

ISSN 0100-736X

Volume 11 Números 3/4

Jul/Dez 1991

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilingüe 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 datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

Pesquisa Veterinária Brasileira, a bilingual quarterly journal, edited by the Brazilian College of Animal Pathology, publishes original articles and review papers on all aspects of veterinary science. Contributions on animal pathology and related subjects, mainly diseases of economic importance, are particularly welcomed. Reviews should be written in support of original 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.

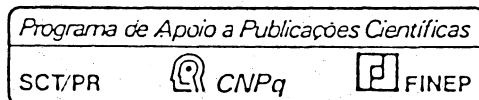
Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adair 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, Francisco Megale, 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 (Brasil); Tel. (021) 682-1081 e 682-1082; Telex 21-32723 EBPA BR; Fax (021) 682-1230.



A Revista conta com a colaboração
da Embrapa-MARA e UFRRJ-MEC

Figura da capa: *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, planta tóxica a bovinos na região do Planalto e no Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. (Gava et al., p. 71)

Cover illustration: *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, a poisonous plant for cattle in the eastern Highland and the High Valley of the Itajaí river, State of Santa Catarina, Brazil. (Gava et al., p. 71)

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 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 a 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 "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, D.C.).

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

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

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os

sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; *Sinopse* e *Abstract* serão escritos corriadamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

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

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

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se 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; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final da respectiva referência, na forma: "(Citado por Fulano 19..)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último 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; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

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

5. Os quadros deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço de 12 batidas, à esquerda.

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

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 11

Julho/Dezembro 1991

Números 3/4

SUMÁRIO

Análise da antigenicidade de constituintes da saliva de <i>Boophilus microplus</i> . <i>S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer</i>	45-47
Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. <i>J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez</i>	49-54
Tratamento intermitente da tuberculose bovina com isoniazida. <i>J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.</i>	55-59
Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. <i>M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal</i>	61-64
Intoxicação experimental por <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) em caprinos. <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner</i>	65-70
Intoxicação por <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. <i>A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó</i>	71-74
Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. <i>E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta</i>	75-80
Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares a tuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. <i>G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild</i>	81-86

CONTENTS

Analysis of the antigenicity of constituents of <i>Boophilus microplus</i> ' saliva. <i>S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer</i>	45-47
Poisoning by <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) in cattle in southern Brazil. <i>J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez</i>	49-54
Intermittent treatment of bovine tuberculosis with isoniazid. <i>J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.</i>	55-59
Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus. <i>M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal</i>	61-64
Experimental poisoning of goats by <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae). <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner</i>	65-70
Poisoning of cattle by <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) in Santa Catarina. <i>A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó</i>	71-74
Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil. <i>E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta</i>	75-80
Histologic study and isolation of mycobacteria from tuberculosis-like lesions in cattle in southern Brazil. <i>G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild</i>	81-86

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 Rio de Janeiro, RJ; tel. (021) 263-7561

PRÊMIO JOSÉ REIS DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA - 1991

SCT/PR – Secretária de Ciência e Tecnologia da Presidência da República

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

O Prêmio José Reis de Divulgação Científica foi criado em 1978 pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Ao dar ao Prêmio o nome de José Reis a intenção foi homenagear aquele que é considerado o decano da divulgação científica no Brasil, o cientista e jornalista José Reis que mantém, há 42 anos ininterruptos, uma seção semanal sobre ciência no Jornal Folha de S. Paulo.

A partir de 1982 o Prêmio José Reis passou a ser concedido anualmente. Desde 1983, há premiação em três modalidades. Em Divulgação Científica concorrem cientistas, pesquisadores e divulgadores da ciência. A modalidade Jornalismo Científico só permite a participação de jornalistas profissionais. Na modalidade Instituição podem concorrer organismos como museus, centros de pesquisa e, também, veículos de comunicação.

A intenção do Prêmio é incentivar e reconhecer o trabalho realizado no sentido de fazer chegar ao público mais amplo possível informações sobre aspectos da Ciência e da Tecnologia.

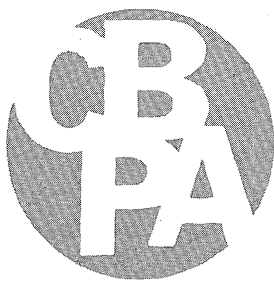
(Continua na página 60)

ISSN 0100-736X

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 11, 1991



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

É revista bilingüe trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal e publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia animal no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica.

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 welcome. Reviews should be written in support of original investigations. The editors assume that papers submitted are not being considered for publication in other journals and do not contain material which has already been published.

Editor: Jürgen Döbereiner, *Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, 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. Arteche, <i>Porto Alegre</i>	E. Grunert, <i>Hannover</i>	H. Merkt, <i>Hannover</i>
E.H. Birgel, <i>São Paulo</i>	J.A. Guimarães, <i>Rio de Janeiro</i>	G.E. Moya, <i>Rio de Janeiro</i>
H. Blobel, <i>Giessen</i>	G. Habermehl, <i>Hannover</i>	R. Reis, <i>Belo Horizonte</i>
P.G. Cabral, <i>Porto Alegre</i>	E. Hofer, <i>Rio de Janeiro</i>	C.H. Romero, <i>Concórdia</i>
A.F.P. Castro, <i>Campinas</i>	M.R. Honer, <i>Rio de Janeiro</i>	I.B.M. Sampaio, <i>Belo Horizonte</i>
M.S. Dayrell, <i>Coronel Pacheco</i>	M. Mariano, <i>São Paulo</i>	H.G. Schatzmayr, <i>Rio de Janeiro</i>
G. Dirksen, <i>München</i>	A. Mayr, <i>München</i>	L.-Cl. Schulz, <i>Hannover</i>
L. Grisi, <i>Rio de Janeiro</i>	F. Megale, <i>Viçosa</i>	

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS



A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

SUMÁRIO

List of Contents

Vol. 11, Nos. 1/2, Jan./Jun. 1991

Monitoramento sorológico e alérgico da infecção por <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em caprinos. [Serologic and allergic monitoring of experimental infections in goats by <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> .] <i>C.H. Langenegger & J. Langenegger</i>	1-7
Intoxicação experimental por <i>Brunfelsia pauciflora</i> (Solanaceae) em bovinos. [Experimental poisoning in cattle by <i>Brunfelsia pauciflora</i> (Solanaceae).] <i>C.H. Tokarnia, A. Gava, L. Stolf & P.V. Peixoto</i>	9-12
Ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de toxina botulínica tipo D. [Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for the detection of botulinum type D toxin.] <i>D.A.O. Silva, M.A. Sousa, A.M.A.H. Beicher, J.R. Mineo, F.A. Ferreira, H.E. Coelho & J.E.D. Bastos</i>	13-16
Fotossensibilização em bovinos causada por <i>Ammi majus</i> (Umbelliferae) no Rio Grande do Sul. [Photosensitization in cattle caused by <i>Ammi majus</i> (Umbelliferae) in southern Brazil.] <i>M.C. Méndez, F. Riet-Correa, A.L. Schild, J.L. Ferreira & M.A. Pimentel</i>	17-19
Tratamento massal da tuberculose bovina com isoniazida. [Massal treatment of bovine tuberculosis with isoniazid.] <i>J. Langenegger, M.J. Cavalcante & A.D. Lira</i>	21-23
Intoxicação experimental por <i>Stryphnodendron coriaceum</i> (Leg. Mimosoideae) em bovinos. [Experimental poisoning of cattle by <i>Stryphnodendron coriaceum</i> (Leg. Mimosoideae) pods.] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & J. Döbereiner</i>	25-29
Prevalência e diagnóstico comparativo da linfadenite caseosa em caprinos do Estado do Rio de Janeiro. [Prevalence and comparative diagnosis of caseous lymphadenitis in goats from Rio de Janeiro State.] <i>C.H. Langenegger, J. Langenegger & P.O. Scherer</i>	31-34
Intoxicação experimental por <i>Cassia occidentalis</i> (Leg. Caes.) em eqüinos. [Experimental poisoning by <i>Cassia occidentalis</i> (Leg. Caes.) in horses.] <i>L. F. Irigoyen, D.L. Graça & C.S.L. Barros</i>	35-44

Vol. 11, Nos. 3/4, Jul./Dez. 1991

Análise da antigenicidade de constituintes da saliva de <i>Boophilus microplus</i>. [Analysis of the antigenicity of constituents of <i>Boophilus microplus</i> ' saliva.] <i>S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer</i>	45-47
Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. [Poisoning by <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) in cattle in southern Brazil.] <i>J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez</i>	49-54
Tratamento intermitente da tuberculose bovina com isoniazida. [Intermittent treatment of bovine tuberculosis with isoniazid.] <i>J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.</i>	55-59
Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. [Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus.] <i>M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal</i>	61-64
Intoxicação experimental por <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) em caprinos. [Experimental poisoning of goats by <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae).] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner</i>	65-70
Intoxicação por <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. [Poisoning of cattle by <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) in Santa Catarina.] <i>A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó</i>	71-74
Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. [Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil.] <i>E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta</i>	75-80
Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares a tuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. [Histologic study and isolation of mycobacteria from tuberculosis-like lesions in cattle in southern Brazil.] <i>G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild</i>	81-86

ÍNDICE DOS AUTORES

Author Index

Andrade G.B. 81	Garcia M. 61	Neves D.S. 71
Barros C.S.L. 35	Gava A. 9, 25, 71	Oliveira Jr. J. 55
Bastos J.E.D. 13	Graça D.L. 35	Peixoto P.V. 9, 25, 65
Beicher A.M.A.H. 13	Irigoyen D.L. 35	Pilati C. 71
Benesi F.J. 61	Langenegger C. 1, 31	Pimentel M.A. 17
Birgel E.H. 61	Langenegger J. 1, 21, 31, 55	Riet-Correa F. 17, 49, 81
Campos G.S. 45	Leite G.O. 55	Schaer R. 45
Carvalho D. 45	Lira A.D. 21	Scherer P.O. 31
Cavalcante M.I. 21	Marçal W.S. 61	Schild A.L. 17, 49, 81
Coelho H.E. 13	Méndez M.C. 17, 49, 81	Silva D.A.O. 13
D'Angelino J.L. 61	Meyer R. 45	Souza M.A. 13
Döbereiner J. 25, 65	Mielke P.V. 81	Stolf L. 9, 71
Ferreira F.A. 13	Mineo J.R. 13	Tokarnia C.H. 9, 25, 65
Ferreira J.L.M. 17, 49	Nascimento I.L.O. 45	Viganó L. 71
Freire S.M. 45		

ERRATA

Pesq. Vet. Bras. 10(3/4): 71-84, jul./dez. 1990

Página	Coluna	Linha	Onde se lê	Leia-se
71	1ª	8ª	sintomatologia nervosa de excitação às vezes descrita na intoxica-	sintomatologia, achados de necropsia e alterações histológicas

ISSN 0100-736X

Volume 11 Números 3/4

Jul/Dez 1991

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilingüe 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 datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

Pesquisa Veterinária Brasileira, a bilingual quarterly journal, edited by the Brazilian College of Animal Pathology, publishes original articles and review papers on all aspects of veterinary science. Contributions on animal pathology and related subjects, mainly diseases of economic importance, are particularly welcomed. Reviews should be written in support of original 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.

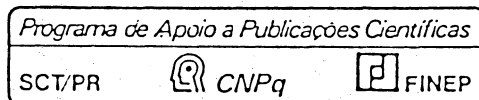
Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adair 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, Francisco Megale, 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 (Brasil); Tel. (021) 682-1081 e 682-1082; Telex 21-32723 EBPA BR; Fax (021) 682-1230.



A Revista conta com a colaboração
da Embrapa-MARA e UFRRJ-MEC

Figura da capa: *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, planta tóxica a bovinos na região do Planalto e no Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. (Gava et al., p. 71)

Cover illustration: *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, a poisonous plant for cattle in the eastern Highland and the High Valley of the Itajaí river, State of Santa Catarina, Brazil. (Gava et al., p. 71)

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 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 a 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 "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, D.C.).

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

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

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os

sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; *Sinopse* e *Abstract* serão escritos corriadamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

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

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

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se 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; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final da respectiva referência, na forma: "(Citado por Fulano 19..)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último 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; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

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

5. Os *quadros* deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço de 12 batidas, à esquerda.

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

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 11

Julho/Dezembro 1991

Números 3/4

SUMÁRIO

Análise da antigenicidade de constituintes da saliva de <i>Boophilus microplus</i> . S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer	45-47
Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez	49-54
Tratamento intermitente da tuberculose bovina com isoniazida. J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.	55-59
Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal	61-64
Intoxicação experimental por <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) em caprinos. C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner	65-70
Intoxicação por <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó	71-74
Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta	75-80
Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares a tuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild	81-86

CONTENTS

Analysis of the antigenicity of constituents of <i>Boophilus microplus</i> ' saliva. S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer	45-47
Poisoning by <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) in cattle in southern Brazil. J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez	49-54
Intermittent treatment of bovine tuberculosis with isoniazid. J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.	55-59
Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus. M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal	61-64
Experimental poisoning of goats by <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae). C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner	65-70
Poisoning of cattle by <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) in Santa Catarina. A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó	71-74
Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil. E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta	75-80
Histologic study and isolation of mycobacteria from tuberculosis-like lesions in cattle in southern Brazil. G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild	81-86

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 Rio de Janeiro, RJ; tel. (021) 263-7561

PRÊMIO JOSÉ REIS DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA - 1991

SCT/PR – Secretária de Ciência e Tecnologia da Presidência da República

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

O Prêmio José Reis de Divulgação Científica foi criado em 1978 pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Ao dar ao Prêmio o nome de José Reis a intenção foi homenagear aquele que é considerado o decano da divulgação científica no Brasil, o cientista e jornalista José Reis que mantém, há 42 anos ininterruptos, uma seção semanal sobre ciência no Jornal Folha de S. Paulo.

A partir de 1982 o Prêmio José Reis passou a ser concedido anualmente. Desde 1983, há premiação em três modalidades. Em Divulgação Científica concorrem cientistas, pesquisadores e divulgadores da ciência. A modalidade Jornalismo Científico só permite a participação de jornalistas profissionais. Na modalidade Instituição podem concorrer organismos como museus, centros de pesquisa e, também, veículos de comunicação.

A intenção do Prêmio é incentivar e reconhecer o trabalho realizado no sentido de fazer chegar ao público mais amplo possível informações sobre aspectos da Ciência e da Tecnologia.

(Continua na página 60)

REGULAMENTO

CAPÍTULO I – DO PRÊMIO

ARTIGO 1º – O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO – CNPq concederá anualmente o Prêmio José Reis de Divulgação Científica, destinado àqueles que, por suas atividades, tenham contribuído significativamente para tornar a ciência e tecnologia conhecidas do grande público.

ARTIGO 2º – O Prêmio José Reis de Divulgação Científica é atribuído em 3 (três) modalidades:

- Divulgação Científica**, que premiará o cientista, pesquisador ou escritor enquanto divulgador da ciência e da tecnologia para o grande público;
- Jornalismo Científico**, que premiará o jornalista profissional que se destaque na difusão da ciência e da tecnologia nos meios de comunicação de massa; e
- Instituição**, que premiará a instituição ou o veículo de comunicação coletiva que tenha tornado acessível ao grande público conhecimentos sobre ciência e tecnologia e seus avanços.

ARTIGO 3º – O Prêmio José Reis de Divulgação Científica, que será entregue em cerimônia pública, pelo Presidente do CNPq, consiste em:

- diploma e medalha para as três modalidades; e
- importância em dinheiro, definida anualmente pelo Presidente do CNPq, para as modalidades de Divulgação Científica e Jornalismo Científico.*

PARÁGRAFO ÚNICO – Caso, em um exercício, a Comissão Julgadora decidir não atribuir o Prêmio, no todo ou em uma das modalidades, o valor respectivo não será acumulado ao do exercício subsequente.

ARTIGO 4º – O Prêmio José Reis de Divulgação Científica não será concedido mais de uma vez à mesma pessoa ou instituição.

PARÁGRAFO ÚNICO – Poderá ser conferida Menção Honrosa à pessoa ou instituição, exigindo-se justificativa por unanimidade da Comissão Julgadora. Quem recebê-la poderá concorrer ao Prêmio em anos posteriores.

