constipação
	5014	35	18.5.92	100 F/T	2,9	Adoeceu moderadamente	0	163h10min	163h	Moderado edema da língua, nos lábios e na face, leve sialorréia, dificuldade na apreensão dos alimentos, movimentos incompletos do rúmen, necrose difusa do epitélio da língua, leve constipação
	5057 (SAP 26148)	16	12.10.92	140 F/T	8,8	Adoeceu leve/moderadamente	0h40min	4h18min	Sacrificado	Moderado edema da língua e moderado/accentuado nos lábios e na face, acentuada sialorréia
<i>Monstera deliciosa</i> ("costela-de-Adão")	5026	22,5	19.4.92	100 F	4,4	Adoeceu discretamente	18h45min	75h15min	94h	Fezes pastosas com muco, às vezes com algumas estrias de sangue
	5028	22,5	22.4.92	175 F	7,7	Adoeceu discretamente	-	-	-	Apenas do dia 25.4.92 mostrou fezes pastosas com presença de pseudo-membranas
	5008	25,5	19.8.92	500 F	20,0	Adoeceu levemente	21h10min	32h20min	53h	Aumento da intensidade dos batimentos cardíacos com duplicação do primeiro som, leves movimentos incompletos do rúmen
<i>Philodendron hastatum</i> ("filodendron")	5027	20	19.4.92	160 F/T	8	Adoeceu levemente	17h23	47h13min	65h	Leve anorexia, hipo e hipomotilidade ruminal com movimentos incompletos, fezes pastosas com presença de muco
	5054	50	12.4.92	300 F/T	6	Sem sintomas	-	-	-	Leve edema dos lábios
	5005	32,5	16.5.92	325 F/T	10	Adoeceu discretamente	5h35min	9h10min	15h	-
	5005	32,5	19.8.92	650 F/T	20	Sem sintomas	-	-	-	-
<i>Philodendron</i> sp.	5054	43	3.9.92	430 ^b F	10	Adoeceu levemente	0h38min	42h34min	43h	-
	5053	23	3.9.92	100 ^b F	4,3	Adoeceu levemente	0h50min	27h15min	28h	Moderado edema da boca, nos lábios e na face; hipomotilidade ruminal, constipação Leve/moderado edema nos lábios e na face da língua

^a Quando não consta nada, a planta era procedente do município de Itaguaí.^b Planta procedente do município de Paulo de Frontin.^c Planta procedente do município de Niterói.^d Planta procedente do município de Mendes.^e F/T = folhas e talos; F = folhas sem talos.

26148), que tinha ingerido *Dieffenbachia picta*, havia acentuada alteraçaõ necrótico-degenerativa do epitélio da língua. Em grandes porções, a necrose afetava toda a camada epitelial, em outras apenas a camada basal estava preservada. Observou-se formaçaõ de grandes fendas entre o estrato basal e o estrato espinhoso, preenchidas por fibrina e infiltrados predominantemente polimorfonucleares, ambas em pequena quantidade. Em pequenas áreas apenas as células epiteliais da metade superior do epitélio apresentavam necrose ou alterações degenerativas; às vezes as células necróticas da metade inferior do epitélio apresentavam-se dissociadas entre si, e por vezes, entremeados por neutrófilos. Verificou-se marcada necrose coagulativa de fibras musculares adjacentes à mucosa, acompanhada por infiltraçaõ de neutrófilos e poucos macrófagos. No tecido conjuntivo da mucosa e entre os músculos da língua havia acentuado edema, em algumas áreas com fibrina. Leve congestão dos vasos da própria, em parte com leucocitostase e pavimentaçã de neutrófilos também foram observados. Nos lábios, a lesã era semelhante à da língua. No esôfago verificou-se acentuado edema na própria e por entre as camadas musculares longitudinal e transversal e necrose difusa dos dois terços superiores do epitélio. No rúmen, havia apenas leve edema da própria.

No ovino 5056 (SAP 26147), que tinha ingerido *Alocasia antiquorum*, de maneira geral, as lesões eram semelhantes às observadas no ovino 5077, entretanto menos acentuadas. As fendas entre os estratos basal e espinhoso e infiltrados por polimorfonucleares, estavam presentes em menor escala, porém o edema da própria e entre os músculos da língua era mais acentuado.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os nossos experimentos mostram que a ingestã das plantas acima relacionadas, pelo menos em doses únicas, difi-

cilmente possam causar intoxicaçaõ grave com êxito letal em ovinos. Não obstante, resta ser verificado se os frutos e as flores dessas plantas poderiam potencializar o efeito tóxico das folhas.

Mesmo as plantas pertencentes a família das aráceas, sobre as quais existem maiores informações toxicológicas (Occhioni & Rizzini 1958, Kingsbury 1964, Plowman 1969), apesar de provocarem um quadro clínico marcado, não causaram a morte dos ovinos.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque J.M. 1980. Plantas Tóxicas no Jardim e no Campo. Fac. Ciênc. Agrárias do Pará, Belém. 120 p.
- Aplin T.E.H. 1976. Poisonous Garden Plants and other Plants Harmful to Man in Australia. Bulletin 3964, Western Australian Department of Agriculture. 58 p.
- Fowler M.E. 1980. Plant Poisoning in Small Companion Animals. Balston Purina Company, Saint Louis, Missouri. 51 p.
- Frohne D. & Pfänder H.J. 1984. A Colour Atlas of Poisonous Plants. Wolf Publishing Ltd, London.
- Kingsbury J.M. 1964. Poisonous Plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Occhioni P. & Rizzini C.T. 1958. Açã tóxica de duas sp. de *Dieffenbachia*. Revta Bras. Medicina, 15(1). 19 p. (Separata)
- Plowman T. 1969. Folk uses of New World Aroids. Economic Botany 23(2):97-122.
- Roth L., Daunderer M. & Kormann K. 1984. Giftpflanzen - Pflanzengifte, Vorkommen, Wirkung, Therapie. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg. 1032 p., 401 farbige Abb.
- Scavone O. & Panizza S. 1980. Plantas Tóxicas. CODAC - USP, São Paulo. 110 p.
- Schvartsman S. 1979. Plantas Venenosas. Sarvier, São Paulo. 176 p.
- Steyn D.G. 1941. The poisoning of human beings by wild plants, ornamental plants and domestic poisons. Farming in South Africa, Reprint n° 6. 8 p.
- Wagstaff D.J. 1992. Plant Poisoning in Humans, p. 340-348. In: James L.F., Keeler R.F., Bailey E.M., Cheeke P.R. & Hegarty M.P. (ed.) Poisonous Plants. Proc. 3rd Int. Symposium, Iowa State University Press, Ames.

DIFERENÇAS ANTIGÊNICAS DE CLONES DE *Moraxella bovis*¹

RENATA COSTA SCHRAMM² e FRUTUOSO LUIZ DE ARAÚJO³

ABSTRACT.- Schramm R.C. & Araújo F.L. 1994. [Antigenic differences of clones of *Moraxella bovis*.] Diferenças antigênicas de clones de *Moraxella bovis*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3): 75-78. Departamento de Veterinária Preventiva, UFPel, 96100-000 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

Some antigenic differences of clones of *Moraxella bovis* recovered from a 6 months old bullock with infectious keratoconjunctivitis were studied through different techniques. The clones were classified biochemically by standard procedures. Seven polyclonal sera were produced in rabbits and tested against 12 clones by double immunodiffusion. Six monoclonal antibodies produced against *M. bovis* GF9 were used to quantify titles contained in five clones through the hemagglutination inhibition technique. Six clones were used in an ELISA with the panel of monoclonal antibodies. Immunodiffusion detected that only one clone was different from the others, while hemagglutination showed that the five clones studied were different. ELISA showed no clear cut differences among the clones. It can be concluded that the *M. bovis* population present in the animal studied is antigenically heterogeneous and that the hemagglutination inhibition technique may detect these differences.

INDEX TERMS: Antigenicity, clones, *Moraxella bovis*.

SINOPSE.- Foram estudadas diferenças antigênicas de clones de *Moraxella bovis* recuperados de um terneiro com 6 meses de idade, acometido pela primeira vez de ceratoconjuntivite infecciosa bovina. Sete soros policlonais produzidos em coelhos foram testados contra 12 clones por imunodifusão dupla. Seis anticorpos monoclonais produzidos a partir da amostra GF9 de *M. bovis* foram usados para verificar títulos de cinco clones através da técnica da inibição da hemoaglutinação. O teste ELISA foi utilizado para detectar reações de seis clones. Através da imunodifusão verificou-se que apenas um clone foi diferente dos outros. Contudo, pela técnica de inibição da hemoaglutinação observou-se que os cinco clones estudados eram diferentes. O teste ELISA não demonstrou diferenças claras entre os clones. Pode-se concluir que a população de *M. bovis* presente no globo ocular do animal estudado é antigenicamente heterogênea.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Antigenicidade, clones, *Moraxella bovis*.

INTRODUÇÃO

Considerando a existência de diferenças antigênicas entre distintas cepas de *Moraxella bovis* sugerida por Baptista (1979), Pugh et al. (1976) e Pugh et al. (1978) e, em consequência o inconstante comportamento das vacinas na imunização dos bovinos, há a necessidade de se salientar esse fato quando se pretende o controle imunitário da ceratoconjuntivite infecciosa.

Pugh et al. (1971) sugeriram a utilização do teste de imunodifusão radial para estudos sorológicos de ceratoconjuntivite infecciosa bovina e para identificação e análise antigênica de *M. bovis*. Essa técnica, usando soros adsorvidos e não adsorvidos é considerada suficientemente sensível para o estudo de relações antigênicas entre cepas de uma bactéria, sendo capaz de detectar concentrações de antígenos de até 1µl/ml (Crowle 1973). Gil Turnes & Araújo (1982) utilizaram a técnica de imunodifusão dupla para estudar as características antigênicas de 12 amostras de *M. bovis* com soros mono-específicos, comprovando a existência de diferenças antigênicas dentro dessa espécie. Albuquerque (1982) estudou 28 amostras de *M. bovis* isoladas de olhos de 4 bovinos com ceratoconjuntivite infecciosa de um rebanho amostrado mensalmente durante 5 meses, comprovando, através da técnica de imunodifusão dupla, a existência de variações nos sorotipos da bactéria prevalente e em amostras recuperadas de um mesmo animal em diferentes coletas e isolou mais de um sorotipo de *M. bovis* de animais acometidos da enfermidade no mesmo rebanho.

Lepper & Hermans (1986) utilizaram o teste ELISA para caracterizar e quantificar antígenos de fimbrias de cepas de *M. bovis* separando-as em seis sorogrupos. Uma cepa dos Estados Unidos mostrou-se homóloga a uma cepa australiana, sugerindo a existência de determinantes antigênicos comuns.

A capacidade de aglutinar hemácias de galinha foi detectada em cepas muito fimbriadas de *M. bovis*. Amostras pouco fimbriadas também aglutinaram eritrócitos, mas com títulos consideravelmente menores. Cepas não fimbriadas

¹ Aceito para publicação em 15 de abril de 1994.

Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, realizada na Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Rio Grande do Sul.

² Departamento de Veterinária Preventiva, Fac. Veterinária, UFPel, 96100-000 Pelotas, RS.

³ Laboratório de Doenças Infecciosas, UFPel.

não hemaglutinaram. Antisoro produzido em coelhos inibiu a adesão de cepa fimbriada, sendo maior a inibição de amostra homóloga do que heteróloga, também com fímbricas (Annuar & Wilcox 1985).

As diferenças de proteção por vacinas frente a agressão por cepas homólogas e heterólogas e a existência de variações nos sorotipos de *M. bovis* de animais doentes num surto ou em diferentes regiões permitem formular a hipótese de que existem variações antigênicas entre isolamentos de *M. bovis* no globo ocular de um bovino. Este estudo teve com objetivo avaliar as características antigênicas de isolamentos de *M. bovis* coletados de um animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e isolamento

Moraxella bovis foi obtida de um animal com 6 meses de idade, raça Hereford, acometido pela primeira vez de ceratoconjuntivite infecciosa bovina e com quadro clínico inicial da doença, em fase de lacrimajamento abundante e congestão vascular. Coletou-se amostra diretamente do globo ocular, sob a terceira pálpebra, com cotonete estéril, sendo imediatamente semeada em meio de ágar sangue desfibrinado de ovino a 8%, distribuído em placa de Petri. A placa, no laboratório, foi incubada a 37°C por 24 horas. Após o crescimento bacteriano selecionaram-se colônias translúcidas e hemolíticas, que foram clonadas, semeadas em ágar sangue desfibrinado de ovino a 8%. As placas, devidamente identificadas, foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente os isolamentos foram submetidos a provas bioquímicas para identificação e liofilizados para manutenção.

Os clones de *M. bovis*, identificados com R1, R2, R3, R4, R5, R6 e R7 eram diplococos Gram negativos, autoaglutinantes em salina, positivos para oxidase e catalase, não produtores de indol e ácido sulfídrico, imóveis, não redutores de nitrato a nitrito, não oxidadores de glicose, maltose, galactose, lactose e sacarose, negativos para citrato, sem crescimento em ágar MacConkey.

Hiperimunização de coelhos

Para a produção de antígenos suspenderam-se culturas de 24 horas a 37°C dos isolamentos R1, R2, R3, R4, R5, R6 e R7 em 2 ml de solução de NaCl 0,15M (salina), com alça de platina, em condições de assepsia, até atingir turbidez equivalente ao tubo nº 3 na escala de MacFarland. Adicionou-se 0,03 ml de solução de formaldeído (Araújo 1980). Os antígenos foram inoculados por via endovenosa em coelhos (Araújo 1980). Após uma semana da última inoculação fez-se sangria total, sendo o sangue colhido em tubos de ensaio estéreis. Os soros hiperimunes, identificados como 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, correspondem, respectivamente, aos clones que lhes deram origem (R1, R2, R3, R4, R5, R6 e R7), sendo fracionados em frascos estéreis e congelados a 20°C abaixo de zero.