CAPÍTULO II – DA COMISSÃO JULGADORA

ARTIGO 5º – A atribuição do Prêmio José Reis de Divulgação Científica competirá a uma Comissão Julgadora de 11 (onze) membros, designados pelo Presidente do CNPq, sendo 3 (três) de sua livre escolha e os demais representando as seguintes entidades:

- Academia Brasileira de Ciências;
- Associação Brasileira de Emissoras de Rádio e Televisão;
- Associação Brasileira de Imprensa;
- Associação Brasileira de Jornalismo Científico;
- Associação Nacional dos Jornais;
- Federação Nacional dos Jornalistas Profissionais;
- Ministério da Educação; e
- Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência.

PARÁGRAFO 1º – A Comissão Julgadora deliberará com a presença da maioria de seus membros.

PARÁGRAFO 2º – Presidirá a Comissão o membro que, para essa função, for designado pelo Presidente do CNPq. O Presidente da Comissão, além de seu voto, terá o voto de qualidade.

*Para o Prêmio José Reis de Divulgação Científica – 1991 o valor é Cr\$ 500.000,00 (quinhentos mil cruzeiros).

CAPÍTULO III – DAS DISPOSIÇÕES GERAIS

ARTIGO 6º – As inscrições serão feitas pelo próprio candidato, ou seu representante legal.

PARÁGRAFO 1º – Toda inscrição deverá ser acompanhada de justificativa em que se evidencie significativa contribuição à divulgação científica e de cópia dos trabalhos mais importantes.

PARÁGRAFO 2º – Nas inscrições individuais, são necessários:

- curriculum vitae atualizado;
- número do CPF e da carteira de identidade; e
- endereço completo e telefone para contato.

PARÁGRAFO 3º – Nas inscrições institucionais, são necessários:

- carta de encaminhamento assinada pelo responsável legal pela instituição;
- número do CGC; e
- endereço completo e telefone para contato.

PARÁGRAFO 4º – As inscrições consideradas incompletas serão devolvidas.

PARÁGRAFO 5º – As inscrições deverão ser encaminhadas no período de 01 de outubro a 30 de novembro à Secretaria Executiva do Prêmio José Reis de Divulgação Científica, no CNPq: SEPN 507 Bloco “B” 3º andar, Brasília - DF, CEP 70.740.

PARÁGRAFO 6º – A Comissão Julgadora avaliará os trabalhos durante os meses de fevereiro e março do ano subsequente ao das inscrições.

PARÁGRAFO 7º – A entrega do Prêmio será feita no mês de maio do ano subsequente ao das inscrições.

ARTIGO 7º – Os casos omissos serão resolvidos pela Comissão Julgadora, cujas decisões, nos termos deste Regulamento, são irrecuráveis.

PRÊMIO JOSÉ REIS DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA – 91

FICHA DE INSCRIÇÃO

Modalidade _____ Nº _____

Nome: _____

CPF: _____ CI/RG: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Estado: _____

CEP: _____ Telefone: _____

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura

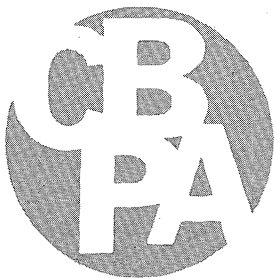
(Preencher à máquina ou com letra de imprensa)

ISSN 0100-736X

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 11, 1991



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

É revista bilíngüe trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal e publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia animal no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica.

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 welcome. Reviews should be written in support of original investigations. The editors assume that papers submitted are not being considered for publication in other journals and do not contain material which has already been published.

Editor: Jürgen Döbereiner, *Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, 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. Arteche, <i>Porto Alegre</i>	E. Grunert, <i>Hannover</i>	H. Merkt, <i>Hannover</i>
E.H. Birgel, <i>São Paulo</i>	J.A. Guimarães, <i>Rio de Janeiro</i>	G.E. Moya, <i>Rio de Janeiro</i>
H. Blobel, <i>Giessen</i>	G. Habermehl, <i>Hannover</i>	R. Reis, <i>Belo Horizonte</i>
P.G. Cabral, <i>Porto Alegre</i>	E. Hofer, <i>Rio de Janeiro</i>	C.H. Romero, <i>Concórdia</i>
A.F.P. Castro, <i>Campinas</i>	M.R. Honer, <i>Rio de Janeiro</i>	I.B.M. Sampaio, <i>Belo Horizonte</i>
M.S. Dayrell, <i>Coronel Pacheco</i>	M. Mariano, <i>São Paulo</i>	H.G. Schatzmayr, <i>Rio de Janeiro</i>
G. Dirksen, <i>München</i>	A. Mayr, <i>München</i>	L.-Cl. Schulz, <i>Hannover</i>
L. Grisi, <i>Rio de Janeiro</i>	F. Megale, <i>Viçosa</i>	

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS



A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

SUMÁRIO

List of Contents

Vol. 11, Nos. 1/2, Jan./Jun. 1991

Monitoramento sorológico e alérgico da infecção por <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> em caprinos. [Serologic and allergic monitoring of experimental infections in goats by <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> .] <i>C.H. Langenegger & J. Langenegger</i>	1-7
Intoxicação experimental por <i>Brunfelsia pauciflora</i> (Solanaceae) em bovinos. [Experimental poisoning in cattle by <i>Brunfelsia pauciflora</i> (Solanaceae).] <i>C.H. Tokarnia, A. Gava, L. Stolf & P.V. Peixoto</i>	9-12
Ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de toxina botulínica tipo D. [Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for the detection of botulinum type D toxin.] <i>D.A.O. Silva, M.A. Sousa, A.M.A.H. Beicher, J.R. Mineo, F.A. Ferreira, H.E. Coelho & J.E.D. Bastos</i>	13-16
Fotossensibilização em bovinos causada por <i>Ammi majus</i> (Umbelliferae) no Rio Grande do Sul. [Photosensitization in cattle caused by <i>Ammi majus</i> (Umbelliferae) in southern Brazil.] <i>M.C. Méndez, F. Riet-Correa, A.L. Schild, J.L. Ferreira & M.A. Pimentel</i>	17-19
Tratamento massal da tuberculose bovina com isoniazida. [Massal treatment of bovine tuberculosis with isoniazid.] <i>J. Langenegger, M.J. Cavalcante & A.D. Lira</i>	21-23
Intoxicação experimental por <i>Stryphnodendron coriaceum</i> (Leg. Mimosoideae) em bovinos. [Experimental poisoning of cattle by <i>Stryphnodendron coriaceum</i> (Leg. Mimosoideae) pods.] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & J. Döbereiner</i>	25-29
Prevalência e diagnóstico comparativo da linfadenite caseosa em caprinos do Estado do Rio de Janeiro. [Prevalence and comparative diagnosis of caseous lymphadenitis in goats from Rio de Janeiro State.] <i>C.H. Langenegger, J. Langenegger & P.O. Scherer</i>	31-34
Intoxicação experimental por <i>Cassia occidentalis</i> (Leg. Caes.) em eqüinos. [Experimental poisoning by <i>Cassia occidentalis</i> (Leg. Caes.) in horses.] <i>L. F. Irigoyen, D.L. Graça & C.S.L. Barros</i>	35-44

Vol. 11, Nos. 3/4, Jul./Dez. 1991

Análise da antigenicidade de constituintes da saliva de <i>Boophilus microplus</i>. [Analysis of the antigenicity of constituents of <i>Boophilus microplus</i> ' saliva.] <i>S.M. Freire, G.S. Campos, D. Carvalho, I.L.O. Nascimento, R. Schaer & R. Meyer</i>	45-47
Intoxicação por <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. [Poisoning by <i>Amaranthus</i> spp. (Amaranthaceae) in cattle in southern Brazil.] <i>J.L.M. Ferreira, F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez</i>	49-54
Tratamento intermitente da tuberculose bovina com isoniazida. [Intermittent treatment of bovine tuberculosis with isoniazid.] <i>J. Langenegger, G.O. Leite & J. Oliveira Jr.</i>	55-59
Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. [Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus.] <i>M. Garcia, J.L. D'Angelino, F.J. Benesi, E.H. Birgel & W.S. Marçal</i>	61-64
Intoxicação experimental por <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) em caprinos. [Experimental poisoning of goats by <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae).] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner</i>	65-70
Intoxicação por <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. [Poisoning of cattle by <i>Cestrum corymbosum</i> var. <i>hirsutum</i> (Solanaceae) in Santa Catarina.] <i>A. Gava, L. Stolf, C. Pilati, D.S. Neves & L. Viganó</i>	71-74
Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. [Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil.] <i>E.F. Bondan, F. Riet-Correa & S.M. Giesta</i>	75-80
Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares a tuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. [Histologic study and isolation of mycobacteria from tuberculosis-like lesions in cattle in southern Brazil.] <i>G.B. Andrade, F. Riet-Correa, P.V. Mielke, M.C. Méndez & A.L. Schild</i>	81-86

ÍNDICE DOS AUTORES

Author Index

Andrade G.B. 81	Garcia M. 61	Neves D.S. 71
Barros C.S.L. 35	Gava A. 9, 25, 71	Oliveira Jr. J. 55
Bastos J.E.D. 13	Graça D.L. 35	Peixoto P.V. 9, 25, 65
Beicher A.M.A.H. 13	Irigoyen D.L. 35	Pilati C. 71
Benesi F.J. 61	Langenegger C. 1, 31	Pimentel M.A. 17
Birgel E.H. 61	Langenegger J. 1, 21, 31, 55	Riet-Correa F. 17, 49, 81
Campos G.S. 45	Leite G.O. 55	Schaer R. 45
Carvalho D. 45	Lira A.D. 21	Scherer P.O. 31
Cavalcante M.I. 21	Marçal W.S. 61	Schild A.L. 17, 49, 81
Coelho H.E. 13	Méndez M.C. 17, 49, 81	Silva D.A.O. 13
D'Angelino J.L. 61	Meyer R. 45	Souza M.A. 13
Döbereiner J. 25, 65	Mielke P.V. 81	Stolf L. 9, 71
Ferreira F.A. 13	Mineo J.R. 13	Tokarnia C.H. 9, 25, 65
Ferreira J.L.M. 17, 49	Nascimento I.L.O. 45	Viganó L. 71
Freire S.M. 45		

ERRATA

Pesq. Vet. Bras. 10(3/4): 71-84, jul./dez. 1990

Página	Coluna	Linha	Onde se lê	Leia-se
71	1ª	8ª	sintomatologia nervosa de excitação às vezes descrita na intoxica-	sintomatologia, achados de necropsia e alterações histológicas

INTOXICAÇÃO POR *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA¹

ALDO GAVA², LUIZ STOLF², CELSO PILATI³, DALMO DA SILVA NEVES² e LEUNIRA VIGANÓ³

ABSTRACT.- Gava A., Stolf L., Pilati C., Neves D.S. & Viganó L. 1991. [Poisoning of cattle by *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) in Santa Catarina.] Intoxicação por *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):71-74. Centro de Ciências Agro Veterinárias, Cx. Postal D-29, Lages, Santa Catarina 88500, Brazil.

A disease of cattle characterized by acute hepatic insufficiency was studied in the state of Santa Catarina. Clinical manifestations were anorexia, apathy, rumen atony, dark and mucous feces, salivation, sunken eyes and muscular tremors. The animals kept their head down or against an obstacle and showed instability of gait. Death occurred 8 to 12 hours after the first symptoms. Post-mortem findings in 4 animals were a slightly pale liver, its cut-surface had a nutmeg appearance, and circular hemorrhages of 0.5 to 2 mm in diameter were seen below the capsule. There were also hemorrhages of the serosa of the rumen, omasum, intestine and of the heart, especially at the coronary sulcus and in the endocardium of the left ventricle. In omasum, colon and rectum dried contents were observed in all cases. Histological examination showed coagulation necrosis of the hepatic parenchyma associated with congestion and hemorrhages and steatosis.

The disease was experimentally reproduced by oral administration of fresh leaves of *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* to 11 bovines. With a single dose of 39 and 35 g/kg or repeated doses of 2.5 and 5 g/kg during 14 to 23 days an acute disease developed and the animals died with clinical signs and macro and microscopic lesions similar to those found in the natural cases. With single doses of 30 g/kg the animals became ill but recovered and with 20 g/kg only one out of 2 animals showed clinical signs. The administration of 0.623 and 1.25 g/kg to 2 calves during 95 days caused no clinical symptoms nor gross or microscopic lesions.

The results of this study showed that *C. corymbosum* var. *hirsutum* is the cause of the disease which occurs on the Planalto Catarinense and in the Alto Vale do Itajai, characterized by acute hepatic insufficiency. The ingestion of the plant is related to hunger, since the mortalities occur with more frequency in the periods of lack of pasture. There appears to be a cumulative effect of the plant poison.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*, Solanaceae, plant poisoning, bovine, pathology.

SINOPSE.- Uma doença com quadro clínico-patológico de insuficiência hepática aguda foi estudada em bovinos, no estado de Santa Catarina. O quadro clínico manifestado pelos animais doentes caracterizava-se principalmente por anorexia, apatia, atonia de rume, fezes pastosas e escuras, salivação, globo ocular retraído, tremores musculares. Os animais mantinham a cabeça baixa ou apoiada em obstáculos e mostravam andar cambaleante. A morte ocorria entre 8 à 12 horas após o início dos sintomas. À necropsia de 4 bovinos, o fígado estava levemente amarelado, ao corte observava-se aspecto de nos-moscada e havia hemorragias circulares de 0,5 à 2 mm de diâmetro sob a cápsula. Também chamavam atenção hemorragias nas serosas do rume, omaso, intestino e hemorragias no coração, principalmente no sulco coronário e no endocárdio esquerdo. Ressecamento do conteúdo do

omaso, cólon e reto foi observado em todos os casos. Os exames histológicos mostraram necrose de coagulação do parênquima hepático associada à congestão e hemorragias centrolobulares, e esteatose.

Esta doença foi reproduzida experimentalmente através da administração a 11 bovinos de folhas verdes de *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* coletadas na região da ocorrência. Com doses únicas de 39 e 35 g/kg ou doses repetidas de 2,5 e 5 g/kg durante 14 a 23 dias, os animais adoeceram de forma aguda e morreram com sinais clínicos e lesões macro e microscópicas semelhantes às observadas nos casos naturais. Em doses únicas de 30 g/kg ocorreram sintomas clínicos com recuperação posterior, e de 20 g/kg apenas um dos dois bovinos adoeceu. A administração de 0,625 e 1,25 g/kg em dois bezerros durante 95 dias não produziu alterações clínicas e nem lesões macro e microscópicas.

Conclui-se que a ingestão de *C. corymbosum* var. *hirsutum* é a causa da doença de bovinos que ocorre no Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai, caracterizada por insuficiência hepática aguda. Presume-se que a ingestão da planta está relacionada à

¹ Aceito para publicação em 26 de abril de 1991.

² Centro de Ciências Agro Veterinárias (CAV), Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88500.

³ Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária, CAV.

fome, já que as mortes ocorrem mais no período de escassez de pasto e a doença pode se manifestar tanto em animais que ingeriram doses únicas superiores a 20 g/kg ou naqueles que passam a consumir doses menores até no mínimo 2,5 g/kg, por vários dias (efeito acumulativo).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*, Solanaceae, intoxicação por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Informações obtidas de criadores da região leste do Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai se referem a uma doença de caráter agudo que acomete bovinos, principalmente durante os períodos de escassez alimentar. Enquanto no planalto, as mortes ocorrem mais frequentemente nos meses de maio/junho, no Vale do Itajai, elas são mais frequentes durante os meses de agosto/setembro, período em que geralmente os bovinos são postos a pastorear em capoeiras. Vários animais doentes foram acompanhados através de exames clínicos e necropsias, que juntamente com os exames histológicos demonstraram que a doença se caracterizava por produzir um quadro de insuficiência hepática aguda. Com base nestas informações e no quadro clínico patológico, suspeitou-se que a doença seria causada pela ingestão de planta de ação hepatotóxica. Porém nas observações dos campos da região, não foi encontrada nenhuma planta hepatotóxica conhecida. Este fato motivou a experimentação em bovinos com um arbusto de alta incidência tanto no Planalto leste como no Alto Vale do Itajai, que frequentemente mostrava sinais de ser consumido. Esta planta foi identificada posteriormente como *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*.