Imunodifusão dupla

O meio utilizado para imunodifusão dupla foi ágar

Noble 1%⁴, Na₂HPO₄ 0,06%⁵, H₂O q.s.p. 100ml, mertiolato 0,01%⁶, pH 7,6. A prova de imunodifusão dupla foi baseada nos trabalhos de Ouchterlony (1948) modificada por Pugh et al. (1971). Produziram-se antígenos para o teste de imunodifusão. De acordo com Pugh et al. (1971) culturas puras de *M. bovis* foram semeadas em três placas de ágar sangue desfibrinado de ovino a 8%, incubando-se por 24 horas a 37°C. As culturas das três placas foram suspensas em 1 ml de água destilada estéril, sendo imediatamente congeladas a 25°C abaixo de zero e descongeladas rapidamente, repetindo-se o congelamento e descongelamento por três vezes sucessivas. Centrifugou-se por 15 minutos a 1.000 rpm e adicionou-se mertiolato a 0,01% ao sobrenadante. Os antígenos foram conservados em refrigeração a 4°C. Consideraram-se positivas as reações de precipitação que formaram bandas nítidas entre os orifícios que continham antígenos e soros homólogos e heterólogos.

Ensaio imunoenzimático

Em experimentos de fusão celular Barbosa (1989) estabeleceu seis linhagens de hibridomas produtores de anticorpos monoclonais contra antígenos de superfície de *M. bovis* cepa GP9. Esses anticorpos monoclonais foram identificados através do teste ELISA como 47D, 410D, 35F, 36E, 311B e 52E e testados com os clones R1, R2, R3, R4, R5 e R7 pelo teste ELISA.

As células de *M. bovis* foram suspensas em tampão carbonato (0,1 M, pH 9,5) em concentração equivalente ao tubo nº 3 na escala de MacFarland. A seguir adicionaram-se 50µl da suspensão às cavidades das microplacas e deixou-se durante a noite a 4°C. Na manhã seguinte lavou-se a placa três vezes com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBST) e adicionou-se 0,15 ml de PBS contendo 1% de albumina bovina. Após 30 minutos a solução bloqueadora foi retirada, adicionando-se 50µl dos anticorpos monoclonais diluídos 1:50 em PBST e deixou-se reagir por 4 horas a temperatura ambiente. Soros de camundongos normais e imunizados com *M. bovis* diluídos 1:50 em PBST foram usados como controles negativo e positivo, respectivamente. Posteriormente lavou-se a placa 3 vezes com PBST, adicionando-se 50µl de conjugado composto de anticorpos de coelho anti-imunoglobulinas de camundongo ligado a peroxidase, deixando-se reagir por 3 horas a temperatura ambiente. A presença de anticorpos foi revelada pela adição de substrato para enzima.

Inibição da hemoaglutinação

Prepararam-se diluições base dois, em salina, dos soros produzidos em coelhos e de seis anticorpos monoclonais (Barbosa 1989). A 50µl de cada diluição adicionou-se 1 UHA (uma unidade hemoaglutinante) do antígeno em estudo. As microplacas foram incubadas a 37°C por 30 minutos e, então, acrescentaram-se 50µl de

⁴Difco Laboratories Inc., Detroit, Michigan, USA.

⁵Merck, Darmstadt, Alemanha.

⁶Lilly & Co., Indianapolis, USA.

suspensão de hemácias a 1%. A leitura foi feita após 90 minutos a 4°C.

RESULTADOS

Imunodifusão dupla. A técnica de imunodifusão dupla utilizando os isolamentos de *Moraxella bovis* frente aos soros permitiu comprovar uma ou mais bandas de precipitação. O clone R2 não reagiu com o soro 6.

Teste ELISA. Os anticorpos monoclonais reagiram com todos os clones de *M. bovis* testados, revelando um certo

Quadro 1. Reatividade dos anticorpos monoclonais com isolamentos de *Moraxella bovis* em um teste ELISA

Anticorpo monoclonal		Antígeno					
		R1	R2	R3	R4	R5	R7
47	D	+++ ^a	+++	+++	+++	+++	+++
410	D	+	+	+	+	++	++
35	F	+++	+++	+++	+++	+++	+++
36	E	+++	+++	+++	+++	++	++
311	B	+++	+++	+++	+++	++	++
52	E	+++	+++	+++	+++	+++	+++

^a+++ Reação forte, ++ reação média, + reação fraca.

grau de homogeneidade antigênica entre as amostras testadas (Quadro 1). O anticorpo monoclonal 410D reagiu fracamente com os clones, indicando uma diferença sorológica.

Inibição da hemoaglutinação. Observaram-se variações de títulos inibidores da hemoaglutinação entre os antígenos testados (Quadro 2). O anticorpo monoclonal 47D inibiu a hemoaglutinação pelo clone R4. O anticorpo monoclonal 36E inibiu a hemoaglutinação pelo clone R3. Nenhum anticorpo monoclonal inibiu a hemoaglutinação pelo clone R2. Todos anticorpos monoclonais foram capazes de inibir a hemoaglutinação pelos isolamentos R1 e R7. Os anticorpos monoclonais utilizados na técnica de ELISA são os mesmos usados na HI.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Bacterinas de *Moraxella bovis* contendo antígenos enzimáticos e fimbriais protegeram bovinos contra ceratoconjuntivite infecciosa quando desafiados experimentalmente com culturas homólogas e heterólogas (Reyes 1987, Gerber et al. 1988). Entretanto, há fatores limitantes ao

sucesso da imunoprofilaxia, ocorrendo diferenças de proteção por vacinas frente a agressão por cepas homólogas e heterólogas (Pugh et al. 1978).

Nossos resultados, empregando a técnica de imunodifusão dupla, demonstraram que soros homólogos e heterólogos testados com antígenos produziram uma banda de precipitação comum à maioria dos isolamentos, destacando-se o antígeno R2, que frente ao soro 6 não produziu banda, sugerindo uma diferença antigênica. Esses resultados concordam com os trabalhos de Gil Turnes & Araújo (1982), Albuquerque (1982) e Saldanha (1983), que utilizaram a adsorção de soros e detectaram heterogeneidade antigênica de amostras de *M. bovis*. Conclui-se que em isolamentos de um globo ocular e em isolamentos de diferentes bovinos detectam-se diferenças antigênicas.

A utilização do teste ELISA para avaliar diferenças entre clones de *M. bovis* isolados do globo ocular bovino revelou um certo grau de homogeneidade entre as amostras testadas. Barbosa (1989) observou resultados semelhantes comparando os mesmos anticorpos monoclonais em um teste ELISA com isolamentos de *M. bovis* de uma região do estado do Rio Grande do Sul, mas notou que a composição antigênica das cepas dos Estados Unidos era diferente das cepas de outras regiões, confirmando resultados obtidos com anticorpos monoclonais com cepas isoladas no Uruguai (Cobo et al. 1984), Austrália (Lepper & Hermans 1986) e Grã-Bretanha (Moore & Rutter 1987).

Anticorpos monoclonais têm sido usados para a caracterização sorológica de microrganismos em substituição aos soros policlonais convencionais (Waltman et al. 1988). Dos clones de *M. bovis* estudados com anticorpos monoclonais foi possível observar que dois possuíam a mesma constituição antigênica, pois reagiram com todos os anticorpos. Dois isolamentos apresentaram um antígeno em comum e o clone R2 não reagiu com os anticorpos monoclonais testados. Esses dados demonstraram que a população de *M. bovis* presente no globo ocular de um animal pode ser antigenicamente heterogênea.

Os resultados do presente estudo confirmam a hipótese testada, detectando-se diferenças antigênicas entre clones de *M. bovis*. Salienta-se que as técnicas de hemoaglutinação e ELISA quando se usam anticorpos monoclonais mostraram-se eficazes e de grande valia para demonstrar as diferenças entre clones isolados do globo ocular do bovino. Esses dados devem ser levados em consideração quanto à utilização das técnicas e especialmente na evidência sugerida pelos resultados, os quais mostram que bovinos infectados pela primeira vez podem apresentar clones distintos, dificultando a imunoprofilaxia à ceratoconjuntivite infecciosa bovina.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque I.M.B. 1982. Estudo sorológico de cepas de *Moraxella bovis* isoladas de um surto de queratoconjuntivite infecciosa bovina. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 33 p.
- Arruar B.O. & Wilcox G.E. 1985. Adherence of *Moraxella bovis* to cell cultures of bovine origin. Res. Vet. Sci. 39:241-246.

Quadro 2. Título de inibição da hemoaglutinação

Anticorpo monoclonal	GF9	Antígeno					
		R1	R2	R3	R4	R7	
47 D	16	8	0	0	4	32	
410 D	16	8	0	0	0	32	
35 F	2	8	0	0	0	16	
36 E	2	8	0	4	0	32	
311 B	8	64	0	0	0	8	
52 E	4	4	0	0	0	8	

- Araújo F.L. 1980. Caracterização sorológica da espécie *Moraxella bovis*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 42p.
- Baptista P.J.H.P. 1979. Infectious keratoconjunctivitis: a review. Br. Vet. J. 135:225-242.
- Barbosa R.C. 1989. Produção e caracterização de anticorpos monoclonais contra *Moraxella bovis*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 34 p.
- Cobo A.H., Leaniz G. & Gil Turnes C. 1984. Queratoconjunctivitis Infecciosa Bovina: caracterización serologica de cepas de *Moraxella bovis* aisladas en el Uruguay. Anales V Congresso Latinoamericano de Buiatria, Paysandu.
- Crowle A.J. 1973. Immunodifusion. 2nd ed. Academic Press, New York, p. 303.
- Gerber J.D., Selzer N.L., Sharpee R.L. & Beckenhauer W.H. 1988. Immunogenicity of a *Moraxella bovis* bacterin containing attachment and cornea-degrading enzyme antigens. Vet. Immunol. Immunopath. 18:41-52.
- Gil Turnes C. & Araújo F.L. 1982. Serological characterization of strains of *Moraxella bovis* using double immunodifusion. Can. J. Comp. Med. 46:165-168.
- Lepper A.W.D. & Hermans L.R. 1986. Characterization and quantitation of pilus antigens of *Moraxella bovis* by ELISA. Aust. Vet. J. 63:401-405.
- Moore L.J. & Rutter J.M. 1987. Antigenic analysis of fimbrial proteins from *Moraxella bovis*. J. Clin. Microbiol. 25:2063-2070.
- Ouchterlony O. 1948. In vitro method for testing the toxin producing capacity of diphtheria bacteria. Acta. Path. Microbiol. Scand. 80:911-918.
- Pugh G.W. Jr., Hughes D.E. & Booth G.D. 1978. Serologic response of vaccinated cattle to strains of *Moraxella bovis* isolated during epizootics of keratoconjunctivitis. Am. J. Vet. Res. 39:55-57.
- Pugh G.W. Jr., Hughes D.E. & McDonald T.J. 1971. Bovine infectious kerato-conjunctivitis: Serological aspects of *Moraxella bovis* infection. Can. J. Comp. Med. 35:161-166.
- Pugh G.W. Jr., Hughes D.E., Schulz V.D. & Graham C.K. 1976. Experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis: Resistance of vaccinated cattle to homologous and heterologous strains of *Moraxella bovis*. Am. J. Vet. Res. 37:57-60.
- Reyes J.C.S. 1987. Comparação da proteção induzida por vacinas de *Moraxella bovis* com e sem antígenos de fímbria. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 27p.
- Saldanha M.R. 1983. Estudo comparativo das técnicas de imunofluorescência indireta e imunodifusão dupla para a caracterização sorológica de isolamentos de *Moraxella bovis*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 36p.
- Waltman W.D. McDaniel L.S., Anderson B., Bland B.M., Eden C.S. & Briles D.E. 1988. Protein serotyping of *Streptococcus pneumoniae*, based on reactivity to six monoclonal antibodies. Microbiol. Path. 5:159-167.

OCORRÊNCIA DA PARAQUERATOSE HEREDITÁRIA (LINHAGEM LETAL A-46) NO BRASIL¹

PAULO VARGAS PEIXOTO², SHEILA DA SILVA MORAES³ e RICARDO A. LEMOS⁴

ABSTRACT.- Peixoto P.V., Moraes S.S. & Lemos R.A. 1994. [Occurrence of inherited parakeratosis (lethal trait A-46) in Brazil]. Ocorrência da paraqueratose hereditária (linhagem letal A-46) no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3): 79-84. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

Evidence of the existence of inherited parakeratosis (lethal trait A-46) in Holstein calves in southeastern Brazil is presented. Affected animals were normal at birth and about 2 months later showed alopecia and crusts around the muzzle, eyes and ears, at the limbs, axillae and dorsal cervical region. Some calves showed salivation, diarrhoea and signs of pneumonia. Two animals were treated with either zinc sulphate or zinc oxide and their condition improved after one week. Total recovery occurred after 7 weeks treatment. Suspension of zinc administration caused recurrence of the clinical signs and the lesions. Analysis of zinc in blood serum and hair revealed very low levels in untreated calves and normal levels in the calves treated with zinc. Post-mortem examination revealed lesions of the esophagus, epiglottis and glottis besides the ones at the skin. Two necropsied calves had bronchopneumonia and one of them, in which this alteration was searched for, showed pronounced thymus atrophy. Histologically the skin showed parakeratosis, hyperkeratosis and acanthosis. The final diagnosis was based on epidemiological, clinical, gross and microscopic data together with the low serum zinc levels, according to the description of inherited parakeratosis. The detection of the disease is particularly significant because of the high risk of its spreading through the trade of carrier animals or semen from carrier bulls.

INDEX TERMS: Inherited parakeratosis, lethal trait A-46, inherited zinc deficiency, cattle, Holstein calves.

SINOPSE.- São apresentadas evidências da presença de paraqueratose hereditária (linhagem letal A-46) em bezerros da raça holandesa no Brasil. Na Região Sudeste, a partir de 1973 começaram a aparecer casos de bezerros que, em meio às mesmas condições alimentares e de manejo dos bezerros não afetados, apresentavam lesões de pele progressivas e sempre morriam dentro de poucas semanas, independentemente do tipo de tratamento instituído. Os animais afetados eram normais ao nascer e em torno dos 2 meses de idade desenvolviam alopecia, formação de crostas em torno do focinho, olhos, base das orelhas, extremidades, axilas e região cervical dorsal. Em parte dos casos observaram-se sialorréia, diarreia e sinais de broncopneumonia. Dois animais foram tratados com sulfato ou óxido de zinco e evidenciaram melhoras a partir de uma semana, com recuperação total ao cabo de 7 semanas. Com a suspensão das adminis-

trações de zinco, os sintomas e lesões recrudesceram. A dosagem dos teores de zinco no soro sanguíneo e pêlo mostraram concentrações muito baixas antes dos animais serem tratados e teores normais depois de iniciado o tratamento. À necropsia, além das lesões de pele, observaram-se, em um animal, úlceras recobertas de fibrina na mucosa oral e em outro, também na epiglote, glote e esôfago; dois animais necropsiados apresentaram broncopneumonia e um deles, no qual se atentou para essa alteração, acentuada atrofia do timo. Ao exame histológico da pele havia paraqueratose hiperqueratótica e acantose. O diagnóstico baseou-se nos dados epidemiológicos, clínicos, anátomo e histopatológicos e nas análises de zinco no soro, que estão de acordo com os descritos na literatura para a paraqueratose hereditária. A constatação da presença dessa enfermidade tem seu principal significado no risco de disseminação através da venda de sêmen ou de animais portadores, o que infelizmente já vem ocorrendo na Região Sudeste do Brasil.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Paraqueratose hereditária, linguagem letal A-46, deficiência de zinco, bovinos, bezerros da raça holandesa.

INTRODUÇÃO

A paraqueratose hereditária é uma doença de bovinos transmitida por gens recessivos autossômicos da linhagem denominada A-46, que são letais em homozigose; os animais são afetados na proporção de 7:1 (Andresen et al. 1970,

¹ Aceito para publicação em 22 de abril de 1994.

Trabalho realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

² Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Setor de Anatomia Patológica, Km 47, Seropédica, 23851-970, RJ; bolsista do CNPq (302342/86-9).

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

⁴ Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Departamento de Medicina Veterinária, Caixa Postal 649, Campo Grande, MS 79070-900.

1974). A enfermidade é causada por deficiência de zinco decorrente da incapacidade dos animais afetados em absorver o elemento a partir do intestino, a menos que administrado em doses extremamente elevadas. O quadro clínico-patológico é semelhante ao da deficiência natural ou experimental de zinco (Flagstad 1976, 1977) e comparável ao da acrodermatite enteropática dos humanos, também identificada como um distúrbio hereditário na absorção de zinco (Weismann & Flagstad 1976, Brummersted et al. 1977).

São acometidas as raças Holstein-Friesian e Black Pied Danish; a enfermidade tem sido descrita na Dinamarca, Alemanha, Escócia, Itália e Holanda (Yager & Scott 1985). Mais recentemente uma doença muito semelhante foi descrita na raça Shorthorn (Vogt et al. 1988). Outras denominações como morbus Adema (Gronborg-Pedersen 1970), hipoplasia hereditária do timo (Brummersted et al. 1971), paraqueratose hereditária (Stöber 1971) e deficiência hereditária de zinco (Kroneman et al. 1975) têm sido empregadas para designar a doença. A denominação envolvendo o nome Adema refere-se ao touro Hornshoj Adema S8181 que sofreu mutação e foi responsável pela disseminação da linhagem letal A-46 (Andresen et al. 1970).

Os bezerros afetados são normais ao nascer. Os sinais clínicos aparecem entre duas e oito semanas após o nascimento (McPherson et al. 1964, Yager & Scott 1985) e incluem exantema combinado com perda de pêlos em áreas limitadas das pernas e paraqueratose e crostas hiperqueratóticas ao redor dos olhos e boca (Brummersted et al. 1974, Weismann & Flagstad 1976). As áreas afetadas são simétricas e usualmente as lesões têm início ao nível do jarrete e ao redor do carpo, progredindo para a região inguinal e em torno do cotovelo. A exsudação resulta no desenvolvimento de crostas duras (0,5 a 1 cm de espessura), localizadas em partes das áreas afetadas (Andresen et al. 1970, Kroneman et al. 1975). Vários, mas nem todos os animais podem desenvolver diarreia profusa, conjuntivite, rinite e broncopneumonia (Andresen et al. 1970). Para Kroneman et al. (1975), entretanto, esses sinais marcam o início da enfermidade. Estomatite e conjuntivite são achados constantes (Weismann & Flagstad 1976). Ocorre salivação (Stöber 1971) que, para McPherson et al. (1964), é um dos primeiros sinais da enfermidade. Infecções secundárias são freqüentes (Brummersted et al. 1974, Kroneman et al. 1975).

Os animais doentes têm uma redução nos níveis séricos de zinco e a suplementação oral com altas doses do elemento restabelece a saúde dos mesmos (Brummersted et al. 1971), porém com a retirada da suplementação, há recrudescimento dos sintomas e lesões (Flagstad et al. 1972, Kroneman et al. 1975, Yager & Scott 1985, Blood & Radostits 1989). Os animais não-tratados sempre morrem até os 4 meses de idade (Brummersted et al. 1974, Weismann & Flagstad 1976). Em animais recuperados com o tratamento há recidiva dos sinais clínicos quando os níveis séricos de zinco caem para valores abaixo de 0,5 mg/ml (Flagstad 1976).

Poucas alterações hematológicas são descritas. Brummersted et al. (1974) observaram que a alteração mais significativa é um número relativamente alto de linfócitos imaturos, não havendo sinais de linfopenia. Kroneman et al. (1975) relatam que as únicas alterações encontradas foram leucocitose e neutrofilia. Eosinopenia é um achado constante, provavelmente associado ao estresse (McPherson et al. 1964).

À necropsia, além das lesões de pele e das secundárias à infecções, o principal achado é a hipoplasia do timo (Brummersted et al. 1974, Weismann & Flagstad 1976, Yager & Scott 1985), que pode ser muito acentuada (Andresen 1974). Ao exame histológico há hiperqueratose paraqueratótica difusa, típica da deficiência de zinco. No timo descreve-se severa depleção linfóide da cortical que resulta em atrofia dos órgãos linfóides secundários como baço, linfonodos e agregados linfóides das mucosas (Yager & Scott 1985). Brummersted et al. (1974) observaram que vários folículos nos linfonodos aparecem normais, em contraste com os do baço e das placas de Peyer que estão atrofiados em graus variáveis.

No Brasil, Belém et al. (1986) descreveram um caso de paraqueratose em bezerro, considerado, por esses autores, como hereditária.

O objetivo deste trabalho é relatar a ocorrência de casos de paraqueratose hereditária em bovinos da raça holandesa, nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos e o histórico clínico foram obtidos através de entrevista com o veterinário responsável, no caso dos estabelecimentos A (Município de Lorena, SP) e B (Volta Redonda, RJ). No caso do estabelecimento C (Barra Mansa, RJ), esses dados foram colhidos mediante entrevista com os responsáveis pela manutenção dos animais e visita à fazenda. Do estabelecimento A recebemos, em 1981, um bovino fêmea (bezerro 1), com 70 dias de idade. Do estabelecimento B veio, em 1983, um bovino fêmea (bezerro 2), de aproximadamente dois meses de idade. O terceiro bovino (bezerro 3), macho, de aproximadamente três meses de idade, chegou em 1987, proveniente do estabelecimento C.

Os animais foram recebidos e mantidos nas dependências da ex-Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, RJ, em baias individuais onde recebiam capim picado, ração e água, que era a mesma alimentação dada aos outros bovinos da Unidade. Duas vezes ao dia, os animais tinham acesso por duas horas, ao solário.

Para análise de zinco, as amostras de sangue dos bezerros 2 e 3 eram obtidas por punção da veia jugular. Os respectivos soros foram obtidos após a retração do coágulo e centrifugação, acondicionados em tubos de polietileno, congelados a -18°C e identificados com a data da coleta e o número do animal. Os pêlos eram coletados da região escapular e sacral em pequenos sacos de plástico e permaneciam à temperatura ambiente até às análises.

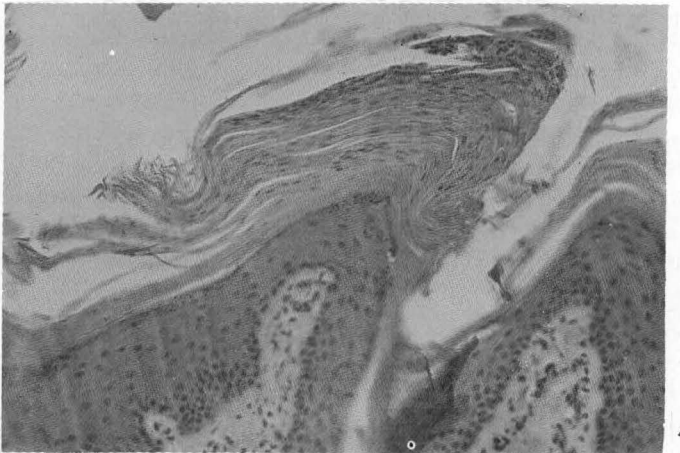
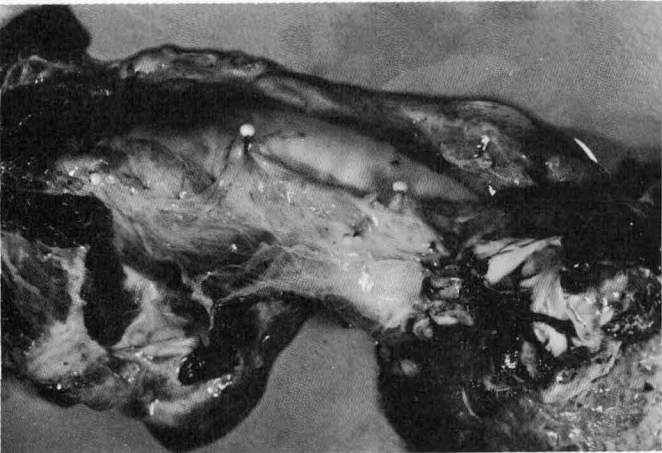


Fig. 1. Formação de crostas em torno da boca, dos olhos e da base das orelhas na paraqueratose hereditária (bezerro 1).

Fig. 3. Acentuada atrofia do timo (delimitado pelas esférulas brancas) na paraqueratose hereditária (bezerro 3).

Fig. 2. Formação de crostas nas extremidades dos membros posteriores na paraqueratose hereditária (bezerro 1).

Fig. 4. Paraqueratose da pele do bezerro 3. HE, obj. 16.

Um espectrofotômetro Varian-Techtron modelo AA6, acoplado a um sistema de microinjeção, foi usado para as determinações de zinco no soro e nos pêlos, empregando-se, respectivamente, as técnicas de Smith et al. (1980) e Hildebrand & White (1974), modificadas para microdeterminações.

O preparo da amostra para a dosagem da concentração de zinco no fígado, também realizado por espectrofotometria de absorção atômica, segundo a metodologia utilizada por Moraes et al. (1994).

RESULTADOS

Epidemiologia

No estabelecimento A, entre 1976 e 1981, adoeceram 10 bezerros com idade entre três e oito semanas, holandeses preto e branco, puros. Todos os animais afetados teriam morrido após um curso clínico de aproximadamente 20 dias, apesar de tentativas de tratamento com antibióticos, vitaminas e zinco. Os bezerros eram filhos de touros que, há algum tempo, tinham sido comprados na região.

A alimentação era à base de capim, farelo de trigo e cana-de-açúcar. O bezerro 1, oriundo desse estabelecimento, adoeceu aos 60 dias de idade. No estabelecimento B, os casos apareceram a partir de 1973, após trocas de reprodutores e de sêmen. Somente bezerros holandeses vermelho e branco, puros, de ambos os sexos, com idade entre quatro e oito semanas, foram afetados. Apesar de tratados com antibióticos, sulfas e furacin, nenhum animal se recuperou ou sobreviveu por período superior a dois meses. Até 1983 já tinham adoecido e morrido pelo menos dez bezerros. A alimentação era à base de ração para bezerros e leite. O bezerro 2 estava doente há quase um mês. No estabelecimento C, a doença surgiu em torno de 1975, afetando bezerros de um a dois meses de idade, holandeses vermelho e branco, puros. Todos os animais afetados morreram. A doença começou a ocorrer após a introdução de um touro importado do Canadá, comprado a outro estabelecimento da região. No ano de 1986 ocorreram mais cinco casos, todos bezerros filhos do mesmo touro, descendente do touro importado. O bezerro 3 estava enfermo há mais ou menos três semanas.