Na literatura não encontramos nenhuma citação sobre a toxicidade desta planta para os animais domésticos. No Brasil Döbereiner et al. (1969), referem-se à intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht, como planta responsável por mortandades em bovinos no Estao do Rio de Janeiro. Esta planta quando ingerida pelos bovinos em doses de 10 a 50 g/kg produz um quadro clínico-patológico de insuficiência hepática aguda, caracterizada por anorexia, tremores musculares, excitação, agressividade, andar cambaleante e morte. Através da necropsia, os autores observaram aspecto de noz-moscada no fígado e ressecamento do conteúdo do omaso e do intestino grosso. Pelo exame histológico verificaram no fígado, necrose centrolobular acompanhada de congestão, hemorragia e esteatose na periferia dos lóbulos. Outra planta do mesmo gênero, *Cestrum parqui*, é descrita como responsável por mortes em bovinos no Rio Grande do Sul. Riet-Correa et al. (1986) experimentalmente reproduziram a intoxicação letal com 10 e 20 g/kg e descreveram o quadro clínico-patológico por ela reproduzido, caracterizado por anorexia, agressividade, paresia do trem posterior e morte em 24 horas. À necropsia observaram no fígado aumento de volume e presença de áreas vermelho-escuras intercaladas por áreas claras, edema da parede da vesícula biliar, ressecamento do conteúdo retal e hemorragia na mucosa intestinal. Pelo exame histológico constataram no fígado

necrose centrolobular e da zona intermediária, associada à congestão e hemorragia.

MATERIAL E MÉTODOS

1) *Estudo da doença espontânea.* – Após a caracterização das lesões histológicas em fragmentos de fígado de bovinos recebidos no Setor de Patologia Animal do Centro de Ciências AgroVeterinárias de Lages, foi efetuado levantamento de históricos junto as propriedades de origem das amostras. Posteriormente, os estudos foram ampliados à outras propriedades localizadas ao leste do Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai, com acompanhamentos de animais doentes.

2) *Estudo experimental.* – As folhas de *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum* (Fig. 1) foram coletadas no município de Lages, SC, durante o ano de 1987, em diferentes períodos e administra-



Fig. 1. *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, Município de Lages, Santa Catarina.

das ainda verdes a 11 bovinos com idade variando entre 18 meses e 3 anos. Inicialmente foram administradas a 4 bovinos doses únicas de 20, 30, e 39 g/kg. Posteriormente 5 animais receberam doses repetidas diárias de 0,625, 1,25, e 5,0 g/kg. Os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Setor de Anatomia Patológica do Centro de Ciências AgroVeterinárias de Lages, SC.

Os bovinos submetidos ao experimento e os que manifestaram a doença espontânea, foram acompanhados clinicamente e os que morreram foram necropsiados, coletando-se fragmentos de órgãos para estudos histológicos. O material coletado foi fixado em formol a 10%, incluído em parafina, cortado em seções de 5 micra e corado com hematoxilina e eosina. Para observação de gordura nos hepatócitos foi usada a técnica de SUDAN III.

RESULTADOS

Doença espontânea

Através do acompanhamento clínico de 4 bovinos (3 no município de Lages e 1 no município de Salete), constataram-se, como sintomas predominantes, anorexia, parada da ruminação, pêlo arrepiado, apatia, fezes pastosas e escuras, andar cambaleante, salivação, cabeça baixa, tremores musculares, decúbito esternal ou lateral, ranger de dentes e movimentos de pedalagem. Um bovino

apresentou agressividade. Dois animais (SAP 2140 e 2523) morreram entre 8 e 12 horas após apresentarem os primeiros sintomas e duas vacas foram sacrificadas (SAP 2222 e 2635) por solicitação dos proprietários, uma quando já se encontrava em decúbito e outra com sinais clínicos bem manifestados, mas ainda de pé. À necropsia constatou-se, nos animais que morreram naturalmente, lesões no fígado que se apresentava de coloração levemente amarelada, com hemorragias circulares de 0,5 a 2 mm de diâmetro sob a capsula. Ao corte, o fígado mostrava além da coloração levemente amarelada, um aspecto de noz-moscada em grau moderado. Grandes áreas de hemorragias foram vistas na serosa do omaso e do intestino, bem como no sulco coronário e no endocárdio esquerdo. O conteúdo do omaso, colon e reto era seco. Nos animais sacrificados havia sufusões na mucosa do ceco, colon e reto e o conteúdo era envolto por muco e, às vezes, por sangue. Os exames histológicos dos 4 bovinos mostraram necrose hepática caracterizada por intensa eosinofilia do citoplasma dos hepatócitos acompanhada por picnose e cariorrexia, associada à congestão e hemorragias. Em dois animais (SAP 2140 e 2523) a necrose se concentrava na região centro-lobular e zona intermediária, enquanto que, nos outros dois (SAP 2222 e 2635), a necrose se estendia por todo o lóbulo hepático. Congestão centrolobular foi observada em 3 bovinos (SAP 2140, 2523 e 2635), difusa no quarto (SAP 2222); ela foi acentuada em 2 animais (SAP 2523 e 2635) e leve em outros dois (SAP 2140 e 2222). Em um bovino (SAP 2635) havia esteatose moderada, difundida por todo o lóbulo hepático.

Intoxicação experimental

Experimentalmente a doença foi reproduzida em bezerros, através da administração de folhas verdes de *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*. A dosagem utilizada, o número de administrações, bem como o peso dos animais, tempo de início dos sintomas e o tempo de óbito após o início das manifestações clínicas constam no Quadro 1.

Dois animais que receberam doses de 39 e 35 g/kg (07

e 13) manifestaram alterações clínicas muito graves, ocorrendo a morte em 10 horas e 30 minutos e 9 horas e 20 minutos respectivamente, após o início dos sintomas. Com dose única de 30 g/kg produziram-se sinais clínicos de intensidade moderada em um bezerro (nº 14) e acentuados em outro (nº 12). Estes dois animais foram considerados clinicamente recuperados em 75 e 26 horas respectivamente, após o início dos sintomas. Doses únicas de 20 g/kg administradas a dois animais, produziram alterações clínicas de intensidade moderada apenas em um (nº 11). Doses diárias de 2,5 g/kg (nº 18) e 5 g/kg (nº 15 e 17) produziram sintomas clínicos graves e a morte ocorreu após 23 e 14/19 administrações respectivamente. Doses repetidas de 1,25 g/kg (nº 19) e 0,625 g/kg (nº 20) durante 95 dias não causaram o aparecimento de sinais clínicos da doença. Estes sinais foram idênticos em todos os animais, variando apenas na intensidade, incluindo os que morreram após receberem doses diárias de 2,5 e 5,0 g/kg. Os sintomas se caracterizaram por anorexia, congestão de esclera e conjuntiva, atonia de rume, dificuldade de locomoção, salivação, globo ocular retraído, cabeça baixa ou apoiada em obstáculos, decúbito com a cabeça voltada para o flanco ou estendida sobre o solo, tremores musculares, fezes pastosas e escuras ou em forma de síbalas com muco e sangue, orelhas caídas, gemidos e ranger de dentes. Os bezerros que foram ao óbito apresentaram ainda opistótono e movimentos de pedalagem. A necropsia dos 5 bovinos que morreram após fortes manifestações clínicas apresentaram significativas lesões no fígado caracterizadas por coloração levemente amarelada, evidenciando-se hemorragias circulares subcapsulares de 0,5 a 2 mm de diâmetro e aspecto de noz-moscada, moderado, mais evidente na superfície de corte. Na maioria dos casos foram observados edema da parede da vesícula biliar e sufusões na serosa do rume, do omaso e do intestino, bem como equimoses no sulco coronário, nas fâscias intermusculares e hemorragias difusas no endocárdio do ventrículo esquerdo. Ressecamento do conteúdo do omaso, do colon e do reto foi encontrado em todos os animais necropsiados, sendo que no cólon e reto o conteúdo era envolto por muco e, às vezes, por sangue, enquanto que

Quadro 1. Intoxicação experimental por *C. corymbosum* var. *hirsutum* em bovinos

Bovino		Planta administrada			Sintomas	
Nº	Peso (kg)	Quantidade (g/kg)	Dose total (kg)	Nº de administrações	Início após a administração da planta	Evolução após o início dos sintomas
7	180	39,0	7,0	1	14 h	10 h 30 min., morreu
13	73	35,0	2,55	1	7 h 15 min.	9 h 20 min., morreu
12	92	30,0	2,76	1	14 h	26 h, recuperou-se
14	105	30,0	3,15	1	20 h	75 h, recuperou-se
11	70	20,0	1,4	1	21 h	41 h, recuperou-se
16	301	20,0	6,02	1	Ausência de sintomas	—
15	72	5,0	5,04	14	14 dias	5 h, morreu
17	155	5,0	14,72	7+12 ^a	7 a 12 dias	96 e 21 h, morreu
18	155	2,5	8,91	23	23 dias	11 h, morreu
19	162	1,25	19,23	95	Ausência de sintomas	Sacrificado
20	175	0,625	10,39	95	Ausência de sintomas	Sacrificado

^a Interrupção da administração por um período de 8 dias em decorrência da manifestação dos sintomas e posterior recuperação.

NÍVEIS DE COBRE EM FÍGADOS DE BOVINOS NO SUL DO RIO GRANDE DO SUL¹

EDUARDO FERNANDES BONDAN², FRANKLIN RIET-CORREA^{2,4}, SERGIO M. GIESTA³

ABSTRACT.- Bondan E.F., Riet-Correa F. & Giesta S.M. 1991. [Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil.] Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):75-80. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, UFPel, Pelotas, RS 96100, Brazil.

The levels of copper of 365 bovine livers were determined by atomic absorption spectrophotometry. Two hundred and sixty-six samples were obtained at slaughter-houses and the other 99 from necropsies. All the samples were collected from animals raised in southern Rio Grande do Sul. The area studied was divided in four zones: Litoral, Encosta do Sudeste, Serra do Sudeste and Campanha. Copper concentrations of <25 ppm (dry basis) were detected in 31.34% and 31.16% of slaughtered cows and bullocks, respectively, and in 36.36% of necropsy materials, showing marked depletion of this element. Nine samples from necropsies had levels lower than 5 ppm (d.b.); eight were from animals that died suddenly, suggesting an association between the death and low levels of copper. Livers obtained from necropsies and slaughtered cows, which came from Litoral and Encosta do Sudeste, both localized near the Lagoa dos Patos and Lagoa Mirim, had mean copper concentrations significantly lower than those from Serra do Sudeste.

INDEX TERMS: Copper, liver copper levels, hypocuprosis, mineral deficiencies, bovines.

SINOPSE.- Trezentas e sessenta e cinco amostras de fígado bovino, provenientes de animais da área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico, da Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, tiveram seus níveis de cobre determinados por espectrofotometria de absorção atômica em chama de acetileno. Desse total, 266 amostras, incluindo vacas e novilhos, foram coletadas de abatedouros e 99 eram materiais de necropsia, estocados nos anos de 1986, 1987 e primeiro semestre de 1988. A área estudada foi dividida para a realização da amostragem e análise dos resultados em 4 zonas, incluindo Litoral, Encosta do Sudeste, Serra do Sudeste e Campanha. Concentrações iguais ou inferiores a 25 partes por milhão (base seca) foram encontradas em 31,34% e 31,16% dos fígados de vacas e novilhos de abate, respectivamente, e em 36,36% de materiais de necropsia, evidenciando uma marcada depleção dos níveis hepáticos do elemento. De 9 fígados de animais necropsiados que tiveram níveis inferiores a 5 ppm (b.s.), 8 foram provenientes de bovinos que apresentaram morte súbita, sugerindo que o quadro clínico seja devido à carência de cobre. Esse fato evidencia que os baixos níveis do elemento observados na área podem resultar em estados carências, com presença de sinais clínicos e/ou perda na produção.

Os fígados de bovinos necropsiados e de vacas de abate, provenientes do Litoral e da Encosta do Sudeste, zonas essas localizadas próximas às Lagoas Mirim e dos Patos, apresentaram concentrações médias de cobre significativamente mais baixas que na Serra do Sudeste.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Cobre, níveis hepáticos de cobre, hipocuprose, deficiências minerais, bovinos.

INTRODUÇÃO

Cobre é um dos elementos-traço reconhecidos como essenciais aos organismos animais e vegetais. O reconhecimento da indispensabilidade desse mineral baseia-se na observação de sua ocorrência universal em materiais biológicos, na identificação de processos metabólicos dos quais participa diretamente ou sobre os quais exerce influência e na descrição e demonstração experimental do fato de a deficiência de cobre produzir em plantas e animais manifestações características que podem, por sua vez, ser aliviadas ou prevenidas com a suplementação do elemento (Cunningham 1946).

A deficiência de cobre, também denominada hipocuprose, cursa nos animais com uma ampla variedade de manifestações, as quais variam de acordo com a idade, o sexo, a espécie animal, a severidade e a duração desse estado.

Em ruminantes, diversas doenças endêmicas atribuídas à deficiência de cobre são descritas nas mais diversas partes do mundo, recebendo denominações locais e causando graves prejuízos. Mesmo quando a deficiência é

¹ Aceito para publicação em 24 de maio de 1991.

Financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Baseado na tese de mestrado, apresentada pelo primeiro autor, do Curso de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

² Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, Univ. Fed. Pelotas, Pelotas, RS 96100.

³ Faculdade de Engenharia Química, Fundação Univ. Rio Grande, RS 96200.

⁴ Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

mais branda ela pode causar igualmente sérias perdas econômicas, a partir do momento que reduz a produtividade dos animais, o que pode, com frequência, passar despercebido, e produz sintomas inespecíficos, como crescimento retardado, perda de peso corporal, redução da produção leiteira e baixa fertilidade (Blood & Radostits 1989).

As concentrações hepáticas de cobre constituem índices sensíveis a baixos aportes do elemento e fornecem valioso auxílio no diagnóstico de hipocupose (Underwood 1977).

No Brasil, severa deficiência de cobre foi identificada no delta do Rio Parnaíba, nos Estados do Piauí e Maranhão; em bovinos é responsabilizada de estar envolvida na etiologia de diversos quadros clínicos, entre eles uma doença conhecida como "ronca", caracterizada por respiração ruidosa; em ovinos afeta cordeiros recém-nascidos ou jovens, causando uma doença, similar a ataxia enzoótica, conhecida popularmente como "escancho" (Tokarnia et al. 1966, 1968, Tokarnia & Döbereiner 1973). Enfermidade idêntica à "ronca" foi descrita na região do litoral norte do Estado do Rio de Janeiro com o nome vulgar de "mal da ronqueira" ou "mal do roncado", em bovinos apresentando respiração ruidosa e emagrecimento progressivo até a morte (Tokarnia et al. 1971, Tokarnia & Döbereiner 1973).

Níveis hepáticos deficientes e/ou marginais do elemento, considerados como tais, respectivamente, níveis de 0 a 50 e de 50 a 100 ppm (b.s.), foram observados em toda a região entre a Serra do Mar e o Oceano Atlântico, no Estado de Santa Catarina; no Sul do Estado do Rio de Janeiro; no Município de Jaciara, no Estado do Mato Grosso; no interior do Estado do Piauí; na Ilha de Marajó, no Pará, e na região de mata do Município de Macapá, no Território do Amapá (Tokarnia et al. 1968, 1971, Tokarnia & Döbereiner 1973).

No Rio Grande do Sul, amostras de fígado de seis bovinos do Município de Santa Vitória do Palmar apresentaram níveis de 44,3; 55,1; 58,7; 72,7; 113,3; e 115,8 ppm (b.s.), a partir de um estudo realizado para identificação de uma doença de etiologia desconhecida, responsável por grande mortalidade na região (Bauer et al. 1964), possivelmente botulismo de acordo com a descrição fornecida, em virtude da concomitante ocorrência de severa deficiência de fósforo na região (Tokarnia & Döbereiner 1973).