Sinais clínicos

Os animais mostravam formação de crostas de aspecto reticulado, em torno dos olhos, focinho e base das orelhas e extremidades (Fig. 1 e 2), que progressivamente iam se alastrando a partir da cabeça no sentido caudal e das porções distais para as proximais dos membros. As crostas em torno do focinho, extremidades e axilas eram relativamente úmidas, enquanto que as da região cervical dorsal, base das orelhas e região periorbitária eram secas. Com o passar do tempo as lesões de pele exalavam forte mau cheiro. A alopecia era quase total nas partes afetadas. Em alguns casos havia pequenas úlceras na língua, recobertas por película amarelada. Parte dos animais apresentava apatia, sialorréia, conjuntivite, diarreia e sinais de broncopneumonia como taquipnéia, tosse, estertores e hipertermia. O apetite permanecia até poucos dias antes da morte. Adicionalmente, um animal (bezerro 3) desenvolveu dermatofilose na porções distais dos membros, miíase interdigital e crescimento exagerado dos cascos.

Efeitos do tratamento e de sua interrupção

Um dos três animais estudados não foi tratado por nós (bezerro 1). O bezerro 2 foi tratado com altas doses de antibióticos⁵ por alguns dias. Como não houve melhora, esse tratamento foi abandonado. Iniciou-se então a administração diária de 1g de sulfato de zinco, por via oral. Os primeiros sinais de melhora surgiram uma semana depois. Gradualmente as crostas foram secando e caindo. Após duas semanas teve início novo crescimento de pêlos e em 50 dias o animal estava totalmente recuperado. Mais tarde abandonou-se o tratamento com zinco, as lesões reicidiram e o bezerro morreu. O bezerro 3 foi tratado inicialmente com doses diárias de 0,5g de sulfato de zinco por 18 dias. Mostrou alguma melhora das lesões de pele e diminuição da sialorréia seis dias após o início do tratamento. No 9º dia apresentou taquipnéia, tosse e hipertermia (40,7°C). Como a recuperação era muito lenta, o animal passou a receber, a partir do 19º dia, administrações diárias de 1g sulfato de zinco e a partir do 26º dia, 3g de sulfato de zinco. Após a administração dessa maior dosagem, o animal recuperou-se rapidamente. A partir do 102º dia, o sulfato de zinco foi substituído por óxido de zinco, na mesma dosagem (3 g/dia), não se notando diferença no efeito. No 170º dia suspendeu-se a administração de óxido de zinco. Uma semana depois, o animal começou a perder os pêlos na região peri-orbitária, em torno do focinho e na região cervical dorsal. Onze dias depois a alopecia era bem visível. Dezoito dias depois iniciou a sialorréia e já havia formação de crostas reticuladas em torno do focinho, descamação na base das orelhas e região cervical dorsal e as axilas mostravam-se úmidas e alopecicas. Após 25 dias iniciou-se a formação de crostas nas porções inferiores dos membros e perda de pêlos na extremidade da cauda. No 60º dia, o quadro havia recidivado totalmente. O animal foi sacrificado 70 dias após a interrupção do tratamento.

⁵Agrovet, Squibb.

Análises de zinco

O bezerro 1 não teve o soro sanguíneo analisado para teores de zinco, porém as análises de fígado não revelaram valores baixos desse elemento. O bezerro 2 apresentou, durante o tratamento com sulfato de zinco, níveis séricos de zinco normais que, dentro de duas semanas após a suspensão do tratamento, caíram para níveis muito baixos (0,24 µg/ml).

O bezerro 3 teve amostras de soro e pêlos analisadas. A dose diária inicial de 0,5g de sulfato de zinco por via oral, elevou, em três dias, a concentração de zinco no soro de 0,282 µg/ml para 0,502 µg/ml, e em nove dias atingiu níveis constantes, acima dos parâmetros considerados mínimos (0,8 µg/ml, Miller, 1970). Com o aumento para 1g de sulfato de zinco por sete dias, o nível sérico atingiu o pico máximo de 1,10 µg/ml. A administração de 3g de sulfato de zinco elevou o nível sérico a um máximo de 2,586 µg/ml, após 30 dias, embora, sempre dentro da normalidade, valores menores do que esse tenham sido detectados. A troca de sulfato de zinco por óxido de zinco, nas mesmas dosagens não trouxe alterações significativas nos níveis séricos de zinco. Os teores de zinco nos pêlos mostraram uma resposta muito mais lenta ao tratamento oral. A concentração de zinco alcançou a normalidade no 75º dia da administração oral de sulfato de zinco. A partir deste momento as concentrações de zinco no pêlo mantiveram-se sempre acima dos parâmetros mínimos considerados normais (115 µg/g, Anke & Risch 1979). A retomada da coleta das amostras de soro e de pêlo ocorreu no 195º dia de observação do animal e 25º dias após a suspensão da administração oral de zinco quando já era evidente o quadro clínico da paraqueratose. Nessa oportunidade, os níveis séricos de zinco já se apresentavam muito baixos (0,323 µg/ml), atingindo valores ínfimos (0,031 µg/ml) 60 dias depois, enquanto a concentração de zinco no pêlo oscilava próxima ao nível crítico normal, até o sacrifício do animal.

Achados de necropsia

Além das lesões cutâneas já descritas e do mau estado nutricional, os animais apresentaram outras alterações. O bezerro 1 apresentava pequena úlcera de 0,5 cm de diâmetro recoberta por exsudato amarelado na junção do palato duro com a almofadinha dental e broncopneumonia na porção crânio-ventral de ambos os pulmões. O bezerro 2 apresentou pequena úlcera no dorso da língua. O bezerro 3 tinha úlceras semelhantes na epiglote, glote e porção média do esôfago e uma úlcera solitária na faringe, broncopneumonia em boa parte do lobo cardíaco e ascite (aprox. 4 litros), o timo estava extremamente atrofico, pesando 15,9g, fibroso e róseo-esbranquiçado (Fig. 3).

Alterações histológicas

Na pele dos três bezerros observaram-se marcada paraqueratose hiperqueratótica e acantose (Fig. 4). Em algumas áreas da epiderme havia infiltrados focais de polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), em parte já

necróticos, por vezes associados a colônias bacterianas. O processo inflamatório, às vezes, destruía as camadas epiteliais e atingia a derme. Em meio às massas paraqueratóticas, ocasionalmente observavam-se células epiteliais necróticas muito aumentadas de volume, com citoplasma claro. A derme encontrava-se infiltrada por moderado número de células inflamatórias, principalmente PMNs e linfócitos e havia moderada proliferação capilar. A maioria dos folículos pilosos estava vazia. As glândulas sudoríparas eram pouco proeminentes e as poucas visualizadas estavam bastante dilatadas com achatamento do epitélio. Nos pulmões dos bezerros 2 e 3 havia broncopneumonia catarro-purulenta. Alguns linfonodos com moderada depleção linfóide no córtex (bezerro 3). A língua mostrava paraqueratose e úlceras recobertas por exsudato predominantemente neutrocitário; estas últimas também estavam presentes na mucosa da laringe, faringe e esôfago.

DISCUSSÃO

O diagnóstico baseou-se nos dados epidemiológicos, sinais clínicos, achados de necropsia e análises de zinco no soro sanguíneo, que estão de acordo com os descritos para a paraqueratose hereditária dos bovinos (Andresen et al. 1970, Stöber 1971, Brummersted et al. 1971, 1974, Kroneman et al. 1975, Weissmann & Flagstad 1976, Yager & Scott 1985).

No presente relato existem evidências de que se trata de uma doença hereditária. Primeiro, nos três estabelecimentos a enfermidade ocorreu após troca de reprodutores ou sêmen. Segundo, todos os animais dos três estabelecimentos em questão, eram tratados com a mesma alimentação e apenas pequena parte deles, bezerros com idade entre três e quatro semanas, apresentaram a doença, o que exclui a paraqueratose de origem nutricional. Terceiro, a faixa etária dos animais afetados é a mesma em que a enfermidade hereditária ocorre (McPherson et al. 1964, Andresen et al. 1970, Kroneman et al. 1975). Finalmente adoeceram apenas terneiros da raça holandesa puros de pedigree.

Clinicamente, a paraqueratose hereditária é muito semelhante ou mesmo indistinguível da paraqueratose nutricional espontânea (Stöber 1971). No entanto, chama atenção o fato de que, na forma hereditária, todos os animais doentes morrem, caso não tratados, no período máximo de seis meses, o que foi observado anteriormente por Brummersted et al. (1974) e Weissmann & Flagstad (1976).

À necropsia observou-se extrema atrofia (hipoplasia) do timo no bezerro 3, o que é um achado constante na paraqueratose hereditária dos terneiros (Brummersted et al. 1974, Weissmann & Flagstad 1976, Yager & Scott 1985). Na paraqueratose nutricional dos bovinos, a hipoplasia ou atrofia do timo não é mencionada (Yager & Scott, 1985), podendo ocorrer na deficiência experimental de zinco em suínos e camundongos, quando os níveis do elemento forem extremamente baixos (Whitenock et al. 1978, Luecke R.W. 1978, citados por Sanecki et al. 1985). Nas duas pri-

meiras necropsias (bezerros 1 e 2), o timo não foi examinado, pois na época não tínhamos conhecimento do envolvimento deste órgão no quadro anátomo-patológico da doença.

Nos três bezerros deste estudo observaram-se úlceras no trato digestivo superior. Essas alterações foram encontradas por outros autores na paraqueratose hereditária dos bezerros (McPherson et al. 1964, Stöber 1971), e não têm sido descritas na paraqueratose nutricional espontânea (Yager & Scott 1985, Blood & Radostits 1989).

Do ponto de vista histológico, com relação à pele não há subsídios na literatura para diferenciar a paraqueratose hereditária dos terneiros da paraqueratose nutricional (Trautwein 1971).

A administração oral de altas doses de sulfato de zinco elevou sensivelmente os teores séricos de zinco, e após um curto período de tempo, os animais apresentaram melhora clínica progressiva até tornarem-se sadios. Essa resposta à terapia com zinco com altas dosagens, com a recuperação do animal, foi observada por Brummersted et al. (1971), Andresen et al. (1974) e Kroneman et al. (1975), nos casos de paraqueratose hereditária.

Teores de 0,8 a 1,41 µg/ml de zinco no soro são considerados como parâmetros normais (Miller 1970). Nas análises de soro de dois animais (bezerros 2 e 3), os valores de zinco eram extramamente baixos antes do tratamento e atingiram, com rapidez, valores considerados normais, uma semana após a administração de altas doses de sulfato de zinco e tornaram a cair para níveis abaixo da normalidade, 20 dias após a suspensão do tratamento.

Os animais afetados pela paraqueratose hereditária são incapazes de absorver quantidades suficientes de zinco, quando recebem dietas com conteúdos normais deste elemento. Em concentrações normais de zinco no trato digestivo, a absorção deste elemento se dá por um processo ativo semelhante ao que ocorre com o ferro; no entanto, quando concentrações extremamente elevadas de zinco estão presentes na luz do intestino, a absorção se dá por difusão simples (sobrecarga iônica). Isto explica por que os animais com paraqueratose hereditária respondem positivamente a doses elevadas de zinco por via oral (Flagstad 1976). A recuperação lenta do terneiro 3 deveu-se, provavelmente, ao aumento da necessidade de zinco em virtude do tamanho do animal.

A suspensão do tratamento resultou em recrudescimento dos sintomas o que é característico da doença (Kroneman et al. 1975, Yager & Scott 1985, Blood & Radostits 1989).

No caso de paraqueratose hereditária dos bezerros, nenhum dos trabalhos consultados apresentou dados sobre os teores de zinco nos pêlos. Entretanto Anke & Risch (1979) encontraram valores entre 115 e 142 µg/g nos pêlos vermelho e branco de bezerros clinicamente sadios. Estes valores são muito superiores àqueles por nós encontrados (48,82 µg/g), antes do início do tratamento com zinco, em pêlos da mesma coloração no bezerro 3.

Os resultados obtidos neste estudo, com relação a concentração de zinco no pêlo, deixam bem claro que, após o tratamento do bezerro 3, os níveis sanguíneos sobem rapi-

damente (uma semana), enquanto que os teores de zinco no pêlo só atingem a normalidade dentro de oito semanas. Por outro lado, com a suspensão do tratamento por 25 dias, os valores de zinco no sangue caíram para níveis abaixo do normal (0,323 µg/ml), porém os valores do pêlo continuaram dentro ou próximos da normalidade. Sessenta dias após a retirada do tratamento, os níveis de zinco no sangue eram ínfimos (0,031 µg/ml), enquanto que no pêlo ainda se mantinham acima ou próximos aos teores normais. Isso indica que os pêlos refletem mais lentamente as modificações dietéticas de zinco.

Análises de zinco no fígado do bezerro 1 não revelaram valores baixos. É possível que o animal tenha sido tratado com zinco antes de chegar à UAPNPSA, já que o histórico informa que o tratamento com zinco não produziu melhora clínica. Nesse caso, o animal pode não ter apresentado evidências de melhora, em virtude do tratamento ser muito recente.

Para o diagnóstico diferencial da paraqueratose hereditária deve-se levar em conta, além da paraqueratose nutricional espontânea, anteriormente discutida, a "Baldy Calf Syndrome" e a hipovitaminose A. A "Baldy Calf Syndrome" é uma doença hereditária, porém, não responde ao tratamento com zinco, não cursa com hipoplasia do timo e os teores de zinco do plasma sanguíneo, em geral, são normais. Com relação à hipovitaminose A, esta também não responde ao tratamento com zinco e as lesões macro e microscópicas são distintas (Yager & Scott 1985).