O presente trabalho pretende, através da determinação dos níveis desse mineral em fígados de bovinos, avaliar a situação dos rebanhos quanto às reservas de cobre na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (L.R.D.), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), investigando a possibilidade da ocorrência de estados de depleção do elemento, o que poderia estar, de alguma forma, relacionado com os problemas de baixa produtividade da pecuária nessa área, com o fim de se poder indicar medidas profiláticas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram determinados os níveis de cobre de 365 amostras de fígado bovino. Desse total, 99 pertenciam a materiais de necropsias de rotina, de animais que morreram das mais diversas causas, realizadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), estocados em formol a 10%, durante os anos de 1986, 1987 e primeiro semestre de 1988.

As 266 amostras restantes foram obtidas em abatedouros da região ao longo de aproximadamente 16 meses, de abril de 1987 a julho de 1988, sendo 199 provenientes de novilhos e 67, de vacas.

De cada fígado coletado ao abate, um pedaço de cerca de 100 g do tecido, obtido do lobo caudado, foi posto em saco plástico individual, sendo as amostras, posteriormente, congeladas.

Para a amostragem dividiu-se a área de influência do LRD em 4 zonas:

- Litoral, compreendendo os municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar;
- Encosta do Sudeste, compreendendo os municípios de Tapera, Camaquã, São Lourenço do Sul, Pelotas, Capão do Leão, Jaguarão e Arroio Grande;
- Serra do Sudeste, compreendendo os municípios de Canguçu, Pedro Osório, Pinheiro Machado, Piratini e Herval;
- Campanha, compreendendo os municípios de Bagé e Dom Pedrito.

A distribuição e delimitação das zonas utilizadas no trabalho podem ser vistas na Fig. 1.

O número total de amostras obtidas é apresentado no Quadro 1, junto com os materiais provenientes de necropsia.

As amostras coletadas ao abate foram distribuídas da forma mais equitativa possível entre seus municípios componentes e tomando-se não mais que dois animais de um mesmo estabelecimento.

Porção de cada amostra de fígado obtida foi cortada em pequenos pedaços, que foram secados a 120°C por 24 horas, e triturados digerindo-se 1 g do pó seco resultante com 6 ml de HNO₃ conc.⁵ e 1 ml de HC10₄ conc.⁶ em recipiente de teflon (3,5 x 5 cm) com tampa, sobre placa aquecedora a 130°C por, aproximadamente, 6 horas.

Transferiu-se o produto da digestão a balão volumétrico de 25 ml e completou-se o volume com HNO₃ 1%.

A cada 20 amostras preparadas usou-se um controle externo, mediante digestão nitroperclórica de 0,5 g do padrão de fígado bovino⁷, seguindo-se idêntico procedimento ao descrito anteriormente.

A determinação dos níveis de cobre nas amostras e controles externos foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica⁸ em chama de ar-acetileno, usando-se padrões de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 ppm, preparados, por sua vez, a partir de solução-padrão de estoque de 1000 ppm de cobre⁹.

Os resultados dos níveis hepáticos de cobre em materiais de necropsia, em vacas e em novilhos de abate, provenientes das di-

⁵ Ácido nítrico mfn. 65%, P.A., Merck. Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ.

⁶ Ácido perclórico 70%, A.C.S., Carlo Erba. Carlo Erba Divisione Chimica, Milão, Itália.

⁷ Standard Reference Material (SRM 1577a). Bovine Liver (158 ± 7 µg Cu/g). U.S. Department of Commerce, National Bureau of Standard, Washington, D.C. 20234.

⁸ Espectrofotômetro de absorção atômica Varian modelo AA-175, com lâmpada de cátodo oco de cobre.

⁹ Cobre solução-padrão, Tritisol (1,000 g ± 0,002g Cu). Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ.

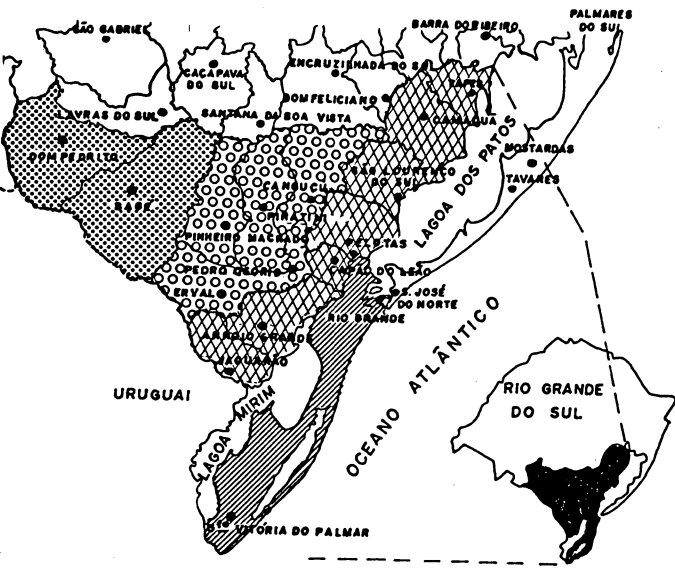


Fig. 1. Região sul do Rio Grande do Sul e zonas de amostragem de fígados de bovinos.

Quadro 1. Número de amostras de fígado bovino obtidas ao abate (novilhos e vacas) e por necropsia, em relação às 4 zonas da área de influência do LRD

Animais	Número de amostras de fígado obtidas				Total
	Litoral	Encosta do Sudeste	Serra do Sudeste	Campanha	
Novilhos abatidos	42	51	58	48	199
Vacas abatidas	14	17	22	14	67
Bovinos necropsiados	18	67	10	4	99
Total	74	135	90	66	365

ferentes zonas da área de influência do LRD, foram avaliados por análise de variância e comparados pelo teste de Tukey.

Amostras com níveis de cobre até 25 ppm (b.s.) foram consideradas como deficientes; de 26 a 99 ppm (b.s.), como marginais; e de 100 a 400 ppm (b.s.), como normais. Avaliou-se pelo teste de X² as diferenças quanto à frequência de níveis de cobre hepático identificados como deficientes, marginais e normais nas distintas zonas.

Amostras que apresentaram concentrações de cobre maiores que 400 ppm (b.s.) foram desconsideradas para o cálculo da média e do desvio-padrão, bem como para o desenvolvimento da análise de variância, do teste de Tukey e do teste de X².

Nos materiais de necropsia, a análise de variância, o teste de Tukey e o teste de X², foram realizados em relação apenas a três zonas (Litoral, Encosta do Sudeste e Serra do Sudeste), uma vez que o número de amostras provenientes da Campanha foi bastante reduzido.

RESULTADOS

Os níveis hepáticos de cobre encontrados nas 4 zonas estudadas em bovinos necropsiados e vacas e novilhos de abate se apresentam no Quadro 2.

Os níveis hepáticos de cobre em novilhos e vacas de abate são mostrados no Quadro 3.

Quadro 2. Níveis médios de cobre (ppm) em fígados de bovinos de diferentes categorias

Região	Bovinos necropsiados $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Categorias	
		Vacas de abate $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Novilhos de abate $\bar{X} \pm S\bar{X}$
Litoral	50 ± 16,1a ^a	52 ± 20,4a	74 ± 10,5a
Encosta do Sudeste	60 ± 7,8a	53 ± 12,2a	86 ± 12,4a
Serra do Sudeste	137 ± 36,9b	145 ± 17,3b	92 ± 9,3a
Campanha	208 ± 71,6 ^b	94 ± 19,7ab	73 ± 8,1a

^a Letras diferentes indicam que as médias diferem significativamente entre si (P < 0,01) pelo teste de Tukey.

^b A zona da Campanha não teve sua média comparada com as demais em razão do pequeno número de amostras da mesma.

Quadro 3. Concentrações de cobre (em p.p.m. - base seca) em fígados de vacas e novilhos de abate^a

Categoria	Cobre	
	$\bar{X} \pm s$	n
Vacas	93,4 ± 83,2	67
Novilhos	81,8 ± 70,2	188

^a Os resultados de vacas e novilhos não diferem significativamente pelo teste F (P < 0,05).

No Quadro 4, é apresentada a distribuição dos resultados da determinação dos níveis de cobre nos materiais de necropsia e nas amostras de vacas e novilhos obtidos ao abate nas 4 classes consideradas.

Na Fig. 2 é mostrada a distribuição dos resultados das análises de cobre hepático nas zonas da área de influência do LRD, considerando-se 4 classes, relativas a níveis deficientes (0-25 ppm - b.s.), marginais (26-99 ppm - b.s.), normais (100-400 ppm - b.s.) e excedentes (> 400 ppm - b.s.).

As frequências de níveis deficientes, marginais e normais por zonas foram significativamente diferentes (P = 0,0068) no caso dos resultados de vacas de abate, não se observando, porém, diferenças significativas nos materiais de necropsia (P = 0,0664) e nos novilhos provenientes de abatedouros (P = 0,3963).

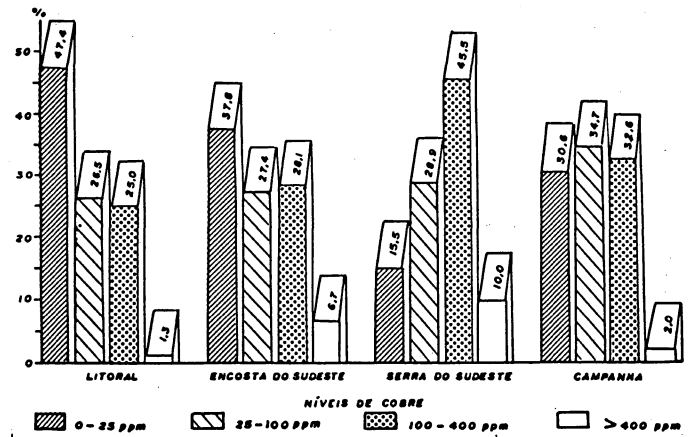


Fig. 2. Distribuição dos diferentes níveis de cobre hepático em bovinos das 4 regiões estudadas.

Quadro 4. Distribuição dos resultados da determinação dos níveis de cobre hepático por categoria estudada

Categoria	Níveis de Cu (em p.p.m - b.s.)				Total				
	0-25		26-99			100-400		> 400	
	n ^a	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)
Bovinos necropsiados	36	(36,36%)	27	(27,27%)	27	(27,27%)	9	(9,09%)	99
Vacas de abate	21	(31,34%)	20	(29,85%)	26	(38,81%)	0	(0%)	67
Novilhos de abate	62	(31,16%)	57	(28,64%)	69	(34,67%)	11	(5,53%)	199
Total	119	(32,60%)	104	(28,49%)	122	(33,43%)	20	(5,48%)	365

^a Número de amostras incluídas na classe considerada.

De 9 amostras de bovinos necropsiados que tiveram níveis inferiores a 5 ppm (b.s.), 8 (4 de Rio Grande, 3 de Arroio Grande e 1 de Tapes) eram pertencentes a animais com quadro de morte súbita, caracterizado por ocorrer quando os animais eram movimentados, caindo repentinamente e apresentando tremores musculares e morte após alguns segundos ou minutos (Riet-Correa et al. 1988).

Nas amostras de fígado coletadas em abatedouros, níveis hepáticos de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.), foram detectados em 2 vacas provenientes do Município de Santa Vitória do Palmar e em 1 novilho de Arroio Grande.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no trabalho mostram que 32,6% do total das amostras de fígado analisadas apresentaram níveis de cobre iguais ou inferiores a 25 ppm (b.s.). Apesar da inexistência de um acordo entre diversos autores com relação aos níveis que indicam seguramente estados carenciais do elemento em bovinos, os valores considerados no presente trabalho como sugestivos de deficiência são mencionados por Hill et al. (1962) e Ammerman (1970). Uma vez que Corrêa (1955), Tokarnia et al. (1959), Ammerman (1970) e Underwood (1977) estabelecem como normais concentrações marcadamente superiores, entre 100 a 400 ppm (b.s.), considerou-se como marginais níveis de 26 a 99 ppm.

Langlands et al. (1987), em trabalho similar a este, adotaram como indicativos de carência de cobre níveis inferiores a 7,2 ppm (b.s.), enquanto que Smith & Coup (1973) observaram que, em rebanhos leiteiros, animais com níveis hepáticos situados entre 5 e 10 ppm (b.s.) não apresentavam sinais clínicos de hipocuprose. Esses eram freqüentemente evidenciados quando as concentrações eram inferiores a 5 ppm.

Suttle (1986) ressalta o fato de que os níveis hepáticos de cobre constituem um critério de armazenamento, indicando, quando baixos, mais um estado de depleção do que de carência. Assim, as baixas concentrações encontradas em algumas amostras deste trabalho mostram inicialmente a existência de um estado de depleção das reservas do mineral do fígado, órgão que constitui o sítio mais importante de armazenamento do elemento no organismo animal, observando-se também que valores baixos foram identificados tanto em materiais provenientes de

bovinos necropsiados quanto em amostras de fígado obtidas em abatedouros e pertencentes a animais sadios e em bom estado de manutenção.

Como níveis hepáticos de cobre indicativos da ocorrência de hipocuprose clínica ou subclínica ainda não foram estabelecidos com precisão e clareza, a carência será demonstrada somente nos casos em que as baixas concentrações estejam associadas à observação de doenças comprovadamente causadas pela deficiência do mineral ou a uma melhoria da produção como resposta à suplementação com o elemento.

Nesse sentido, trabalhos recentes de suplementação parenteral com cobre, realizados em um estabelecimento do Município de Rio Grande, evidenciaram um ganho de peso significativamente maior ($P < 0,05$) em vaquilha suplementadas (85,8kg de ganho) em relação aos animais testemunhas (80,6 kg de ganho) no período de outubro de 1987 a abril de 1988 (Riet-Correa et al. 1988, dados não publicados), o que comprova que no Estado do Rio Grande do Sul existem áreas onde os baixos níveis de cobre determinam perdas na produção.

Além disso, observou-se que, dentre as determinações realizadas em materiais de bovinos necropsiados, níveis de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.) foram encontrados em fígados de 8 animais, provenientes de 3 estabelecimentos localizados no Litoral e Encosta do Sudeste e que apresentaram um quadro de morte súbita, sugerindo que essas mortes possam estar associadas à carência de cobre (Riet-Correa et al. 1988). Nesses casos não foi possível estudar as lesões macroscópicas e histológicas em virtude de as carcaças não estarem mais em condições apropriadas em consequência da autólise pós-morte. O quadro clínico observado é similar ao de uma doença endêmica descrita na Austrália em vacas leiteiras e conhecida como "falling disease", a qual se caracteriza por morte súbita, sendo considerada como manifestação terminal de severa deficiência primária de cobre (Bennetts et al. 1948).

O presente trabalho não permite determinar se os baixos níveis de cobre hepático são devidos a uma carência do mineral nas pastagens, o que caracteriza uma deficiência primária do elemento, ou à presença de algum antagonista do cobre na dieta, notadamente molibdênio, capaz de afetar sua absorção e utilização pelo animal, constituindo a chamada deficiência secundária ou condicionada.

Em levantamento da composição mineral das pastagens

nativas do Estado do Rio Grande do Sul, Gavillon & Quadros (1970) não encontraram valores tóxicos de mobilidênio, observando até mesmo baixos níveis nos municípios de Arroio Grande e Bagé. Por sua vez, valores de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.) foram obtidos no verão em amostras de pastagens nativas dos municípios de Rio Grande, Bagé e Dom Pedrito, evidenciando a possibilidade de que as baixas concentrações hepáticas do elemento encontradas nos bovinos da área de influência do LRD, sejam devidas a deficiência do elemento no pasto.

Sulfato, zinco, cádmio, cálcio, chumbo, mercúrio, prata, ácido ascórbico e ácido fólico são citados igualmente como elementos antagonistas ao cobre (Underwood 1977, Quiroga 1982). Dessa forma, a complexidade dos fatores que podem estar relacionados com a hipocuprose revela a necessidade de que sejam realizados estudos adicionais no sentido de se determinar a possível participação dos antagonistas citados anteriormente como responsáveis pelos baixos níveis de cobre encontrados.

A alta variabilidade individual encontrada neste trabalho está em conformidade com resultados obtidos por Cunningham (1946), Tokarnia et al. (1968, 1971) e Bellanger (1968), tendo sido igualmente considerada por Underwood (1977) e Suttle (1986).

Níveis altos de cobre, similares aqueles descritos como tóxicos, foram vistos em algumas amostras. Nos materiais de necropsia analisados, pode-se atribuir tal fato à possibilidade da ocorrência de certas condições patológicas caracterizadas justamente pelo acúmulo de quantidades anormais do elemento no fígado. No homem, tuberculose, cirrose, carcinomas e doenças crônicas severas acompanhadas de anemia são alguns exemplos (Underwood 1977).

Por outro lado, amostragem obtida em abatedouros pode não ser representativa da população de determinada área, embora o seja em relação aos animais abatidos (Langlands et al. 1987). Animais deficientes tendem a ter seu crescimento corporal prejudicado, não atingindo o peso requerido para abate. Dessa forma, as concentrações hepáticas de cobre obtidas neste trabalho, ainda que baixas em muitas amostras, podem não representar a real situação do rebanho quanto ao elemento investigado, existindo a possibilidade de que em animais a pastoreio essas concentrações sejam ainda menores.

A análise dos resultados nas quatro áreas estudadas mostra que tanto fígados provenientes de bovinos necropsiados como aqueles provenientes de vacas de abate apresentaram níveis médios de cobre significativamente diferentes ($P < 0,01$), observando-se valores mais baixos no Litoral e na Encosta do Sudeste e mais altos na Serra do Sudeste. Os resultados obtidos na Campanha são inconclusivos devido ao processamento de um número reduzido de fígados de vacas e de bovinos necropsiados dessa zona.

As diferenças encontradas, porém, mostram claramente que os municípios do Litoral e da Encosta do Sudeste, localizados às margens das Lagoas Mirim e dos Patos,

onde ocorreram também as mortes súbitas associadas a baixos níveis de cobre, constituem as áreas onde a ocorrência de problemas devido a hipocuprose se torna mais provável. Tais zonas são similares às áreas descritas como deficientes em microelementos, dentre os quais o cobre, e que incluem os solos arenosos de planícies costeiras e lacustres (Blood & Radostits 1989), tal como os encontrados no Litoral e na Encosta do Sudeste.

Os resultados, pois, evidenciados neste trabalho mostram a existência de baixos níveis hepáticos de cobre em bovinos de toda a área de influência do LRD, indicando um estado de depleção das reservas do elemento no organismo animal, o que pode resultar em sinais clínicos de hipocuprose ou perdas na produção. Essa ocorrência de hipocuprose clínica ou subclínica depende provavelmente do modo como fatores nutricionais, climáticos e de manejo atuam e interagem. Uma vez que a presença clínica ou subclínica de hipocuprose pode afetar a produção animal, prejudicando o ganho de peso e o desempenho reprodutivo (Hidiroglou 1979) e face aos baixos valores hepáticos obtidos nas análises efetuadas, recomendamos a suplementação com cobre para bovinos de pastejo, em toda região, principalmente no Litoral e Encosta do Sudeste, onde foram observadas as mortes súbitas e houve ganho de peso significativo nos animais suplementados.

REFERÊNCIAS

- Ammerman C.B. 1970. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J. Dairy Sci.* 53(8):1097-1107.
- Bauer A.G., Santos A.G. dos & Mancuso P.C. 1964. Algumas observações sobre uma doença de bovinos no município de Santa Vitória do Palmar. In: III Reunião da Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Anais SOVERGS, p. 153-161.
- Bellanger J. 1968. Relations entre les taux de cuivre sanguin, hépatique et pileaire chez 250 bovins d'abattoir. *Rech. Vétér.* (1):127-130.
- Bennetts H.W., Beck A.B. & Harley R. 1948. The pathogenesis of "falling disease". Studies on copper deficiency in cattle. *Aust. Vet. J.* 24:237-244.
- Blood D.C. & Radostits O.M. 1989. *Veterinary Medicine*. 6th ed. Baillière Tindall, London, p. 1464.
- Corrêa R. 1955. Carência de cobalto em bovinos no Estado de São Paulo. *Revta. Bras. Biol.* 15(3):309-313.
- Cunningham I.J. 1946. Copper deficiency in cattle and sheep on peatlands. *N.Z. J. Sci. Tech., Sect. A*, 27:381-396.
- Gavillon O. & Quadros A.T. 1970. Levantamento da composição mineral das pastagens nativas do Rio Grande do Sul. Depto Prod. Animal, Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 8.
- Hill R., Thambyah R., Wan S.P. & Shanta C.S. 1962. The copper status of cattle and buffalo in Malaya. *J. Agric. Sci.* 59:409-414.
- Hidiroglou M. 1979. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. *J. Dairy Sci.* 62:1195-1206.
- Langlands J.P., Donald G.E. & Smith A.J. 1987. Analysis of data collected in a residue survey: copper and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep and cattle. *Aust. J. Exp. Agric.* 27:485-491.
- Quiroga M.A. 1982. Deficiencia de cobre em bovinos - Actualización bibliográfica (1ª parte) *Gac. Vet.* 371:513-530.
- Riet-Correa F., Méndez M.C., Schild A.L., Brod C.S. & Bondan E.F. 1988. Mortes súbitas em bovinos associados à carência de cobre. In: *Laboratório Regional de Diagnóstico, doenças diagnosticadas no ano de 1987*, Editora e Gráfica Universitária, UFPEL, Pelotas, p. 24-26.
- Smith B.P. & Coup M.R. 1973. Hypocuprosis: a clinical investigation of dairy herds in Northland. *N.Z. Vet. J.* 21:252-258.

- Suttle N.F. 1986. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet. Rec.* 119:148-152.
- Tokarnia C.H., Mitidieri E. & Affonso O.T. 1959. Dados analíticos sobre valores de cobre e ferro encontrados em fígados de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de Janeiro*, 2:33-37.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães J.A. 1966. Ataxia enzoótica em cordeiros na costa do Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:375-382.
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A. & Döbereiner J. 1968. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no Nordeste e Norte do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 3:351-360.
- Tokarnia C.H., Guimarães J.A., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1971. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 6:61-77.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1973. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil, a review. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 8(Supl.):1-6.
- Underwood E.J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 4th ed. Academic Press, New York, p. 545.

ESTUDO HISTOLÓGICO E ISOLAMENTO DE MICOBACTÉRIAS DE LESÕES SIMILARES À TUBERCULOSE EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL¹

GISELE BRAZILIANO ANDRADE², FRANKLIN RIET-CORREA^{3,4}, PAULO VELARDEZ MIELKE³, MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ^{3,4} e ANA LUCIA SCHILD^{3,4}

ABSTRACT.- Andrade G.B., Riet-Correa F., Mielke P.V., Méndez M.C. & Schild A.L. 1991. [Histologic study and isolation of mycobacteria from tuberculosis-like lesions in cattle in southern Brazil.] Estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões similares à tuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):81-86. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, 96100 Pelotas, RS, Brazil.

One hundred and fifty-nine lesions macroscopically similar to tuberculosis, observed in cattle slaughtered from 13 counties located in southern Rio Grande do Sul, were studied histologically. Tuberculosis was diagnosed in 147 (92.45%), lesions, club-forming granulomas in 7 (4.4%), eosinophilic abscess in 2 (1.26%), and abscess in 3 (1.89%). Fifty-nine specimens with histological lesions of tuberculosis were cultured for mycobacteria, obtaining 40 isolates, all of them classified as *Mycobacterium bovis*. Based in these results and the data related with condemnation due to tuberculosis in Rio Grande do Sul, the prevalence of the disease in beef cattle in the State during 1980-1987 was estimated in 0.6%. However, marked differences were observed between different areas. The higher prevalences (2.23% to 3.39%) occurred in the regions located in the coastland of the "Lagoa dos Patos", middle prevalences (0.97% to 1.95%) in the regions located West and Northwest near Porto Alegre, and the lower prevalences in the other regions of the State (0.12% to 0.71%). The annual prevalence of the disease has been decreasing systematically from 1980 (0.95%) to 1987 (0.42%).

INDEX TERMS: Cattle, tuberculosis, tuberculosis-like lesions, *Mycobacterium bovis*.

SINOPSE.- Cento e cinquenta e nove lesões observadas em frígidos como macroscopicamente similares à tuberculose, de bovinos provenientes de 14 municípios da região sul do Rio Grande do Sul, foram estudadas histologicamente. Tuberculose foi diagnosticada em 147 (92,45%) lesões, actinogranuloma em 7 (4,4%), abscesso eosinofílico em 2 (1,26%) e abscesso em 3 (1,89%). Em 59 desses materiais, com lesões histológicas de tuberculose, foram realizadas culturas para micobactérias, obtendo-se 40 isolamentos, todos eles tipificados como *Mycobacterium bovis*. Com base nos resultados do estudo histológico e bacteriológico foram analisados os dados de condenação por tuberculose de todos os municípios do Rio Grande do Sul, no período 1980-1987, estimando-se a prevalência da doença, em gado de corte no Estado, em aproximadamente 0,6%. No entanto detectaram-se marcadas variações, entre regiões, na frequência de lesões macroscopicamente similares à tuberculose, observando-se maiores prevalências (2,23% a 3,39%) nas microrregiões homo-

gêneas localizadas no litoral da Lagoa dos Patos, prevalências médias nas 6 microrregiões próximas a Porto Alegre, no sentido oeste e noroeste (0,97% a 1,95%), e as menores prevalências nas restantes microrregiões do Estado (0,12% a 0,71%).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Bovinos, tuberculose, lesões similares a tuberculose, *Mycobacterium bovis*.

INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina é uma doença conhecida há muitos anos pelos serviços oficiais de Saúde Animal e Inspeção Veterinária do Rio Grande do Sul. Apesar disso existem poucos dados sobre a sua frequência e distribuição geográfica no estado.

A dificuldade de se estabelecer um diagnóstico seguro da enfermidade somente pelo aspecto macroscópico das lesões, devido a granulomas causados por outras etiologias frequentemente indistinguíveis macroscopicamente de tuberculose, evidencia a necessidade de complementação desse diagnóstico através do estudo histológico e bacteriológico de lesões macroscopicamente similares à tuberculose. Esse estudo é importante tanto para executar uma política de rastreio com vistas a localizar os estabelecimentos onde ocorre a doença, como para realizar estimativas de prevalências e distribuição geográfica da enfermidade.

¹ Aceito para publicação em 4 de outubro de 1990.

Baseado na tese de Mestrado apresentada pelo primeiro autor no Curso de Pós-Graduação em Sanidade Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Financiada pelo convênio Embrapa/UFPEL.

² Faculdade de Veterinária da Fundação Pinhalense de Ensino, 13900 Espírito Santo do Pinhal, São Paulo.

³ Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96100 Pelotas, Rio Grande do Sul.

⁴ Bolsista do CNPq.

O presente trabalho teve como objetivos: 1) colher dados da epidemiologia da tuberculose no Rio Grande do Sul através da determinação da prevalência de lesões macroscopicamente similares à tuberculose observadas em frigoríficos e sua distribuição nas microrregiões do Estado; 2) realizar o diagnóstico histológico de lesões macroscopicamente similares à tuberculose observadas em frigoríficos, na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (L.R.D.) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas; 3) determinar as micobactérias causadoras de lesões de tuberculose em bovinos na área de influência do L.R.D.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se a análise dos índices anuais de condenação da tuberculose bovina por município, nos anos de 1980 a 1987, índices fornecidos pela SIPA-DFA-SERPA do Ministério da Agricultura, Rio Grande do Sul.

As amostras de lesões granulomatosas similares à tuberculose foram coletadas no período 1980-1987 por inspetores veterinários nas dependências das salas de matança dos frigoríficos Extremo Sul S/A, Sudeste S/A, em Pelotas, RS e Cidade S/A, em Bagé, RS. Os animais, novilhos e vacas, procediam de 14 municípios localizados na Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul (Fig. 1).

Para determinação do número de amostras adotou-se como referência a média do índice anual de condenação de carcaças tu-

berculosas na região estudada durante o período 1980-1987. Quatorze das amostras provenientes dos municípios de Dom Pedrito, Bagé e Pinheiro Machado foram fornecidas pelo Dr. Murilo Nogueira dos Santos, do Setor de Patologia Animal da Universidade Federal de Santa Maria.

As amostras coletadas nos frigoríficos, acondicionadas em sacos plásticos e conservadas pelo frio, foram transportadas, em um prazo de 12 horas, ao Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da UFPel, Pelotas, RS, e aí processadas para exame histológico. Efetuou-se também o estudo bacteriológico de 59 amostras coletadas em frigoríficos, sendo o cultivo e isolamento realizados no Laboratório da Cooperativa Sul-Riograndense de Laticínios (Cosulati), e a tipificação no Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal da Embrapa.

Para a realização do exame histopatológico, as 159 amostras de lesões granulomatosas similares à tuberculose foram fixadas em solução de formalina a 10% durante 24 a 48 horas. O material foi incluído em parafina e os blocos resultantes cortados a 5 micra, e os cortes corados pela hematoxilina-eosina (HE), Ziehl-Neelsen (ZN) e Ácido Periódico Schiff (PAS) (Luna 1968). Posteriormente, as lâminas foram examinadas ao microscópio óptico com aumento de 400 vezes, e lente de imersão para observação de micobactérias. Foram feitas novas lâminas e repetida a coloração de Ziehl-Neelsen em todos os materiais com lesões características de tuberculose nas quais não se observaram bacilos álcool-ácido resistentes. As colorações de Ziehl-Neelsen e PAS foram realizadas em grupos de 5 lâminas por bateria de coloração, utilizando-se, em todos os casos, como controle positivo, um material com presença de *Mycobacterium bovis* para a coloração de Ziehl-Neelsen, e de *Aspergillus fumigatus* para a coloração de PAS.

O intervalo de confiança para estimar o percentual de lesões macroscopicamente similares à tuberculose confirmados no estudo histológico na área de amostragem no período de 1980-1987 foi calculado pelos métodos descritos por Silveira et al. (1980).

Foram diagnosticadas como tuberculose aquelas lesões histológicas negativas à presença de fungos na coloração do PAS, caracterizadas por apresentar uma área de necrose caseosa com freqüente deposição de sais de cálcio, rodeada por reação granulomatosa constituída por linfócitos, macrófagos, células epitelióides e células gigantes, e tecido conjuntivo na periferia da lesão. A presença de bactérias álcool-ácido resistentes não foi considerada essencial para o diagnóstico histológico de tuberculose devido ao fato de que na maioria dos materiais nos quais se isolou *M. bovis* não ter sido observado esse microorganismo no estudo histológico.

O diagnóstico de actinogranuloma foi determinado pela presença de drusas na região central do granuloma envoltas por infiltrado inflamatório predominantemente neutrófilos e, na periferia, de linfócitos e células epitelióides rodeadas por tecido fibroso.

A caracterização histológica de abscesso eosinofílico foi dada em função da presença de uma reação inflamatória constituída principalmente de eosinófilos dispostos ao redor de áreas de necrose.

O diagnóstico de abscesso era realizado quando havia uma área central de conteúdo purulento com grande quantidade de neutrófilos, envoltas por tecido conjuntivo fibroso.

Para a realização do isolamento, os fragmentos foram tratados com hipocloreto de sódio (1000 ppm) por 2 dias consecutivos, seguindo-se o procedimento descrito por Lesslie (1970).