No caso descrito no Brasil, por Belém et al. (1986), como paraqueratose hereditária em bovinos, ao nosso ver, não há comprovação inequívoca de que se trate desta enfermidade. Os autores não fornecem dados sobre a hereditariedade da doença, da mesma forma que não mencionam características importantes, como hipoplasia do timo e também não comentam sobre a alimentação dos animais. Além disso, o animal objeto do referido estudo, não apresentou valores baixos de zinco no soro.

A constatação da ocorrência da paraqueratose hereditária no Brasil tem especial importância pelo risco de sua disseminação através da venda de touros portadores dessa anomalia genética ou de seu sêmen, o que, aliás, já vem ocorrendo na Região Sudeste. Por outro lado, o reconhecimento desta enfermidade não é difícil se forem levadas em conta seus aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos. É óbvio que o tratamento não é aconselhado, a não ser como recurso diagnóstico. O controle desta doença deve partir da identificação dos dados clínico-patológicos, seguida pelo levantamento genealógico e eliminação de todos os animais portadores. Tal providência, no entanto, não é fácil de conseguir-se dos proprietários, já que envolve pesados prejuízos econômicos.

REFERÊNCIAS

Andresen E. 1974. A method for the detection of autosomal recessive inheritance with particular reference to lethal factors in cattle. *Nord. Vet-Med.* (26):265-274.

Andresen E., Basse A., Brummersted E. & Flagstad T. 1974. Lethal trait A 46 in Cattle. Additional genetic investigations. *Nord. Vet. Med.* 26(5):275-278.

Andresen E., Flagstad T., Basse A. & Brummersted E. 1970. Evidence of a lethal trait A 46 in Black Pied Danish cattle of Friesian descent. *Nord. Vet. Med.* 22(9):473-485.

Anke M. & Risch M. 1979. Haaranalyse und Spurenelementstatus. 1. Aufl. G. Fischer Verlag, Jena, p. 119-128, 146-147.

Belém P.A.D., Vitoria M.I.V., Nunes V.A., Pompermeyer L.G. & Vieira D. 1986. Relato de um caso de parakeratose hereditária em bezerros. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 38(6):871-879.

Blood D.C. & Radostits O.M. 1989. Diseases caused by inheritance of undesirable characters, p. 1370-1404. In: *Veterinary Medicine*. 7ª ed. Balliere Tindal, London.

Brummersted E., Andresen E., Basse A. & Flagstad T. 1974. Lethal trait A 46. Immunological investigations. *Nord. Vet. Med.* 26(5):279-293.

Brummersted E., Basse A., Flagstad T. & Andresen E. 1977. Animal model of human disease: acrodermatitis enteropathica, zinc malabsorption. Lethal trait A 46 in cattle (hereditary parakeratosis, hereditary thymic hypoplasia, hereditary deficiency). *Am. J. Pathol.* 87(3):725-728.

Brummersted E., Flagstad T., Basse A. & Andresen E. 1971. The effect of zinc on calves with hereditary thymus hypoplasia (lethal trait A 46). *Acta Pathol. Microbiol. Scand. A* 79(9):686-687.

Flagstad T. 1976. Lethal trait A 46 in cattle (intestinal zinc absorption). *Nord. Vet. Med.* (3):160-169.

Flagstad T. 1977. Intestinal absorption of zinc in A 46 (Adema Disease) after treatment with oxychinolines. *Nord. Vet. Med.* 29(2):96-100.

Flagstad T., Andresen S. & Nielsen K. 1972. The course of experimental *Fasciola hepatica* infection on calves with deficient immunity. *Res. Vet. Sci.* 13(5):468-475.

Gronborg-Pedersen H. 1970. Morbus Adema. *Medlemsbl. Danske Dyrlægeforen* 53:143-145.

Hildebrand D.C. & White D.H. 1974. Trace-element analysis in hair. An evaluation. *Clin. Chem.* 20(2):148-151.

Kroneman J., Mey G.J.W. & Vhelder A. 1975. Hereditary zinc deficiency in Dutch Friesian cattle. *Zbl. Vet. Med. A* 22(3):201-208.

McPherson E.A., Beattier I.S. & Young G.B. 1964. An inherited defect in Friesian calves. *Nord. Vet-Med.* 16, Suppl. 1:533-540.

Miller W. J. 1970. Zinc nutrition of cattle. A review. *J. Dairy Sci* 53:1123.

Moraes S.S., Silva G.N. & Döbereiner J. 1974. Microelementos e "cara inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 14(1):25-33.

Sanecki R.K., Corbin J.E. & Forbes R.M. 1985. Extracutaneous histologic changes accompanying zinc deficiency in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 46(10):2120-2123.

Smith J.C. Jr., Brurimovitz E.P. & Purdy W.C. 1980. Direct measurement of zinc in plasma by atomic absorption spectroscopy (Proposed Selected Method). *Clin. Chem.* 25:1487-1491.

Stöber M. 1971. Parakeratose beim schwarzbunten Niederungskalb. 1. Klinisches Bild und Ätiologie. *Dtsch Tierärztl. Wschr.* 78(9):257-265.

Trautwein G.V. 1971. Parakeratose beim schwarzbunten Niederungskalb. 2. Pathologisch-anatomische Befunde. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 78(9):265-270.

Vogt D.W., Carlton C.E. & Miller R.B. 1988. Hereditary parakeratosis in Shorthorn beef calves. *Am. J. Vet. Res.* 49(1):120-122.

Weismann K. & Flagstad T. 1976. Hereditary zinc deficiency (Adema disease) in cattle, an animalparallel to acrodermatitis enteropathica. *Acta Dermatovener.* 56:151-154.

Whitenock D.L., Whitehair C.K. & Miller E.R. 1978. Influence of enteric infection on zinc utilization and clinical signs and lesions of zinc deficiency in young swine. *Am. J. Vet. Res.* (39):1447-1454.

Yager J.A. & Scott D.W. 1985. The skin and appendages, p 531-738. In: *Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1. 3rd ed. Academic Press, Orlando.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Nerium oleander* (Apocinaceae) EM OVINOS¹

ANIBAL GUILLERMO ARMIÉN², PAULO VARGAS PEIXOTO³, JOSÉ DIOMEDES BARBOSA⁴ e
CARLOS HUBINGER TOKARNIA⁵

ABSTRACT.-Armién A.G., Peixoto P.V., Barbosa J.D. & Tokarnia C.H. 1994. [Experimental poisoning of sheep by *Nerium oleander* (Apocinaceae).] Intoxicação experimental por *Nerium oleander* (Apocinaceae) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 14(2/3):85-93. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23951-970, Brazil.

The fresh leaves of *Nerium oleander* were administered orally to 14 adult sheep. The lethal dosis varied from 0,5 to 1 g/kg. The first symptoms of poisoning, in the animals that died, were observed between 1h 45min and 7h 15min, and death occurred between 6h 20min and 52h 50 min after the plant was given. The symptoms were tachypnea, dyspnea, tachycardia, irregular heart rate, ruminal atonia and acidosis. Also observed were apathy, lack of appetite, slight and generalized muscular tremors, frequent urination and defecation. Post-mortem findings were of little significance. Histological examinations revealed coagulative necrosis affecting large areas of the cardiac muscle and the conductive system (Purkinje cells), and necrosis with inflammatory predominantly neutrophilic infiltration in the mucosa of the forestomachs.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Nerium oleander*, Apocinaceae, plant poisoning, sheep, pathology.

SINOPSE.-As folhas frescas de *Nerium oleander* foram administradas manualmente por via oral a 14 ovinos adultos. A dose letal variou entre 0,5 e 1 g/kg. Os primeiros sintomas nos animais que morreram, foram observados entre 1h 45min e 7h 15min, e a morte sobreveio entre 6h 20min e 52h 50min após a administração da planta. A sintomatologia caracterizou-se por taquipnéia, dispnéia, taquicardia, arritmia cardíaca, atonia e acidose ruminais. Também houve apatia, inapetência, tremores musculares leves e generalizados, micções e defecações freqüentes. Os achados de necropsia foram pouco significativos. Ao exame histológico observaram-se necrose coagulativa envolvendo grandes áreas do músculo cardíaco e o sistema de condução (células de Purkinje), e necrose com infiltração inflamatória predominantemente neutrócitária na mucosa dos pré-estômagos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Nerium oleander*, Apocinaceae, intoxicação por planta, ovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Nerium oleander L., planta da família Apocinaceae conhecida pelo nome de "espirradeira", é nativa do Mediterrâneo

e da Ásia, tendo sido introduzida em quase todas as regiões do mundo, inclusive no Brasil, como planta ornamental. Suas propriedades tóxicas são conhecidas desde a Antiguidade (Watt & Breyer-Brandwijk 1962, Kingsbury 1964). Todas as partes da planta são tóxicas (Watt & Breyer-Brandwijk 1962).

A intoxicação por *N. oleander* ocorre com certa freqüência em seres humanos. Em animais de fazenda a intoxicação tem sido diagnosticada em bovinos, ovinos, caprinos e eqüinos (Watt & Breyer-Brandwijk 1962, Kingsbury 1964, Kellerman et al. 1988.) Também foram reportados casos de intoxicação por *N. oleander* em cisnes (Mayer et al. 1986, Alfonso et al. 1991). Entretanto, o diagnóstico, na maioria das vezes, tem sido presuntivo e os dados apresentados são escassos. Dados mais concretos sobre o diagnóstico da intoxicação por *N. oleander*, em animais de fazenda, só encontramos em relação aos bovinos.

No estabelecimento do diagnóstico da intoxicação por *N. oleander*, o exame do conteúdo ruminal ou do estômago pode ser de valor. Assim, Quorstrup & McFarland (1956) e Vermunt (1987) verificaram a presença das folhas da planta no rúmen de bovinos, e Hutcheon (1903) no estômago de um eqüino; Mahin et al. (1984) identificaram as células estomais típicas de *N. oleander* de material vegetal retirado do rúmen de bovino.

A intoxicação por *N. oleander* ocorre sobretudo quando os animais ingerem galhos podados frescos ou secos, às vezes misturados ao capim ou feno (Quorstrup &

¹Aceito para publicação em 12 de maio de 1994.

²Médico Veterinário, bolsista da FAPERJ, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.

³Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Setor de Anatomia Patológica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (302342/86-9).

⁴Médico Veterinário do Instituto de Veterinária, Setor de Grandes Animais, UFRRJ.

⁵Depto Nutrição Animal e Pastagens, UFRRJ; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

McFarland 1956, Mahin et al. 1984, Vermont 1987). Quortrup & McFarland (1956) se referem a folhas comidas por bovinos, e Hutcheon (1903) por eqüinos, no próprio arbusto.

De uma maneira geral, os sintomas descritos, tanto para o homem como para animais, são os de gastroenterite e altera es card cias. Em animais, de acordo com Kingsbury (1964), a sintomatologia inclui taquicardia, extremidades frias, midriase, sudorese, anorexia, dor abdominal, náusea, v mitos, fraqueza e fezes sanguinolentas.

As altera es macroscópicas na intoxica o por *N. oleander* caracterizam-se de acordo com Kingsbury (1964), por uma gastroenterite; podem ser vistas ainda petéquias em diversos órgãos e serosas. Em bovinos, Mahin et al. (1980) observaram hemorragias subendocárdicas no ventrículo esquerdo e na mucosa do abomaso, e Pinto et al. (1981) descreveram sufusões gastrintestinais, congestão renal e edema pulmonar.

Quanto aos achados histopatológicos, apenas Mahin et al. (1981) fazem uma descri o em bovinos. Os autores observaram extensas hemorragias no cora o e abomaso.

Poucos estudos experimentais com *N. oleander* foram realizados em animais de fazenda e os relatos desses trazem poucas informa es. Dados sobre dose letal, início dos sintomas após a administra o da planta e a evolu o do quadro da intoxica o desses estudos experimentais, são apresentados no Quadro 1.

O princípio tóxico de *N. oleander* são os glicos dios cardiot xicos cardenolidos oleandrina e adigossido (Kellerman et al. 1988). Os glicos dios cardiot xicos são classificados quimicamente em cardenolidos e bufadienolidos. A intoxica o por plantas que cont m estas substâncias ocorre de forma acidental em todo o mundo, porém só tem grande importância na África do Sul. São afetados sobretudo bovinos, contudo em ovinos e caprinos a intoxica o também ocorre (Kellerman et al. 1988, Naudé et al. 1992). Embora acidentes com plantas que cont m cardenolidos tenham sido descritos, na África do Sul, as intoxica es importantes são devidas a bufadienolidos (Naudé et al. 1992). Duas síndromes da intoxica o por glicos dios cardiot xicos são descritas. A intoxica o aguda   causada pela ingestão de plantas que cont m cardenolidos e bufadienolidos não-acumulativos ou pela ingestão de grandes quantidades de bufadienolidos acumulativos. Os animais apresentam sintomas de origem cardiovascular, sintomas respiratórios, gastrintestinais e nervosos. A intoxica o crônica ocorre pela ingestão repetida de pequenas quantidades de bufadienolidos acumulativos, caracterizando-se por uma síndrome paralítica (Naudé et al. 1992).

O presente trabalho foi realizado objetivando complementar os dados sobre a intoxica o por *N. oleander* em ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas frescas de *Nerium oleander* L. (fam. Apocinaceae) foram coletadas no município de Itaguaí, Rio de Janeiro. Utilizaram-se 14 ovinos adultos, mestiços, de ambos os sexos, com peso entre 22,5 e 47 kg, clinicamente saud es,

criados em regime de campo. Os animais foram mantidos em baias de alvenaria e submetidos a um jejum de no máximo 24 horas antes do início dos experimentos. As administra es foram feitas manualmente, por via oral, em doses únicas que variaram entre 0,125 e 1 g/kg.

Após a administra o da planta, os animais recebiam capim e água   vontade e, com exce o dos ovinos 5078 e 5083, pequena quantidade de ra o concentrada. Todos os animais foram submetidos a exame clínico prévio e, repetidas vezes, após a administra o da planta, ficando em observa o constante até a morte ou recupera o. Os parâmetros analisados foram: comportamento geral, apetite, cor das mucosas visíveis, freq ncia respiratória (FR) e freq ncia card cia (FC), temperatura, movimentos do rúmen, freq ncia e aspecto das excre es.

Logo após a morte dos ovinos 5059, 5060 e 5083 foi tomada, por sonda esofagiana, amostra de fluido ruminal. De outros oito ovinos do mesmo rebanho e submetidos às mesmas condi es de alimenta o e manejo, foram também analisadas amostras de fluido ruminal para efeito comparativo (animais-controle).

Os parâmetros avaliados no cont do ruminal foram: cor, odor, consistência, atividade de sedimenta o/flota o, vitalidade dos protozoários (% de vivos/mortos) composi o da flora bacteriana através do esfregaço do fluido corado pelo método de Gram, pH com auxílio de um potenciômetro e tempo de redu o do azul de metileno.

Nos animais que foram a óbito, a necropsia foi realizada imediatamente após a morte, coletando-se fragmentos de pulmão, fígado, rins, glândulas endócrinas, baço, linfonodos subcutâneos e internos, das diversas partes do tubo digestivo e músculos esqueléticos em formalina a 10%. O cora o foi coletado por inteiro e seccionado seriadamente em cinco planos com confec o de 15 a 25 cortes (lâminas) para o estudo topográfico das lesões do miocárdio e do sistema de condu o (nódulos sino-atrial e  tri -ventricular, feixe de His e fibras de Purkinje). O encéfalo foi coletado e fixado por imersão em formalina a 20%. Os dois animais que adoeceram gravemente e se recuperaram (Ov. 5078 e 5045), foram sacrificados, cerca de 5 e 13 meses mais tarde, respectivamente, para o estudo das altera es card cias, nos moldes acima indicados.

Para o estudo histopatológico o material foi processado de forma usual e corado pela Hematoxilina-Eosina (HE) e pelo Tricrômico de Masson.

RESULTADOS

Nerium oleander L. demonstrou efeito tóxico letal nos dois ovinos que receberam a dose de 1,0 g/kg (Ov. 5059 e 5060), em um (ovino 5083) dos dois que receberam 0,75 g/kg e em três (Ov. 5055, 5014 e 5006) dos seis que receberam 0,5 g/kg. O segundo animal (Ovino 5078) que recebeu 0,75 g/kg apresentou sintomas acentuados. Os três outros ovinos que receberam 0,5 g/kg e sobreviveram (Ov. 5046, 5028 e 5002), apresentaram apenas sintomas leves. A dose de 0,25 g/kg dada a dois ovinos, produziu sintomas acentuados em um (Ov. 5045) e sintomas leves em outro (Ov. 5047). A dose de 0,125 g/kg provocou, em um

Quadro 1. *Intoxicação experimental por Nerium oleander em herbívoros. Dados relativos à toxicidez, encontrados na literatura*

Espécie animal	Parte da planta	Dose ou quantidade	Início dos sintomas após adm.	Morte após administração	Referências
Bovinos	Folhas	0,05g/kg	?	?	Kingsbury 1964
Bovinos	Folhas verdes	15 a 20g	?	?	Wilson 1909
"	Folhas secas	15 a 30g	?	?	"
Bovinos (bezerro)	Folhas frescas moídas	28g	?	Produziu sintomas, animal se recuperou	Larkin in Hurst 1942
"	Folhas secas moídas	28g	?	"	"
Eqüinos	Folhas verdes	15 a 20g/kg	?	?	Wilson 1909
"	Folhas secas	15 a 30g	?	?	"
Eqüinos	Folhas	0,05g/kg	?	?	Kingsbury 1964
Ovinos	Planta fresca	0,25g/kg	?	17 horas	Naudé 1963 in Kellerman et al. 1988
"	"	0,50g/kg	?	4 horas	
"	"	2,0 a 4,0g/kg	?	2 horas e meia	
Ovinos	Folhas frescas	1 a 5g	?	?	Wilson 1909
Ovinos	Folhas secas	43g	?	24 horas	Larkin in Hurst 1942
"	"	20g	?	24 horas	"
"	Folhas moídas	7g	?	30 horas	"
"	"	4g	?	Adoeceu, se recuperou	"
"	Folhas secas moídas	6g	?	24 horas	"
Ovinos	Folhas	0,15g/Kg	?	?	Kingsbury 1964

animal, sintomas leves (Ov. 5052) e em outro (Ov. 5022) não produziu qualquer sinal de intoxicação. (Quadro 2)

Nos animais que foram a óbito, os primeiros sintomas correram entre 1h 45min e 7h 15min e a morte sobreveio entre 6h 20min e 52h 50min após o começo da administração da planta. A evolução oscilou entre 4h 28min e 49h 3min.

Os sintomas observados durante todo o período da doença nos animais que morreram (Ov. 5055, 5014, 5006, 5083, 5059 e 5060) relacionavam-se sobretudo aos sistemas respiratório, cardiovascular e digestivo.

De forma geral, os animais mostravam-se apáticos, permanecendo em estação grande parte do tempo ou deitados em decúbito externo-abdominal. No período em que os sintomas eram mais graves, os animais manifestavam muito desconforto, caracterizado pela ação freqüente de deitar-se e levantar-se, andavam em círculo dentro da baia, rangiam os dentes e por vezes, sacudiam a cabeça.

Os sintomas de origem respiratória foram os que mais chamaram a atenção em quatro ovinos (Ov. 5055, 5006, 5059 e 5060), nos quais se observou marcada dispnéia, caracterizada por elevação da freqüência respiratória, que

no início era leve passando a acentuada, em curto período. Houve um máximo de 92 movimentos respiratórios por minuto (Ov. 5060). Os ovinos mostravam as narinas dilatadas, mantinham o pescoço distendido acima ou abaixo da linha do dorso, respiração tóraco-abdominal com acentuado esforço inspiratório e expiratório. Nesse ato, os animais se balançavam para a frente e para trás. Gemidos acompanhavam a expiração, o que a tornava, por vezes, mais evidente.

Observou-se cianose discreta nas mucosas ocular e bucal no ovino 5014 e leve nos ovinos 5006 e 5060; os ovinos 5014 e 5006 apresentaram mucosa ocular com leve a moderada congestão.

As alterações cardiovasculares iniciaram-se com aumento da intensidade dos batimentos do coração (sons mais fortes). Em seguida a freqüência cardíaca aumentava progressivamente, atingindo até mais de 200 batimentos por minuto. À auscultação havia alterações de intensidade, freqüência, ritmo e plenitude dos sons cardíacos, caracterizadas por curtos e ocasionais períodos de aumento na intensidade de uma série de sons ou por vezes, períodos de aumento de intensidade do primeiro ou do segundo som.

Quadro 2. *Intoxicação experimental pelas folhas frescas de Nerium oleander em ovinos. Dados relativos à toxicidez*

Ovino		Administração			Desfecho	Início dos sintomas após a administração	Evolução	Recuperação	Morte após a administração
N ^o (reg. SAP) ^a	Peso kg	Data	Quantidade g	Dose g/kg					
5052	27	01.07.92	3,375	0,125	Sint. + ^b	19h 50min	92h 25min	112h 15min	-
5022	47	25.08.92	5,875	0,125	S/sintomas	-	-	-	-
5045	43	30.06.92	10,75	0,25	Sint. +++	3h 54min	229h 20min	233h 14min	Sacr. 17.8.93
(SAP 27197, 27214-17)									
5047	36	25.08.92	9	0,25	Sint. +	9h 20min	61h 30min	70h 50min	-
5055	34	20.06.92	17	0,50	Morreu	7h 15min	4h 28min	-	11h 43min
(25888-90)									
5014	35	02.08.92	17,5	0,50	Morreu	3h 47min	49h 03min	-	52h 50min
(26036-42)									
5006	24,5	08.09.92	12,25	0,50	Morreu	5h 07min	14h28min	-	19h 35min
(26106-11)									
5046	24,5	08.09.92	12,25	0,50	Sint. +	5h 19min	25h 18min	30h 37min	-
5028	22,5	12.09.92	11,25	0,50	Sint. +	9h 45min	40h 00min	49h 45min	-
5002	33	14.09.92	16,5	0,50	Sint. +	5h 40min	49h 45min	55h 35min	-
5078	26	05.05.93	19,5	0,75	Sint. +++	2h 37min	29h 31min	32h 08min	Sacr. 7.10.93
(SAP 27125-29)									
5083	30	05.05.93	22,5	0,75	Morreu	3h18min	10h27min	-	13h 45min
(26401-06)									
5059	27,5	21.10.92	27,5	1,00	Morreu	2h 45min	8h 36min	-	11h 21min
(26157-60)									
5060	23,0	21.10.92	23,0	1,00	Morreu	1h 45min	4h 35min	-	6h 20min
(26153-56)									

^a Número de registro do Setor de Anatomia Patológica.

^b + Sintomas leves, ++ moderados, +++ acentuados.

Quadro 3. *Resultados dos exames do fluido ruminal de ovinos experimentalmente intoxicados por Nerium oleander*

Parâmetros/ provas	Ovinos				
	Controles	5006 0,5 g/kg	5083 0,75 g/kg	5059 1 g/kg	5060 1 g/kg
Cor	Verde-oliva claro/escuro	-	Verde-oliva escura	Verde-oliva	Verde-leitosa
Odor	"Sui generis"	-	"Sui generis"	"Sui generis"	Fermentado
Consistência	Aquosa/ viscosa + ^a	-	Viscosa +	Viscosa +	-
Protozoários (% vivos)	100%-90%	-	15%	80%	0%
pH	6,3-6,8	5,3	5,5	5,4	5,4
Redução do Azul de Metileno (min)	3-8	-	7	9	12
Esfregaço de fluido ruminal	Predominância de bactérias Gram negativas		Predominância de bactérias Gram negativas		

^a+ Levemente.

Observaram-se também curtos períodos de aumento ou diminuição da frequência dos batimentos e aumento ou diminuição do intervalo entre o primeiro e o segundo sons. Havia ainda ausência de um dos dois sons e sons pobremente demarcados. Ocorriam também períodos em que o primeiro som estava duplicado, sobretudo antes ou de-

pois do período de acentuada taquicardia. No ovino 5014, os sintomas cardiovasculares foram os que mais chamaram a atenção. Nos ovinos 5059 e 5060, a acentuada dispnéia dificultava a auscultação do coração.

Em relação ao tubo digestivo, em todos os seis ovinos que morreram, observou-se apenas atonia ruminal, pre-

Quadro 4. Ocorrência de necrose no miocárdio e no sistema de condução de ovinos experimentalmente intoxicados por *Nerium oleander*

Ovino (Reg. SAP)	Dose em g/kg	Átrios		Ventrículo esquerdo		Septo interventricular		Ventrículo direito	
		Miocárdio	Sistema de condução	Miocárdio	Sistema de condução (fibras de Purkinje)	Miocárdio	Sistema de condução (fibras de Purkinje)	Miocárdio	Sistema de condução (fibras de Purkinje)
5055 (25888-90)	0,50	(+) ^a	-	(+)	+	-	-	+	+
5014 (26036-42)	0,50	-	-	+++	+	++(-)	(+)	++	(+)
5006 (26106-11)	0,50	+	-	-	-	-	-	-	-
5083 (26401-06)	0,75	-	-	++(-)	+	+(+)	+(+)	+++	+(+)
5059 (26157-60)	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-
5060 (26153-56)	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) Lesão discreta, + leve, +(+) leve a moderada, ++ moderada, ++(+) moderada a acentuada, +++ acentuada.

Quadro 5. Gravidade das lesões dos pré-estômagos e do abomaso na intoxicação experimental por *Nerium oleander* em ovinos

Ovino (Reg. SAP)	Rúmen	Retículo	Omaso	Abomaso
5055 (25888-890)	(+) ^a	+(+)	+	+
5014 (26036-042)	++(-)	(+)	(+)	-
5006 (26106-26111)	+	+	-	-
5083 (26400-406)	-	+(+)	++(-)	(+)
5059 (26157-160)	-	++	+	-
5060 (26153-156)	-	+	N/c ^b	N/c

(+) Lesão discreta, + leve, +(+) leve a moderada, ++ moderada, ++(+) moderada a acentuada.
N/c = não coletado.

após poucas horas (2h 45min e 7h 45min) após o início da administração.

Observaram-se ainda em todos os seis ovinos, anorexia leve tremores musculares generalizados. Os animais urinavam e defecavam com muita frequência, porém em quantidades muito pequenas e, às vezes, apenas adotavam postura de micção ou defecação (Ov. 5055, 5059 e 5060). A temperatura foi sempre normal, entretanto as orelhas e extremidades permaneciam sempre muito frias e úmidas.

O quadro clínico se agravava sempre que os animais eram movimentados levemente. O período final da doença era procedido por uma fase de taquicardia acentuada,

após a qual a respiração se tornava superficial e abdominal. Os batimentos cardíacos tendiam a diminuir em intensidade e se normalizavam em frequência. A morte sobrevinha após parada cardíaca com queda repentina do animal ao solo (Ov. 5014, 5006, 5055, 5083) ou após parada respiratória com queda lateral do animal no solo, contraindo fortemente toda a musculatura, em especial a intercostal e abdominal com posterior parada do coração (Ov. 5059, 5060).