Foram semeados 2 tubos de meio de Löwenstein Jensen e 2 tubos de Stonebrick para cada material suspeito, com incubação a

MUNICÍPIOS

- | | |
|---------------------|-----------------------------|
| 1. Dom Pedrito | 8. Pelotas |
| 2. Bagé | 9. Pedro Osório |
| 3. Pinheiro Machado | 10. Arroio Grande |
| 4. Piratini | 11. Herval |
| 5. Canguçu | 12. Jaguarão |
| 6. Camaquã | 13. Santa Vitória do Palmar |
| 7. São Lourenço | 14. Rio Grande |

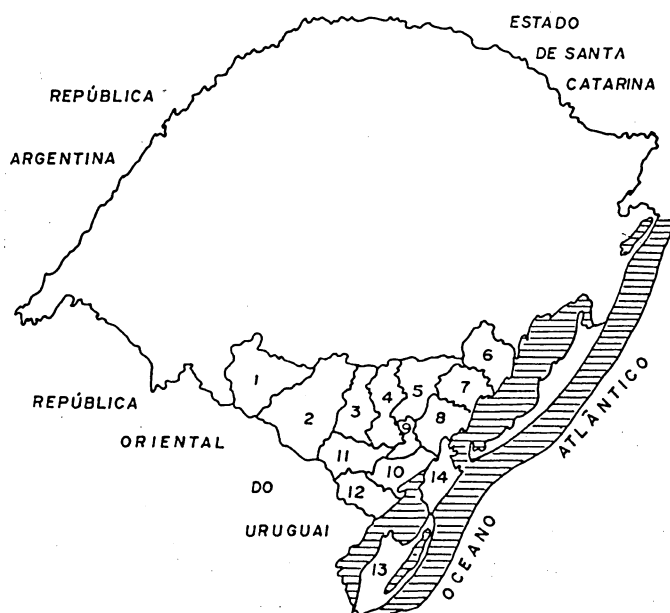


Fig. 1. Mapa mostrando os municípios do Rio Grande do Sul nos quais foi realizada a amostragem para o estudo histológico e isolamento de micobactérias de lesões macroscopicamente similares à tuberculose.

7°C durante 8 semanas. A identificação das micobactérias isoladas foi realizada no Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal da Embrapa, seguindo-se a metodologia adotada por Mota et al. (1980).

RESULTADOS

Estudo da prevalência

A prevalência anual e a prevalência por microrregiões homogêneas de lesões macroscopicamente similares à tuberculose detectadas em frigoríficos sob Inspeção Federal do Rio Grande do Sul no período de 1980-1987 são apresentadas nos Quadros 1 e 2, e na Figura 2.

Quadro 1. Prevalência anual de lesões macroscopicamente similares à tuberculose observadas em frigoríficos do Rio Grande do Sul sob Inspeção Federal

Ano	Número de bovinos		
	Abatidos	Com lesões similares à tuberculose	
		Nº	%
1980	896.572	8.494	0,95
1981	932.985	6.839	0,73
1982	1.079.792	7.986	0,74
1983	1.050.482	7.141	0,68
1984	970.343	5.927	0,61
1985	994.831	4.920	0,49
1986	738.936	3.316	0,45
1987	653.778	2.735	0,42
Total	7.317.719	47.358	0,64

Quadro 2. Prevalência de lesões macroscopicamente similares à tuberculose em bovinos provenientes das microrregiões homogêneas do Rio Grande do Sul detectadas em abatedouros com Inspeção Federal no período de 1980-1987

Microrregião homogênea	Número de bovinos		
	Abatidos	Condenados por tuberculose	
		Nº	%
Porto Alegre	131.823	2.992	2,27
Encosta da Serra Geral	23.313	454	1,95
Litoral Setentrional do RS	22.279	756	3,39
Vinicultora de Caxias do Sul	12.865	125	0,97
Alto Taquari	24.405	254	1,04
Baixo Taquari	78.465	899	1,15
Fumicultora de Santa Cruz do Sul	41.390	395	0,95
Vale do Jacuí	291.467	4.492	1,54
Santa Maria	221.235	1.521	0,69
Lagoa dos Patos	219.416	4.903	2,23
Litoral Oriental da Lagoa dos Patos			
Lagoa Mirim	87.967	2.609	2,97
Alto Camaquã	497.885	3.132	0,63
Campanha	574.692	4.298	0,75
Cruz Alta	3.630.431	13.098	0,36
Colonial das Missões	681.645	3.651	0,54
Santa Rosa	152.848	286	0,19
Colonial do Iraí	10.241	28	0,27
Erechim	16.693	90	0,54
Alto Jacuí	107.523	359	0,33
Soledade	862	1	0,12
Campos de Vacaria	89.445	427	0,48
Colonial do Ijuí	336.952	2.188	0,65
Colonial de Passo Fundo	22.463	189	0,84
	41.418	211	0,51
Total	7.317.719	47.358	0,64

Fonte: Ministério da Agricultura SIPA-DFA-SERPA.

MICRORREGIÕES DO ESTADO DO RS

1. Porto Alegre
2. Colonial da Encosta da Serra Geral
3. Litoral Setentrional do Rio Grande do Sul
4. Vinicultora de Caxias do Sul
5. Colonial do Alto Taquari
6. Colonial do Baixo Taquari
7. Fumicultora de Santa Cruz do Sul
8. Vale do Jacuí
9. Santa Maria
10. Lagoa dos Patos
11. Litoral Oriental da Lagoa dos Patos
12. Lagoa Mirim
13. Alto Camaquã
14. Campanha
15. Trilicultora de Cruz Alta
16. Colonial das Missões
17. Colonial de Santa Rosa
18. Colonial do Iraí
19. Colonial de Erechim
20. Colonial do Ijuí
21. Passo Fundo
22. Colonial do Alto Jacuí
23. Soledade
24. Campos de Vacaria

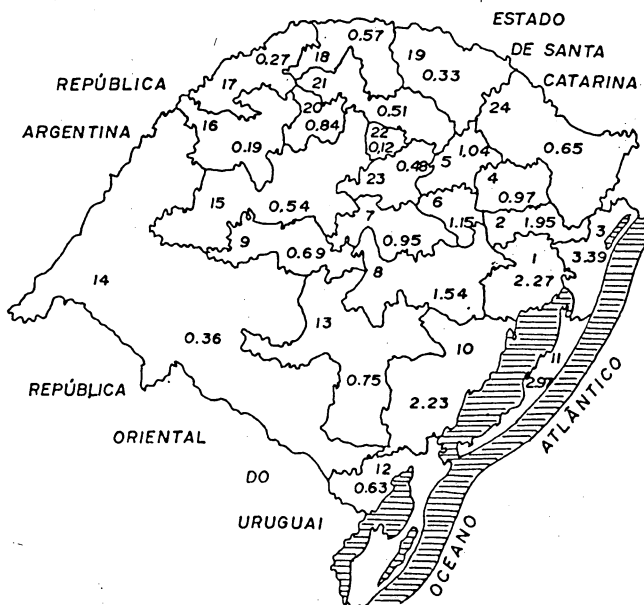


Fig. 2. Mapa mostrando a prevalência (números decimais) de lesões macroscopicamente similares à tuberculose em bovinos abatidos no período 1980-1987 provenientes de microrregiões homogêneas do Rio Grande do Sul.

Estudo histopatológico

O resultado dos exames histológicos de 159 materiais com lesões macroscopicamente similares à tuberculose é apresentado no Quadro 3. O Quadro 4 mostra a presença, em cortes histológicos, de micobactérias em materiais com e sem cultura de *M. bovis*.

Considerando-se o tamanho da amostra ($n = 159$), a população amostrada (12.125 lesões macroscopicamente similares à tuberculose observadas no período 1980-1987 em bovinos provenientes dos municípios onde foi realizada a amostragem) e os resultados obtidos (92,45% das lesões foram diagnosticadas como tuberculose), pode estimar-se que $92,45\% \pm 3,92$ ($p < 0,05$) das lesões diagnosticadas macroscopicamente como tuberculose no período 1980-1987 foram devidas à tuberculose.

Estudo bacteriológico

Foram isoladas micobactérias de 40 das 59 amostras de lesões macroscopicamente similares à tuberculose, sendo os 40 isolamentos tipificados como *Mycobacterium bovis*.

DISCUSSÃO

O estudo de lesões granulomatosas macroscopicamente similares à tuberculose demonstrou que 92,45% dessas

Quadro 3. Diagnóstico histológico de lesões macroscópicas similares à tuberculose provenientes de diferentes municípios da região sul do Rio Grande do Sul

Município	Tuberculose	Actinogranuloma	Granuloma eosinofílico	Abscesso	Total
Arroio Grande	8	—	—	—	8
Bagé	11	3	—	2	16
Camaquã	4	—	—	—	4
Canguçu	5	—	—	—	5
Dom Pedrito	7	—	—	—	7
Herval	3	—	—	—	3
Jaguarão	8	—	—	—	8
Pedro Osório	5	—	—	—	5
Pelotas ^a	9	1	2	—	12
Pinheiro Machado	5	—	—	1	6
Piratini	3	—	—	—	3
Rio Grande	45	1	—	—	46
Santa Vitória	18	—	—	—	18
S. Lourenço do Sul	16	2	—	—	18
Total	147(92,45%)	7(4,4%)	2(1,26%)	3(1,89%)	159

^a Incluindo o município de Capão do Leão emancipado em 1982.

Quadro 4. Observação histológica de bactérias álcool-ácido resistentes em materiais com lesões de tuberculose, com e sem cultura de *Mycobacterium bovis*

Material	Observação de bactérias álcool-ácido resistentes				Total
	Positivos		Negativos		
	Nº	%	Nº	%	
Com isolamento de <i>M. bovis</i>	11	27,5	29	72,5	40
Cultivados mas sem isolamento de <i>M. bovis</i>	0	0	19	100	19
Não cultivados com lesões histológicas de tuberculose	8	9,1	80	90,9	88
Total	19	12,9	128	87,1	147

lesões foram diagnosticadas como tuberculose, considerando-se como positivas todas aquelas lesões com histologia característica da tuberculose e negativas a fungo. Alguns autores têm classificado como tuberculose as lesões nas quais se observam micobactérias, e como sugestivas de tuberculose as lesões que apresentam histologia característica de um granuloma tuberculoso, porém sem a presença de bactérias álcool-ácido resistentes. As lesões sugestivas de tuberculose representam entre 12% e 36% do total de lesões, que podem ser atribuídas a *Mycobacterium* spp. (Morehouse et al. 1963, Errico et al. 1980). Neste trabalho o critério de considerar como positivas todas as lesões histológicas características de tuberculose, independente da presença de bacilos ácido-álcool resistentes, baseou-se no fato de que a ausência de micobactérias nos cortes histológicos foi constatada tanto em materiais com cultura positiva, como em materiais com lesões características de tuberculose em que não foram realizadas culturas (Quadro 4). Mota et al. (1972) registraram,

também, ausência de micobactérias na bacterioscopia em 18 (52%) de 35 materiais em que foi isolado *Mycobacterium bovis*. Esses resultados indicam que a não-observação de bacilos ácido-álcool resistentes em cortes histológicos de lesões, é um fato freqüente na tuberculose bovina, devido ao escasso número de *M. bovis* presentes na lesão. É portanto recomendável a utilização simultânea de técnicas histológicas e culturais, quando possível, no estudo de lesões granulomatosas similares à tuberculose.

Os resultados de tipificação das 40 micobactérias isoladas, todas elas tipificadas como *M. bovis*, são similares aos obtidos por Oliveira et al. (1975) e Mota et al. (1977) que de 43 e 95 micobactérias isoladas, respectivamente, identificaram todas como *M. bovis*, e por Oliveira (1977), que isolou *M. bovis* em 2 amostras, sendo 1 de tuberculose peniana e a outra tuberculose cardíaca. Muniz (1983) comunica também o isolamento de micobactérias de 77 amostras, sendo 76 classificadas como *M. bovis*, não mencionando o resultado obtido na tipificação do *Mycobacterium* restante. Somando-se os resultados desses autores com os obtidos neste trabalho fez-se um total de 216 isolamentos tipificados como *Mycobacterium bovis*, o que demonstra a importância deste microorganismo como causador de tuberculose bovina no Rio Grande do Sul. Apesar disso, recentemente, de 3 materiais provenientes de um estabelecimento com pecuária de corte e leite, com uma prevalência de 12,71% de reatores à tuberculina, foram isoladas uma amostra de *M. bovis* e uma de *Mycobacterium* do Complexo terrae-triviale (Grupo III de Runyon) (Mielke et al. 1987, dados não publicados).

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que 92,45% das lesões condenadas em frigoríficos como tuberculose foram confirmadas histologicamente, sendo somente 7,85% dos granulomas causados por outros agentes. Em trabalhos similares realizados em diversos países foram encontrados percentuais maiores de lesões

causadas por outros agentes. Na Austrália observou-se que entre 19% e 40,80% das lesões macroscopicamente similares à tuberculose eram devidas a outras causas (Tammemagi et al. 1973, Claxton et al. 1979, Rogers et al. 1980). Nos EUA entre 48,2% e 50,2% das lesões similares à tuberculose eram causadas por outros agentes (Davis et al. 1951, 1959, Morehouse et al. 1963); e no Uruguai, 74% das alterações macroscópicas suspeitas de serem tuberculose foram atribuídas a outras causas (Errico et al. 1980). As diferenças entre os resultados comunicados nesses trabalhos e os observados no Rio Grande do Sul devem-se, provavelmente, ao fato de que nesses países a prevalência de tuberculose é consideravelmente inferior à observada no Rio Grande do Sul.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram a confiabilidade dos dados obtidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul para estimar a prevalência da tuberculose no Estado. Isso permite analisar os dados apresentados na Figura 2 e no Quadro 2. No entanto devem ser feitas algumas considerações: 1) os animais abatidos em frigoríficos com inspeção federal representaram, no período 1980-1987, somente 73,77% dos bovinos abatidos com inspeção sanitária no Estado, já que os restantes 26,23% foram abatidos em estabelecimentos controlados pela Secretaria da Saúde. Obviamente não se inclui o abate clandestino, que é difícil de estimar e que no caso da tuberculose é muito importante, pois alguns produtores de gado de corte, com altos índices de condenação por tuberculose, enviam seus animais para serem abatidos em locais sem controle sanitário. Além disso é frequente que bovinos de leite e de corte de pequenas propriedades também sejam abatidos clandestinamente; 2) outro fator a ser considerado é que a inspeção sanitária pode não detectar animais com lesões incipientes e pequenas de tuberculose, sendo que em áreas com alta prevalência e transmissão o percentual de lesões não detectadas pode chegar a 33% do total (Kantor et al. 1987); e 3) esses dados devem ser considerados com relação à prevalência da doença em gado de corte, pois é muito baixo o número de bovinos de leite abatidos em frigoríficos com inspeção federal. Analisando a condenação em estabelecimentos sob inspeção federal vê-se que de 7.317.719 bovinos abatidos no período 1980-1987, 0,64% foram condenados por tuberculose. Estrapolando os dados obtidos na área da amostragem, onde $92,45\% \pm 3,92$ das lesões são confirmadas como tuberculose, e considerando os argumentos mencionados no parágrafo anterior, pode-se estimar a prevalência da tuberculose em gado de corte no Estado, nesse período, em aproximadamente 0,6%. Outro fato importante que se constata no Quadro 1 é que ocorreu uma constante redução da prevalência anual da enfermidade desde 1980 a 1987 atribuída provavelmente à instituição da Lei Estadual nº 5336 de combate à tuberculose no ano de 1966 e sua regulamentação em 1967.

De acordo com a Figura 2, é evidente também que existem no Estado áreas diferenciadas em relação à frequência da doença, observando-se as maiores prevalências

(2,23 a 3,39%) nas microrregiões homogêneas localizadas no litoral da Lagoa dos Patos, prevalências médias em 6 microrregiões localizadas a Noroeste e Oeste de Porto Alegre (0,97 a 1,95%) e as menores prevalências nas restantes microrregiões do Estado (0,12 a 0,71%). É evidente a necessidade de se determinar os fatores sócio-econômicos, aspectos geográficos e climáticos que poderiam ser responsáveis pelas diferenças na prevalência da doença. O conhecimento desses fatores seria importante no planejamento e na avaliação da campanha de controle da tuberculose bovina.

Dentro da área de influência do L.R.D., os municípios que apresentaram maior prevalência são aquelas onde a tuberculose tem ocorrido como problema importante. Nesses municípios tem ocorrido casos clínicos coletivos de tuberculose em rebanhos de gado de corte, e em rebanhos mistos de gado de corte e de leite (Riet-Correa 1985, dados não publicados), e prevalências entre 0,11% e 12,17% de animais reatores positivos têm sido encontrados em trabalhos de tuberculização em gado de corte (Mielke et al. 1987, dados não publicados).