Os sintomas nos animais que adoeceram e se recuperaram, com exceção dos ovinos 5045 e 5078, foram sempre leves. No ovino 5045, os sintomas respiratórios prevaleceram no início, depois se tornaram mais evidentes os cardiovasculares. O ovino 5045 apresentou cianose acentuada da mucosa ocular e bucal, permanecia apático e deitado em decúbito esterno-abdominal, a maior parte do tempo em que esteve doente. No ovino 5078, os sintomas cardiovasculares foram mais visíveis durante todo período.

As alterações do fluido ruminal (Quadro 3) eram representadas por queda do pH em todos os quatro ovinos em que este foi medido, marcada morte dos protozoários em dois dos três animais examinados (Ov. 5060 e 5083) e aumento do tempo de redução do azul de metileno, também em dois animais (Ov. 5059 e 5060).

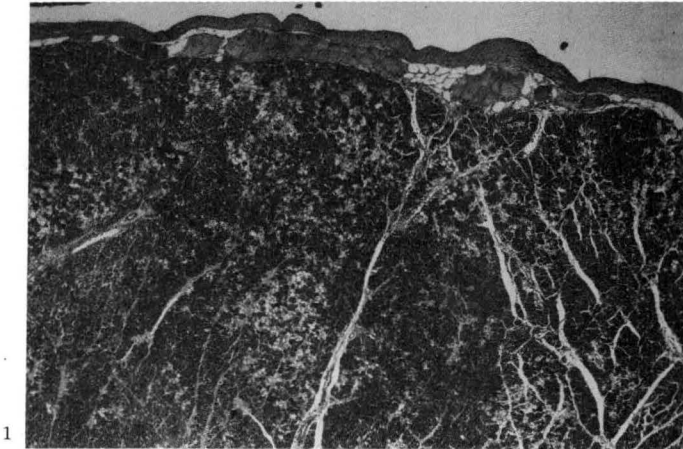
Os achados de necropsia foram de maneira geral pouco específicos. Em cinco dos seis animais que morreram (Ov. 5055, 5014, 5006, 5059 e 5060) o pulmão estava difusamente distendido por ar (inflado) ocupando toda a cavidade torácica. Em dois casos (Ov. 5014 e 5083) observou-se, no coração, após sua fixação, principalmente nos músculos papilares, extensas áreas escuras. Observaram-se fígado com lobulação nítida (Ov. 5006), baço congesto (Ov. 5014) com grandes áreas vermelho escuras, de superfície elevada e contornos imprecisos (Ov. 5055, 5006 e 5059). Havia pequenas hemorragias no córtex da adrenal

(Ov. 5014), discreto (Ov. 5059) e leve (Ov. 5006) edema da parede do rúmen, principalmente no saco dorsal cranial (átrito), leve edema da parede do retículo em todos os seis ovinos que morreram e leve congestão da sua mucosa (Ov. 5006), leve congestão difusa da mucosa do abomaso (Ov. 5006), leve congestão difusa do duodeno (Ov. 5006), moderada congestão de segmentos do jejuno (Ov. 5055) e hemorragias equimóticas subserosas no ceco (Ov. 5059).

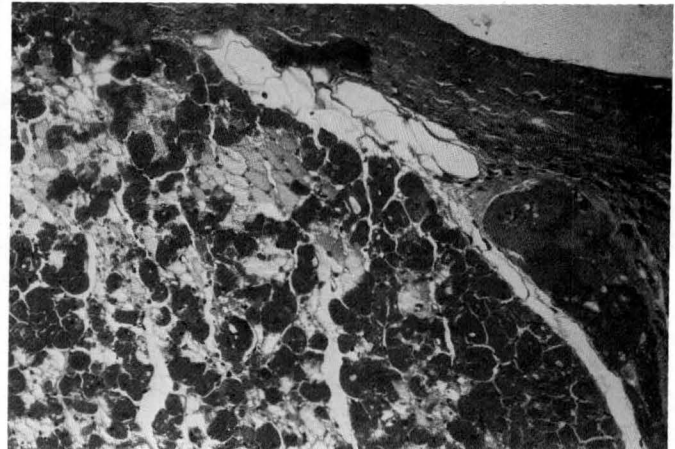
As principais alterações histológicas relacionavam-se com o coração e e os pré-estômagos. (Quadros 4 e 5)

No coração observou-se necrose coagulativa caracterizada por fibras cardíacas com citoplasma eosinófilo, homogêneo, núcleos picnóticos ou ausentes, entremeadas por fibras em lise. (Fig. 1 a 3) A lesão ocorreu nos ovinos 5055, 5014 e 5083 e comprometia focos até grandes áreas do miocárdio, nas quais ainda se verificava marcado edema intersticial rico em proteína. Em um quarto animal (Ov. 5006), a necrose se apresentava apenas em forma de pe-

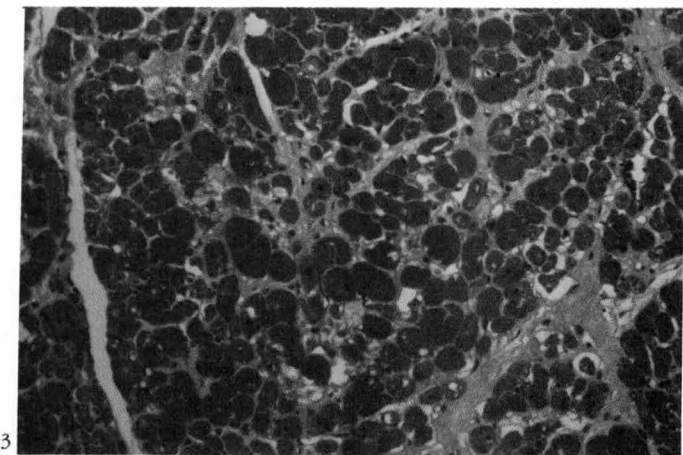
quenos focos. As lesões não demonstravam predileção anatômica, sendo encontráveis sobretudo nos músculos papilares das paredes ventriculares, septo interventricular e átrios. No referente ao sistema de condução, apenas as fibras de Purkinje foram comprometidas (Ov. 5055, 5014 e 5083); estas evidenciavam também significativo aumento da eosinofilia do citoplasma, às vezes com vacuolização acompanhada de cariopicrose, cariorrexia ou ausência dos núcleos (Fig. 2 e 4 a 6). No ovino 5014, a lesão das células de Purkinje relacionava-se principalmente às áreas de necrose do miocárdio, já nos ovinos 5055 e 5083 ocorria, com bastante freqüência, independentemente da necrose do músculo. Verificou-se ainda, marcado edema rico em proteína na parede e adventícia das artérias e arteríolas do miocárdio. No ovino 5045 (sacrificado cerca 13 meses mais tarde), havia múltiplos focos de fibrose, sobretudo nos músculos papilar da parede ventricular direita e esquerda. Neste mesmo animal, as células miocárdicas, de maneira



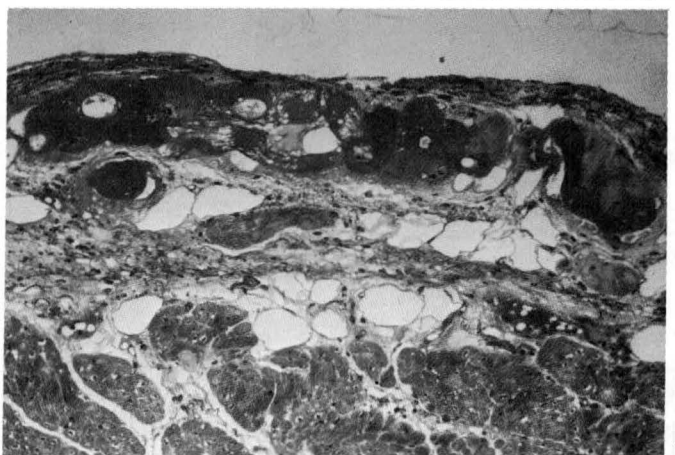
1



2



3



4

Fig. 1. Extensa área de necrose de coagulação com lise de numerosas fibras cardíacas. As fibras de Purkinje subendocárdicas nesse campo estão sem alterações. Intoxicação experimental por *N. oleander* (Ov. 5014, SAP 26038). HE, obj. 6,3.

Fig. 3. Necrose de coagulação de fibras cardíacas (nítida picnose nuclear), presença de edema intersticial rico em proteína (Ov. 5014, SAP 26038). HE, obj. 25.

Fig. 2. Necrose de coagulação com lise de numerosas fibras cardíacas; fibras com edema intracelular; fibras de Purkinje com necrose incipiente (eosinofilia exagerada do citoplasma e picnose nuclear) (Ov. 5014, SAP 26038). HE, obj. 16.

Fig. 4. Sistema de condução subendocárdico (fibras de Purkinje) com citoplasma vacuolizado, eosinófilo e com núcleos picnóticos. Intoxicação experimental por *N. oleander* (Ov. 5055, SAP 25888). HE, obj. 16.

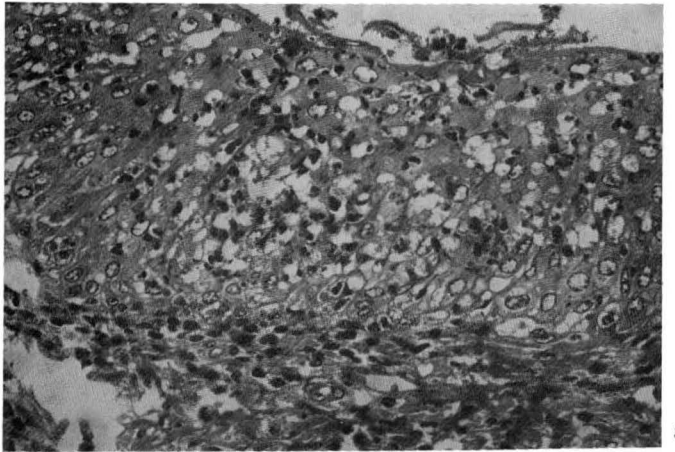
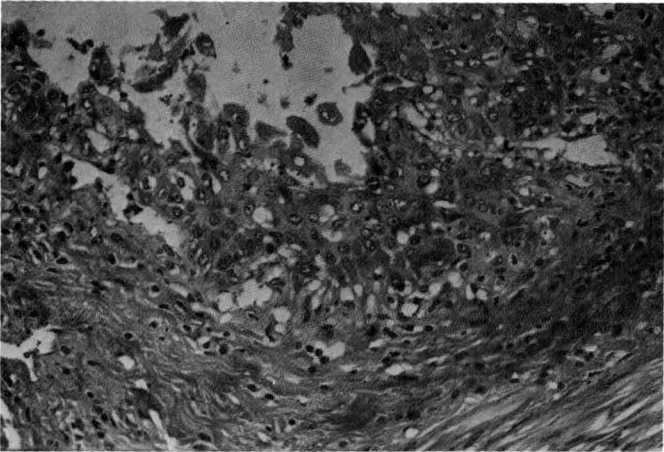
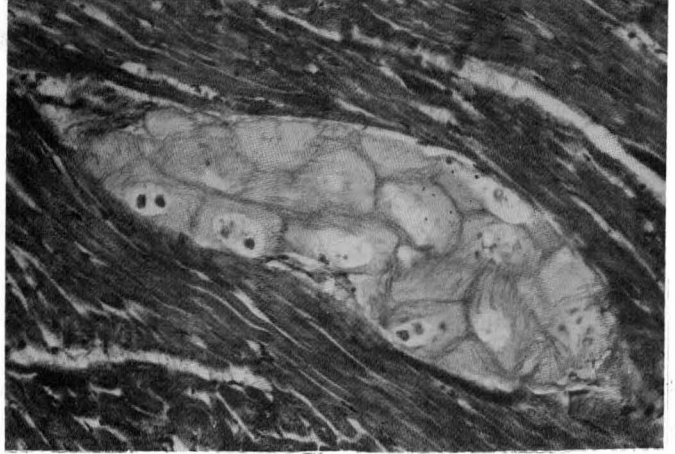
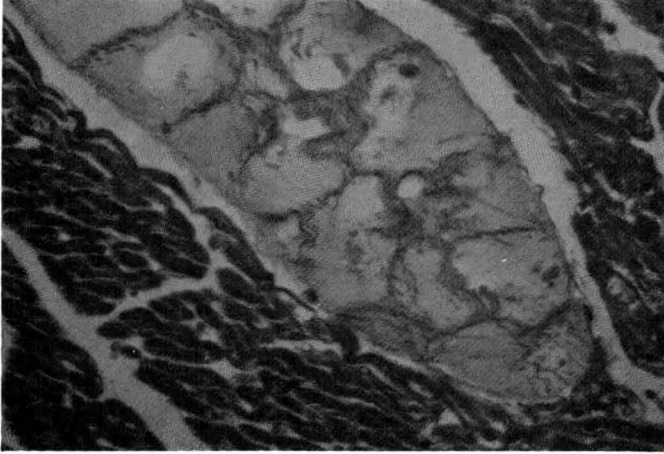


Fig. 5. Necrose de coagulação em fibras de Purkinje. Intoxicação experimental por *N. oleander* (Ov. 5083, SAP 26403). Tricrômico de Masson, obj. 25.

Fig. 7. Necrose da camada superficial do epitélio do retículo, vacuolização de células epiteliais e edema junto ao cório, com formação de fendas (Ov. 5055, SAP 25888). HE, obj. 25.

Fig. 6. Células de Purkinje sem alterações para comparação (Ov. 5083, SAP 26405). Tricrômico de Masson, obj. 25.