Com relação ao gado de leite pareceria que a prevalência da tuberculose é maior que a observada em gado de corte. Em um levantamento realizado pela Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul em 1981, com 25.283 bovinos de 2.206 rebanhos leiteiros de 17 regiões do Estado, foi verificado que 3,2% eram reatores positivos à tuberculina e 8,43% eram reatores duvidosos. Por outro lado de 588.461 bovinos leiteiros tuberculinizados para comercialização sob o controle da mesma Secretaria, no período de 1979-1987, foi detectado 1,75% de reatores positivos (Muniz 1983; Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul 1988, dados não publicados). Na área de influência do L.R.D., no período de setembro de 1974 a julho de 1976, foram testados 449 animais de 56 propriedades localizadas na zona de abrangência da Cooperativa Sul-Riograndense de Laticínios (Municípios de Pelotas, Rio Grande, Canguçu, São Lourenço do Sul e Pedro Osório), encontrando-se 12,71% de animais reatores à tuberculina (Mielke et al. 1987, dados não publicados). Em outro trabalho realizado durante os anos de 1978 a 1979 no município de Pelotas foi encontrada uma prevalência de 21,4% de um total de 362 animais de 22 estabelecimentos leiteiros (Turnes et al. 1979).

Esses dados indicam que para o planejamento e a realização da campanha sanitária de controle de tuberculose deve-se considerar a ocorrência da doença tanto em gado de leite como em gado de corte, sendo que em gado de corte existem áreas com prevalências diferentes. Com relação a estabelecimento produtores de carne, é evidente a necessidade de se estabelecer uma metodologia de controle adequada ao sistema de criação utilizado no Estado.

Agradecimentos. - Os autores agradecem aos Médicos Veterinários da inspeção federal dos frigoríficos Extremo Sul, Sudeste e CICADE pela colaboração na coleta de materiais; ao Dr. Murilo Nogueira dos Santos, Universidade Federal de Santa Maria, pelo aporte de materiais por ele coletados; ao Dr. Jerome Langenegger, Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal da EMBRAPA, pela tipificação das micobactérias; e aos Drs. Fernando Muniz

e Regina Deppermann da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul pelos dados aportados.

REFERÊNCIAS

- Claxton P.D., Eames G.J. & Mylrea P.J. 1979. Laboratory diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust. Vet. J.* 55:514-519.
- Davis C.L. & Anderson W.A. 1951. Postmortem and laboratory diagnosis of bovine granulomas encountered in meat inspection with special reference to tuberculosis. *Proc. U. S. Livestock San. Ass. 55th Ann. Meet.*, p. 282-285.
- Davis D.L. & Anderson W.A. 1959. Pathology and the differential diagnosis of tuberculosis. *Proc. Tuberculosis Eradication Conference, Kansas*, p. 43-48.
- Errico F., Perdomo E., Bermudez J. Paullier C. & Barriola J. 1980. Estudio de lesiones similares a tuberculosis en bovinos del Uruguay. *Veterinaria, Montevideo*, 2:21-24.
- Kantor I.N., Nader A., Bernadelli A., Girón D.O. & Man E. 1987. Tuberculosis infection in cattle not detected by slaughterhouse inspection. *J. Vet. Med. B* 34:202-205.
- Leslie I.W. 1970. Laboratory examination of material for tubercle bacilli. *Proc. 1st International Seminar on Bovine Tuberculosis for the Americas*, p. 193-195.
- Luna G.L. 1968. *Manual of histologic staining methods of the United Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. Mc Graw Hill, New York, p. 258.
- Morehouse L.G., Singer R.H., McDaniel H.A., Howell D.G., Sherman K.C. & Cassidy D.R. 1963. Examination of bovine specimens suspected for being tuberculosis. *Proc. 61st Ann. Meet. U.S. Livestock San. Ass.*, p. 430-437.
- Mota M.B.T., Albuquerque A.J.D. & Santos A. 1977. Micobactérias isoladas de gânglios linfáticos de bovinos tuberculina positivos. *Revta Centro Ciênc. Rurais, Sta Maria*, 7(1):9-14.
- Mota P.M.P.C., Langenegger C.H., Leite R.C. & Langenegger J. 1980. Micobactérias isoladas de suínos no Estado de Minas Gerais. *Revta Microbiol.*, S. Paulo, 11:29-33.
- Muniz F. 1983. *Tuberculose bovina no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, datilografado.
- Oliveira S.J. 1977. Localização incomum de lesões causadas por *Mycobacterium bovis* em bovinos. *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, 4:39-43.
- Oliveira S.J., Crocco A. & Wolman W. 1975. Estudos preliminares sobre a ocorrência de *Mycobacterium bovis* em bovinos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul. *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, 3:83-90.
- Rogers R.J., Donald B.A. & Schultz K. 1980. The distribution of *Mycobacterium bovis* in Queensland cattle herds with observations on the laboratory diagnosis of tuberculosis. *Aust. Vet. J.* 56:542-545.
- Silveira P.J., Zonta E.P., Silva J.B. & Machado A.A. 1980. *Estatística Geral. Inferência Estatística*. Fasc. 4, UFPel, Pelotas.
- Tammemagi L., Simmons B.C., Kelman R. & Hall N.T. 1973. A Study of tuberculosis-like lesions in cattle slaughtered in Queensland meatworks. *Aust. Vet. J.* 49:507-511.
- Turnes C.G., Araújo F.L., Albuquerque I.M.B., Brizolara I.S.S. & Reyes J.C.S. 1979. Projeto Corredor: Evolução das prevalências de tuberculose bovina, brucelose bovina e mastite subclínica em dois anos de trabalho. *An. 3º Encontro Pesq. Vet., UFPel, Pelotas*, p. 11.

ANÁLISE DA ANTIGENICIDADE DE CONSTITUINTES DA SALIVA DE *Boophilus microplus*

SONGELÍ M. FREIRE², GÚBIO S. CAMPOS², DENISE CARVALHO², IVANA
L. O. NASCIMENTO², ROBERT SCHAER² e ROBERTO MEYER²

ABSTRACT. - Freire S.M., Campos G.S., Carvalho D., Nascimento I.L.O., Schaer R. & Meyer R. 1991. [Analysis of the antigenicity of constituents of *Boophilus microplus*' saliva.] Análise da antigenicidade dos constituintes da saliva de *Boophilus microplus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):45-47. Lab. Imunologia e Biologia Molecular, Inst. Ciências da Saúde, Univ. Fed. da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon s/n, Campus Universitário do Canela, Salvador, Bahia 40140, Brazil.

The macromolecules present in the *Boophilus microplus* saliva were separated by Electrophoresis on Polyacrylamide Gels and transferred to nitrocellulose paper. Some aspects were studied in both situations. Using Coomassie Brilliant Blue 250R to stain the proteins in the gel, 6 and 11 bands were detected on nondenaturing and denaturing systems respectively. Three glycoprotein and one lipoprotein bands were detected when Beta-mercaptoethanol was used (denaturing system). In this situation, three antigenic bands were observed in nitrocellulose paper after immunoenzymatic procedure when infested bovine or hyperimmune rabbit or mouse sera were used. All of these were glycoproteins.

INDEX TERMS: *Boophilus microplus*, ticks, saliva antigenicity.

SINOPSE. - A saliva (pool) de *Boophilus microplus* foi submetida a eletroforese em gel de poliacrilamida e logo a seguir procedida a transferência para papel de nitrocelulose, a fim de que a antigenicidade pudesse ser observada. A eletroforese revelou a existência de seis bandas quando em condições de não desnaturação e 11 bandas em condições desnaturantes. Neste último caso, três bandas eram glicoproteínas e uma lipoproteína. A revelação imunoenzimática no papel de nitrocelulose evidenciou três bandas quando se usaram soros de bovinos infestados por esse ixodídeo ou soro de coelhos e camundongos imunizados com a citada saliva.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Boophilus microplus*, ixodídeos, antigenicidade da saliva.

INTRODUÇÃO

Várias tentativas de imunização contra o carrapato *Boophilus microplus* são descritas na literatura (Aires Berne 1982, Binnington & Kemp 1980, Johnston et al. 1986, Labarthe 1981), em alguns casos, utilizando-se a saliva ou extratos de glândulas salivares (Binnington 1978, Labarthe 1981). Entretanto, não existe relato de estudos sobre a antigenicidade ou o efeito imunoprotetor de frações da saliva.

Estudos sobre os constituintes da saliva de algumas espécies de ixodídeos são encontrados na literatura. Al-

guns aspectos da caracterização física, química e biológica têm sido descritos, tais como o número de frações obtidas em eletroforese em gel de poliacrilamida (Tatchell & Binnington 1971), a existência de moléculas farmacologicamente ativas (Tatchell & Binnington 1971, Dickinson et al. 1976, Binnington & Kemp 1980), a atividade enzimática (Geczy et al. 1971, Schleger & Lincoln 1976, Binnington 1978, Willadsen & Riding 1979), o estudo da passagem de componentes provenientes do bovino para o intestino de carrapatos durante sua alimentação em bovinos (Tracey-Patte 1987) e a caracterização de antígenos de glândulas salivares de *Amblyomma americanum*, revelando uma proteína de peso molecular de 20 Kd (Brown et al. 1984).

O presente estudo traz uma análise da natureza química dos constituintes da saliva de *B. microplus*, associada a antigenicidade de tais macromoléculas observada através de eletroforese em gel de poliacrilamida ("PAGE") e de ensaio imunoenzimático após transferência eletroforética ("Western Blotting").

MATERIAL E MÉTODOS

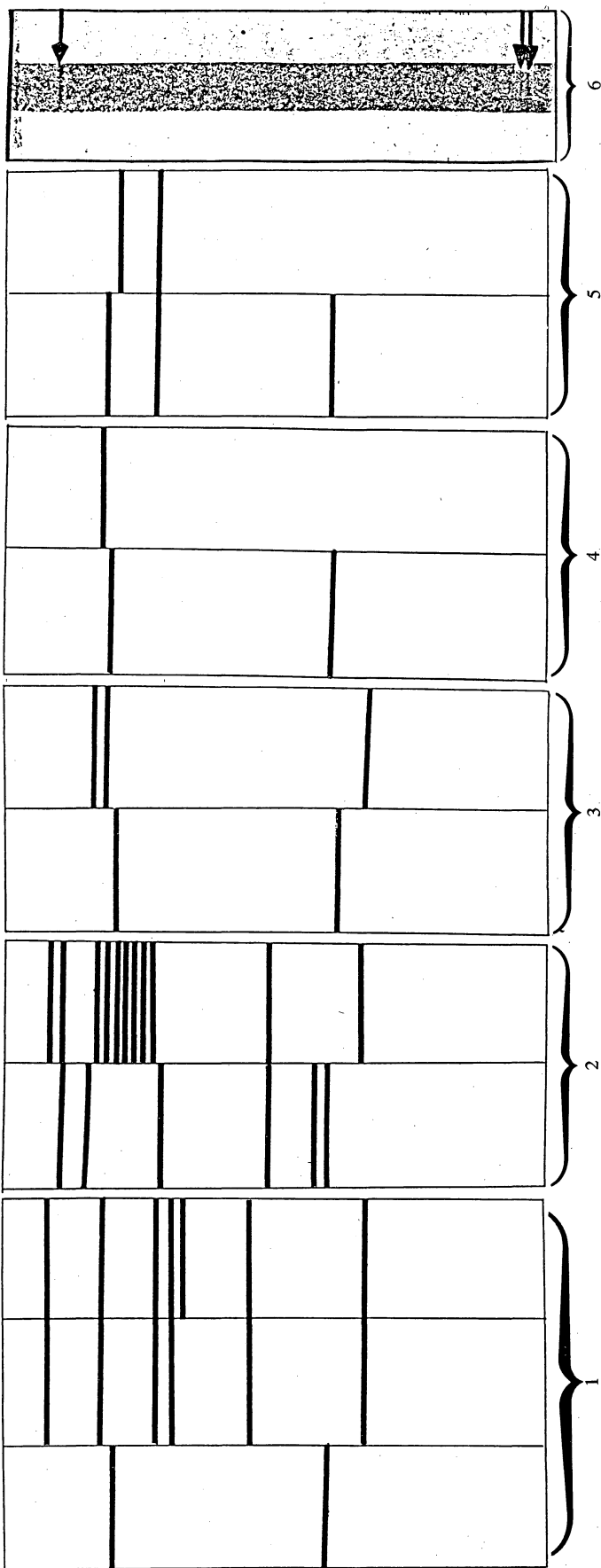
Saliva de *Boophilus microplus*. Extraída segundo a técnica sugerida por Tatchell (1967), através da utilização de uma solução a 5% de cloridrato de pilocarpina (Merck, Brasil) em salina 0,15M, como estimulante da salivação.

Soros. Foram utilizados para o estudo da antigenicidade, soros de bovinos infestados por *Boophilus microplus*

¹ Aceito para publicação em 5 de maio de 1989.

Trabalho realizado com apoio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

² Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon s/n, Campus do Canela, 40140 Salvador, Bahia.



(análise individual ou de um "pool") e soros de coelhos e camundongos hiperimunizados com a saliva deste ixodídeo.

Eletroforese em gel de poliacrilamida. Foram feitas eletroforeses "slab gel" descontínuas 10% e 5% em condições desnaturante e não desnaturante, segundo as técnicas de Andrews (1986).

Padrões de Peso Molecular. Utilizados como marcadores 1) MW-SDS-70L (SDS molecular weight markers in a discontinuous buffer-for molecular weight range 14200 to 66000) composto de Alpha-Lactalbumin (bovine milk), Trypsin Inibitor (soybean), Trypsinogen (bovine pancreas), Carbonic Anhydrase (bovine erythrocytes), Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (rabbit muscle), Albumin Egg (ovalbumin) and Albumin (bovine) Stock No. SDS-7 Sigma Chemical Company. 2) Low Molecular Weight Markers for MW range 92400 to 13800, gentilmente cedido pelo Ludwig Institute for Cancer Research São Paulo Branch, composto de Phosphorilase B, Albumin (bovine), Albumin (egg), Myoglobin and Cytochrome C.

Transferência eletroforética. Realizada para papel de nitrocelulose, segundo técnica descrita por Andrews (1986).

Caracterização química com cromógenos. Testou-se a presença de glicoproteínas pela técnica de P.A.S (Andrews 1986), de lipoproteínas pelo Sudan Black (Williams & Chase 1968); de protease e aminopeptidase (Pearse 1969); fosfodiesterase, esterase inespecífica (Williams & Chase 1968) e de fosfatase (Pearse 1969).

Fig. 1. Representação esquemática do resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante descontínuo a 10 e 5%. 1ª coluna: Padrões de P.M. de 66 Kd e 14 Kd no gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue R-250; 2ª coluna: amostra de saliva no gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue R-250; 3ª coluna: gel com amostra de saliva impregnada pela prata.

Fig. 2. Representação esquemática do resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante descontínuo a 10 e 5%. 1ª coluna: Padrões de P.M. de 92, 68, 45, 32, 18 e 14 Kd; 2ª coluna: Amostra de saliva no gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue R-250.

Fig. 3. Representação esquemática do resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante e descontínua 10 a 5%, com coloração diferencial. 1ª coluna: Padrões 66 e 14 Kd no gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue; 2ª coluna: Amostra de saliva no gel revelado pelo P.A.S.

Fig. 4. Representação esquemática do resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante e descontínuo a 10 e 5%, com coloração diferencial. 1ª coluna: Padrões de 66 e 14 Kd no gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue R-250; 2ª coluna: Amostra de saliva no gel corado pelo Sudan Black B.

Fig. 5. Representação esquemática do resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante e descontínuo a 10 e 5%. 1ª coluna: Padrões de P.M. de 66, 45 e 14 Kd gel corado pelo Coomassie Brilliant Blue; 2ª coluna: Amostra de saliva revelada enzimaticamente para esterase inespecífica.

Fig. 6. Fotografia do resultado do "western blot" em papel de nitrocelulose de amostra de saliva a partir da eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante e descontínuo a 10 e 5% quando revelado com soro de bovino infestado.

RESULTADOS

A eletroforese em gel de poliácridamida de não desnaturação evidenciou 6 bandas quando o gel foi corado pelo Coomassie Blue R-250 e 7 bandas quando foi corado pela prata (Fig.1).

O mesmo procedimento em condições de desnaturação apresentou 11 bandas quando utilizado o primeiro corante mencionado (Fig.2). Como pode ser observado, em condições de desnaturação as bandas se localizaram nas seguintes faixas de P.M.: uma maior que 92 Kd, uma com aproximadamente 92 Kd, sete entre 45 e 68 Kd, uma com aproximadamente 32 Kd e uma menor que 14 Kd. A corrida sem SDS, evidenciou uma banda acima de 66 Kd, uma banda abaixo de 14 Kd e as demais entre os dois limites.