Fig. 8. Degeneração e lise das células epiteliais da mucosa do retículo por heterólise (neutrófilos) (Ov. 5055, SAP 25888). HE, obj. 25.

geral (em todo miocárdio), mostravam variáveis graus de hipertrofia (aumento do diâmetro das fibras e dos núcleos). Em especial nas áreas de fibrose, as células exibiam variáveis graus de hipertrofia, atrofia e tumefação. Por vezes, as fibras de Purkinje eram envolvidas por maior quantidade de tecido fibroso. No ovino 5078 (sacrificado cinco meses mais tarde) não foram encontradas lesões cardíacas.

No rúmen do ovino 5014 foi observada necrose coagulativa afetando a metade superior das papilas; essa lesão caracterizava-se por desaparecimento da maioria dos núcleos e aumento da eosinofilia citoplasmática das células de toda a camada epitelial, tornando as áreas lesadas com aspecto de uma massa eosinofílica; em algumas áreas havia colonias bacterianas e numerosos polimorfonucleares em meio as áreas necrosadas. O córion subjacente apresentava congestão, hemorragias e trombose venosa, além de degeneração e dissociação das fibras colágenas, por vezes entremeadas por infiltrado inflamatório predominantemente polimorfonuclear.

No ovino 5006, a lesão do rúmen era representada por tumefação do epitélio acompanhada de leve infiltração leucocitária neutrocitária.

No retículo dos seis ovinos (Ov. 5055, 5014, 5006, 5083, 5059 e 5060) como no omaso de quatro ovinos (Ov. 5055, 5014, 5083 e 5059), havia marcada infiltração neutrocitária acompanhada por tumefação e/ou vacuolização e por vezes, necrose de células epiteliais do estrato granuloso e espinhoso (Fig. 7 e 8). As células inflamatórias distribuíam-se difusamente por entre as células epiteliais, por vezes formando acúmulos nos quais havia destruição epitelial por heterólise, ou então sob forma de pequenos focos em meio a grandes áreas de epitélio íntegro. No córion subjacente e entre as fibras musculares, tanto no retículo como no omaso, havia de leve até leve/moderado edema, bem como leve infiltração inflamatória mista. No abomaso observou-se, em um caso (Ov. 5055), leve a moderada necrose com figuras de picnose e cariorrexia afetando mais as células parietais na porção média da mucosa e leve edema da submucosa; em outro caso (Ov. 5083), havia

somente necrose de poucas células isoladas no terço superior da mucosa.

No fígado de três animais observaram-se hepatócitos com tumefação e vacuolização leves, porém de distribuição difusa, um pouco mais marcada nas zonas centrolobulares. No rim, tumefação e vacuolização leves nas células epiteliais do córtex estiveram presentes em dois casos (Ov. 5059 e 5060). Os pulmões de todos os ovinos apresentavam marcada dilatação dos espaços alveolares.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, *Nerium oleander* afetou principalmente os sistemas cardiovascular, respiratório e gastrointestinal dos ovinos. As alterações clínicas foram, em geral, semelhantes às descritas para a intoxicação aguda em ruminantes por vários tipos de glicosídeos cardiotoxicos contidos em plantas (Kellerman et al. 1988), como por exemplo às descritas nas intoxicações agudas em ovinos por *Tylecodon wallichii* (Naudé & Schultz 1982) e *Kalanchoe lanceolata* (Anderson et al. 1983), plantas que contêm bufadienolidos acumulativos.

Os glicosídeos cardiotoxicos são conhecidos por afetar a contratilidade e a condução do impulso na fibra cardíaca. Altas doses de glicosídeos cardiotoxicos causam um substancial decréscimo na taxa de condução (efeito dromotrópico negativo), resultando em grave dissociação átrio-ventricular, com conseqüente bloqueio de primeiro, segundo e terceiro grau. Verifica-se arritmia, taquicardia ventricular transitória e recorrente, formam-se múltiplos impulsos ectópicos e ocorre fibrilação ventricular (Kellerman et al. 1988). De maneira semelhante, encontramos grave taquicardia e arritmia naqueles ovinos que receberam maiores doses de *N. oleander*. Segundo Button et al. (1983) a causa imediata da morte, em ovinos, na intoxicação por *Homeria glauca*, é fibrilação ventricular resultante da ação arritmogênica dos bufadienolidos; acidemia, hipoxemia, hipercardia, hipercalemia e elevação das concentrações das catecolaminas, são importantes agravantes do quadro (Button et al. 1983, Button & Mülders 1984).

No que se refere as lesões histológicas por nós verificadas, chamou-nos atenção a acentuada necrose de extensas áreas do miocárdio, sendo de especial atenção a necrose das fibras de Purkinje. Quanto à necrose do miocárdio, esta parece ser bem mais grave do que a descrita na intoxicação aguda em ruminantes causada por plantas que contêm outros tipos de glicosídeos cardiotoxicos (Anderson et al. 1983, Kellerman et al. 1988, Newsholme & Coetzer 1984). Por outro lado, a necrose das fibras de Purkinje não foi descrita por outros autores, apesar dos diversos estudos referentes a fisiopatologia das alterações da condução dos impulsos do coração na intoxicação por glicosídeos cardiotoxicos e especificamente pelos bufadienolidos (Anderson et al. 1983, Button et al. 1983, Naudé & Schultz 1982, Kellerman et al. 1988). Na literatura, a única menção à necrose das fibras de Purkinje, com deposição de cálcio, é de Robison & Maxie (1993), e se refere à intoxicação organomercurial em bovinos.

Segundo Kellerman et al. (1988), as alterações respiratórias são de origem neuro-muscular. Anderson et al. (1983) e Naudé & Schultz (1982) observaram na intoxicação aguda por *K. lanceolata* e *T. wallichii*, cianose, polipnéia e dispnéia graves, e à necropsia, enfisema pulmonar. Observamos alterações respiratórias semelhantes, contudo, a cianose foi observada em poucos casos e, à necropsia, o pulmão mostrava-se apenas acentuada e difusamente inflado; ao exame histológico, constatou-se marcada dilatação difusa dos alvéolos.

Entre as alterações gastrintestinais descritas para a intoxicação aguda em ruminantes causada por plantas que contêm outros glicosídeos cardiotoxicos estão: atonia ruminal, diarreia, timpanismo, cólica e constipação (Kellerman et al. 1988). Na intoxicação por *N. oleander* observamos apenas atonia ruminal. Anderson et al. (1983) e Naudé & Schultz (1982) também verificaram apenas atonia ruminal nas intoxicações por *K. lanceolata* e *T. wallichii*, não descrevem alterações do fluido ruminal e lesões macro e microscópicas dos pré-estômagos. As alterações do fluido ruminal por nós descritas sugerem um desequilíbrio bioquímico-microbiano (pH baixo e morte dos protozoários). O pH constatado (valores entre 5,3 e 5,5), foi bastante ácido considerando as condições de alimentação a que estes animais eram submetidos. Valores comparáveis, pH entre 3,48 e 5,56, foram verificados no fluido ruminal de ovinos com acidose experimental por carboidratos (Vestweber & Leipold 1974). As lesões inflamatório-degenerativo-necróticas do epitélio dos pré-estômagos (rúmen, retículo e omaso); são semelhantes às lesões na acidose por carboidratos (Vestweber & Leipold 1974), porém nessa última, as alterações foram leves e verificadas apenas no rúmen, enquanto que na intoxicação por *N. oleander* ocorrem de maneira mais constante também no retículo; adicionalmente, no omaso de um ovinho as lesões foram bastante acentuadas.

Até o momento, a ocorrência de acidose ruminal produzida por plantas foi referida apenas por Barbosa et al. (1993), em caprinos intoxicados experimentalmente por *Baccharis megapotamica* var. *weirii*. Segundo esses autores essa acidose ruminal estaria relacionada à necrose coagulativa da mucosa e/ou à ação dos tricotecenos, o princípio tóxico de *B. megapotamica*, sobre a microbiota. Contudo, o significado dessas alterações na patogênese da intoxicação, não foi definida.

As alterações bioquímicas (queda do pH) e microbianas (morte dos protozoários e retardamento do tempo para redução do azul de metileno) devem ser o resultado da ação direta (princípio tóxico matando protozoários e bactérias) ou indireta (substâncias tóxicas liberadas pela necrose do tecido) do princípio tóxico de *N. oleander*.

O principal mecanismo da acidose ruminal na ingestão excessiva de carboidratos em ruminantes (bovinos e ovinos) se dá por um incremento de ácido láctico no fluido ruminal decorrente da fermentação deste por bactérias. Em seguida ocorre um aumento do ácido láctico no sangue com conseqüente queda do pH, caracterizando a acidose metabólica (Dirksen 1970, Vestweber et al. 1974). Os

mecanismos da acidose ruminal e a sua importância na intoxicação por *N. oleander* não podem ser interpretados como na ingestão excessiva de carboidratos altamente fermentáveis, uma vez que neste experimento tal fato não ocorreu.

Entretanto, na intoxicação experimental por *Homeria glauca* em ovinos, planta que contém bufadienolidos, Button et al. (1983) verificaram acidose metabólica com formação de ácido láctico, provavelmente derivada da hipoxemia e hipoperfusão tecidual.

Contudo, em função dos nossos achados, na intoxicação aguda por plantas que contém glicosídeos cardiotoxicos, a participação das alterações do rúmen no equilíbrio ácido-base deve ser considerado.

REFERÊNCIAS

- Alfonso H.A., Sánchez L.M., Merino N. & Gómez. 1991. Intoxicacion por *Nerium oleander* en ocas. *Revta Salud Anim. (Cuba)* 13:183-184.
- Anderson L.A.P., Schultz R.A., Joubert J.P.J., Prozesky L., Kellerman T.S., Erasmus G.L. & Procos J. 1983. Krimpsiekte and acute cardiac glycoside poisoning in sheep caused by bufadienolides from the plant *Kalanchoe lanceolata* Forsk. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 50:295-300.
- Barbosa J.D., Armien A.G. & Tokarnia C.H. 1994. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae) em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 14(1/2):5-13.
- Button C. & Mülders M.S.G. 1984. Further physiopathological features of experimental *Homeria glauca* (Wood & Evans) N.E.BR. poisoning in merino sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 51:95-96.
- Button C., Reyers F., Meltzer D.G.A., Mülders M.S.G. & Killeen V.M. 1983. Some physiopathological features of experimental *Homeria glauca* (Wood & Evans) N.E.BR. poisoning in merino sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 50:191-196.
- Dirksen G. 1970. Acidosis, p. 612-629. In: Phillipson A.T. (ed.) *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Proc. 3rd Int. Symposium Cambridge, England. Oriel Press.
- Henning M.W. 1932. *Animal Diseases in South Africa*. Vol. II. Virus and Deficiency Diseases, Plant Poisons. Central News Agency, South Africa.
- Hurst E. 1942. *The Poison Plants of New South Wales*. Snelling Printing Works, Sydney, Australia.
- Hutcheon D. 1903. Poisoning in stock. *Agric. Jl. C.G.H.* 23:395. (Cit. Henning M.W. 1932)
- Kellerman T.S., Coetzer J.A.W. & Naudé T.W. 1988. *Plant Poisoning and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa*. Oxford University Press, Cape Town.
- Kingsbury J.M. 1964. *Poisonous Plants of the United States and Canada*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Mahin L., Marzou A. & Huart A. 1984. A case report of *Nerium oleander* poisoning in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 26(4):303-304.
- Mayer H., Wacker R. & Dalchow W. 1986. Phytotoxikosen durch Kastanien, Oleander, Eicheln und Herbstzeitlose bei verschiedenen Zoo- und Wildtieren. *Tierärztl. Umschau* 41:169-178.
- Naudé T.W., Anderson L.A.P., Schultz R.A. & Kellerman T.S. 1992. "Krimpsiekte": a chronic paralytic syndrome of small stock caused by cumulative bufadienolide cardiac glycosides, p. 392-396. In: James L.F., Keeler R.F., Bailey E.M., Cheeke P.R. & Hegarty M.P. (ed.) *Poisonous Plants*. Proc. 3rd Int. Symposium, Iowa State University Press, Ames.
- Naudé T.W. & Schultz R.A. 1982. Studies on South African cardiac glycosides. II. Observations on the clinical and haemodynamic effects of cotyledoside. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 49:247-254.
- Newsholme S.J. & Coetzer J.A.W. 1984. Myocardial pathology of domestic ruminants in Southern Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 55(2):89-96.
- Pinto F., Palermo D., Milillo M.A. & Iaffaldano D. 1981. Un episodio di avvelenamento da oleandro (*Nerium oleander*). *Clin. Vet.* 1 (104):15-18.
- Quortrup E.R. & McFarland R.J. 1956. Animal losses involving noxious weeds in San Diego County. *California Vet.* 9(5):14-17.
- Robinson W.F. & Maxie M.G. 1993. The cardiovascular system, p. 1-100. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 3. 4th ed. Academic Press, San Diego.
- Vermunt J. 1987. Oleander - decorative and very poisonous. *N.Z. Vet. J.* 35:138-139.
- Vestweber J.G.E. & Leipold H.W. 1974. Experimentally induced ovine ruminal acidosis: pathologic changes. *Am. J. Vet. Res.* 35(12):1537-1540.
- Vestweber J.G.E., Leipold H.W. & Smith J.E. 1974. Ovine ruminal acidosis: clinical studies. *J. Am. J. Vet. Res.* 35(12):1587-1590.
- Watt J.M. & Breyer-Brandwijk M.G. 1962. *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*. 2nd ed. E. and S. Livingstone, Edinburgh.
- Wilson F.W. 1909. Oleander poisoning of live stock. *Bull.* 59, *Agric. Exp. Stn, Univ. Arizona*. (Cit. Henning M.W. 1932) *SAP 25888*). *HE, obj.* 25.