A coloração com o P.A.S mostrou três bandas, duas delas com P.M. acima de 66 Kd e uma abaixo de 14 Kd (Fig.3).

A técnica do Sudan Black evidenciou uma banda com P.M. maior que 66 Kd (Fig.4).

As reações para a detecção de atividade enzimática se mostraram negativas para aminopeptidases (leucilamino-peptidase), protease, fosfatase alcalina, enquanto que a atividade de esterase inespecífica foi detectada nas faixas de 45 e 66 Kd (Fig.5).

O teste imunoenzimático após transferência para papel de nitrocelulose a partir da eletroforese em gel de poliácridamida desnaturante e descontínuo a 10 e 5%, quando revelado com soro de bovino infestado, resultou no aparecimento de três bandas, uma de P.M. maior que 66 Kd e duas menores que 14 Kd (Fig.6).

DISCUSSÃO

A análise dos resultados apresentados acima mostra que na saliva de *Boophilus microplus* existem pelo menos sete componentes protéicos, dentre os quais dois apresentam atividade de esterase, três são proteínas conjugadas a glicídios e pelo menos um deles é uma lipoproteína. As bandas reveladas pelo P.A.S. e pelo Sudan Black são também reveladas pelo Coomassie ou pela Prata. A antigenicidade foi verificada em três bandas, sendo que uma delas com P.M. maior que 66 Kd e as outras com P.M. menor que 14 Kd. Tais bandas foram também reveladas pelo P.A.S., o que sugere sua natureza glicoprotéica.

Os resultados aqui apresentados são concordantes com os de Tatchell & Binnington (1971) no que se refere ao número de bandas encontradas em "PAGE", entretanto, são discordantes no que tange à natureza de tais moléculas, uma vez que para este autor quatro seriam protéicas e apenas duas glicídicas. Quanto à atividade enzimática, apesar de existirem relatos de atividade esterásica e de

aminopeptidase, através da abordagem utilizada, apenas a ação de esterase foi verificada. Entretanto, tendo em vista a possibilidade da perda de atividade pelo tratamento dado às amostras testadas, outros ensaios estão sendo realizados com eletroforese cruzada em agarose (dados não publicados).

A identificação das frações antigênicas, até o momento, ainda não tinha sido relatada de modo sistemático; tal identificação tem permitido a continuidade dos experimentos, os quais buscam agora elucidar a imunogenicidade destas frações.

REFERÊNCIAS

- Aires Berne M.E. 1982. Resposta imunológica humoral de bovinos ao extrato de larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini 1887). Tese, Univ. Fed. R.G.S., Porto Alegre.
- Andrews A.J. 1986. In Electrophoresis - Theory, Techniques and Biochemical and Clinical Applications. 2nd ed. Monographs on Physical Biochemistry, Oxford Science Publications.
- Binnington K.C. 1978. Sequential changes in salivary gland structure during attachment and feeding of the cattle tick, *Boophilus microplus*. Int. J. Parasitol. 8:97-115.
- Binnington K.C. & Kemp D.H. 1980. Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. Adv. Parasitol. 18:315-333.
- Brown S., Shapiro S.Z. & Askenase R.M. 1984. Characterization of tick antigens inducing host immune resistance. J. Immunol. 133: 3319-3325.
- Dickinson R.G., O'Hagan J.E., Schotz M. & Binnington K.C. 1976. Prostaglandin in the saliva of the cattle tick, *Boophilus microplus*. AJEBAK 54 (5):475-486.
- Geczy A.F., Naughton M.A., Clegg J.B. & Hewetson R.N. 1971. Esterases and a carbohydrate - splitting enzyme in the saliva of the cattle tick, *Boophilus microplus*. J. Parasitol. 57(2): 437-438.
- Johnston L.A.Y., Kemp D.H. & Pearson, R.D. 1986. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: Effects of induced immunity on tick populations. Int. J. Parasitol. 16(1):21-34.
- Labarthe N.V. 1981. A resposta imunológica de bovinos contra a saliva de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Dissertação (M.S.), Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre.
- Pearse A.G.E. 1969. Histochemistry - theoretical and applied, vol. 1. 3rd ed. E.J. & A. Churchill, London.
- Schleger A. V., Lincoln D. T., McKenna R. V. & Kemp D. M. 1976. *Boophilus microplus*: Cellular responses to larval attachment and their relationship to host resistance. Aust. J. Biol. Sci. 29: 499-512.
- Tatchell R.J. 1967. A modified method for obtaining oral secretion. J. Parasitol. 53(5) 1106-1107.
- Tatchell R.J. & Binnington K.C. 1971. An active constituent of the saliva of the cattle tick, *Boophilus microplus*. Proc. 3rd. Int. Congr. Acarology, p. 745-748.
- Tracey-Patte P.D., Kemp D.H. & Johnston L.A.Y. 1987. *Boophilus microplus*: Passage of bovine Ig and albumins across the gut of cattle ticks feeding on normal or vaccinated cattle. Res. Vet. Sci. 43:287-290.
- Willadsen P. & Riding, 1979. A characterization of a proteolytic enzyme inhibition with allergenic activity. Bioch. J. 177:41-47.
- Willadsen P. 1980. Immunity to ticks. Adv. Parasitol. 18:293-309.
- Williams, A.C. & Chase, M.W. 1968. Methods in Immunology and Immunochemistry. Vol.III. Academic Press, New York.

INTOXICAÇÃO POR *Amaranthus* spp. (Amaranthaceae) EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL¹

JOÃO LUIZ M. FERREIRA², FRANKLIN RIET-CORREA^{2,3}, ANA LUCIA SCHILD² e MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ^{2,3}

ABSTRACT.- Ferreira J.L.M., Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.C. 1991. [Poisoning by *Amaranthus* spp. (Amaranthaceae) in cattle in southern Brazil.] Intoxicação por *Amaranthus* spp. (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):49-54. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, Campus Universitário, Pelotas, RS 96100, Brazil.

Two outbreaks of poisoning by *Amaranthus* spp. were diagnosed in cattle in southern Brazil in the autumn of 1986. In an outbreak in the county of Dom Pedrito, *A. hybridus* produced 29 deaths in a herd of 526 cattle of different age and sex. The other, produced by *A. blitum*, occurred in the county of Pinheiro Machado where 30 of 113 steers died. In both, the animals were introduced in areas severely invaded by *Amaranthus* at seeding stage. The clinical signs were depression, anorexia, decreased ruminal motility, diarrhoea and incoordination with hypocalcemia, hiperphosphatemia, hiperkalemia and increased serum levels of urea and creatinine. The course of the disease until death was from 3 to 10 days. Macroscopic lesions were characterized by hemorrhages in subcutaneous tissue and serous membranes, ulceration of the oesophagus, congestion, hemorrhages, and in some cases ulceration of abomasum, intestine, larynx and trachea. The kidneys were edematous, with increased consistency and sometimes yellow in color. In all cases, the main histological lesion was a severe toxic nephrosis. The lesion was reproduced in two steers fed, respectively, 339.88 and 492.25 g per kg body weight of *A. hybridus* and *A. blitum*, and afterwards euthanized.

INDEX TERMS: Toxic plants, plant poisoning, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus blitum*, Amaranthaceae, cattle, pathology.

SINOPSE.- Dois surtos de intoxicação por *Amaranthus* spp. foram diagnosticados no Rio Grande do Sul no outono de 1986. Em um surto no município de Dom Pedrito, causado por *A. hybridus*, morreram 29 animais de um total de 526 bovinos de diversas categorias; no outro surto no município de Pinheiro Machado, causado por *A. blitum*, morreram 30 novilhos de um total de 113. Nos dois surtos as áreas onde foram colocados os animais estavam severamente invadidas por *Amaranthus* em período de sementação. Os sinais clínicos caracterizaram-se por depressão, anorexia, diminuição dos movimentos ruminais, diarreia e inco-ordenação com hipocalcemia, hiperfosfatemia, hiperpotassemia e elevação dos níveis séricos de uréia e creatinina. A evolução da doença até a morte era de 3 a 10 dias. As lesões macroscópicas caracterizaram-se por hemorragias petequiais subcutâneas e das serosas, ulcerações do esôfago e hemorragias, congestão e, em alguns casos, ulcerações do abomaso, intestino, laringe e traquéia. Os rins apresentavam-se com consistência aumentada, edemaciados e cor amarela. A principal lesão histológica foi uma severa

nefrose tubular tóxica observada em todos os animais. As lesões de nefrose em grau leve foram reproduzidas experimentalmente em 2 bovinos, alimentados com as plantas coletadas nos locais onde ocorreram os surtos, nas doses de 339,88 e 492,25 g por kg de peso vivo de *A. hybridus* e *A. blitum*, respectivamente, e sacrificados posteriormente.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação por plantas, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus blitum*, Amaranthaceae, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Em diversas áreas do mundo plantas do gênero *Amaranthus* têm sido descritas como tóxicas para suínos (Buck et al. 1965, Osweiler et al. 1969, Sanko 1975), bovinos (Dodd & Coup 1957, Stuart et al. 1975, Rivera et al. 1984, Duffy et al. 1985) e ovinos (Strom 1967, González 1983).

O quadro clínico patológico mais característico é de uma nefrose tubular tóxica (Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985). Em algumas ocasiões a doença foi caracterizada como uma nefrose por oxalatos contidos na planta (González 1983), enquanto que, em outros surtos, a nefrose foi atribuída ao alto teor de nitratos e nitritos acumulados na planta (Cursack & Romano 1967). A possi-

¹Aceito para publicação em 14 de agosto de 1989.

Trabalho financiado pela Embrapa/CPATB. Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, realizada na Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

²Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Pelotas, RS 96100.

³Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

bilidade de que oxalatos, nitritos ou a combinação deles possa ser o agente causador de edema perirrenal, frequentemente observado na intoxicação por *Amaranthus* spp., é ainda discutível (Marshall et al. 1967).

Amaranthus spp. também podem ocasionar um quadro agudo de intoxicação por nitritos, onde o principal efeito é a formação de metaemoglobina, sem a ocorrência de nefrose (Brakenridge 1956, Dodd & Coup 1957, Egyed & Miller 1963).

Até o momento, as plantas tóxicas brasileiras conhecidas como capazes de causar nefrose são *Dimorphandra mollis* (Tokarnia & Döbereiner 1967) e *Setaria anceps* (Schenk et al. 1982), encontradas nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, *Dimorphandra gardneriana* (Döbereiner et al. 1985) encontrada nas chapadas do Piauí, Maranhão e norte de Goiás, e *Thiloa glaucocarpa* (Tokarnia et al. 1981) encontrada na caatinga do Piauí e Ceará.

No Rio Grande do Sul foi observado um surto de nefrose em bovinos, no município de Rio Grande, sem que tenha sido determinada a causa do mesmo (Riet-Correa et al. 1985).

O objetivo deste trabalho é descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de surtos de intoxicação por *Amaranthus blitum*⁴ (caruru) e *A. hybridus*⁴ (caruru), assim como a reprodução experimental das lesões renais causadas por essas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os aspectos clínicos e epidemiológicos foram observados nos locais dos surtos.

Os estudos patológicas referentes a parte de campo foram realizados a partir da necropsia de 2 animais com sintomatologia característica da doença, sacrificados, por exangüinação e de 3 animais mortos espontaneamente.

Para o estudo histológico os diversos órgãos foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em secções de 6

⁴ Descrição das plantas: *Amaranthus blitum* e *Amaranthus hybridus*. Família: Amaranthaceae. Nome vulgar: Caruru. Referência: Vasconcellos, J.M. 1985. Amaranthaceae no Rio Grande do Sul. Roesslária. 7:107-137.

A. blitum. Material examinado: Rio Grande do Sul, Pinheiro Machado, Méndez et al. 16 (H.I.P.R.N. - RS). Erva anual, monóica, com caule ereto ou decumbente, até 1 m de alt., ramificado. Folhas com pecíolo de até 8 cm; lâmina com 0,7-8 cm de compr. e 0,5-5 cm de larg., obovada ou largo-obovada com ápice emarginado ou bilobado. Inflorescências com 4-10 flores dispostas em glomérulos axilares e espigas terminais, simples ou pouco ramificadas. Brácteas e bractéolas ovado ou lanceoladas, com ca. de 1/2 a 2/3 do compr. das tépalas. Flores unissexuais com 3 tépalas; as masculinas com 3 estames; femininas com ovário ovado, comprimido, estilete curto e estigma trífido. Utrículo indeiscente, globoso, liso ou pouco rugoso com menos de 2 vezes o comprimento das tépalas.

A. hybridus. Material examinado: Rio Grande do Sul, Dom Pedrito, Méndez et al. 17 (H.I.P.R.N. - RS). Erva anual, monóica, com caule ereto ou subereto, até 2,5 m de alt., ramificado, verde, avermelhado ou purpúreo. Folhas delgado-pecioladas; lâminas com 2-15 cm de compr. e 1-8 cm de larg., ovadas a largo-ovadas ou elípticas; ápice agudo ou arredondado. Flores em cimas, dispostas em glomérulos ou espigas axilares e terminais, paniculadas. Brácteas e bractéolas com tamanho e forma variável, com 3-4 mm de compr., mucronadas, iguais ou até 2 vezes maiores do que as tépalas femininas. Flores normalmente com 5 tépalas; as masculinas subiguais, ovadas ou oblongo-lanceoladas; 5 estames. As femininas lanceoladas, elípticas ou espatuladas; ovário subgloboso, estigma trífido. Utrículos regularmente deiscentes, subgloboso, rugoso, igual ou maior do que as tépalas.

micra e corados pela técnica de hematoxilina-eosina. Para o tecido renal foram também realizados cortes por congelamento e corados pela mesma técnica.

Para determinação dos níveis séricos de cálcio, fósforo, potássio, uréia e creatinina, foram colhidas amostras de sangue por punção da jugular dos 2 animais sacrificados e de outros 2 com sinais clínicos da doença. As determinações foram realizadas por métodos colorimétricos mediante a utilização de kits comerciais (Lab-test).

Os testes de reprodução experimental foram realizados com a planta em estagio de frutificação coletada nos estabelecimentos onde ocorreu a enfermidade. *Amaranthus hybridus*, coletado em Dom Pedrito, foi conservado a -15 °C e, posteriormente, administrado a um terneiro holandês com 85 kg de peso vivo, via fístula ruminal, durante 11 dias, completando uma dose de 339,88 g/kg. *Amaranthus blitum*, coletado em Pinheiro Machado, foi conservado a -15 °C até sua utilização e administrado, a um terneiro holandês pesando 107 kg, via oral durante 10 dias, completando uma dose de 492,25 g/kg de peso vivo.

Para o controle dos níveis séricos de Ca, P, K, uréia e creatinina, foram colhidas duas amostras de sangue de cada bovino, sendo a primeira realizada após 10 dias de iniciada a administração da planta e a outra uma semana após a finalização do experimento, quando então foram sacrificados os animais.

A metodologia empregada para o estudo bioquímico histológico foi a mesma que para os casos espontâneos.

RESULTADOS

Epidemiologia

A doença foi diagnosticada em 2 estabelecimentos durante o outono de 1986. No primeiro surto, no município



Fig. 1. *Amaranthus hybridus*. Município de Dom Pedrito, RS.



Fig. 2. *Amaranthus blitum*. Município de Pinheiro Machado, RS.

de Dom Pedrito, os animais foram colocados no dia 25/02/86 em um potreiro de 80 hectares, em 30 dos quais havia sido plantada soja, que, em consequência da estiagem, não tinha nascido, havendo uma severa invasão dessa área por *Amaranthus hybridus* (Fig. 1). Entre os dias 24/03/86 e 08/04/86, de um total de 526 bovinos da raça Hereford, morreram 29 (5,5%), sendo 10 terneiros de 6 meses, 10 de 18 meses e 9 vacas lactantes. No dia 29/03/86 os animais tinham sido retirados da área.

Outro surto ocorreu no município de Pinheiro Machado, no qual 113 novilhos cruza de 3 a 4 anos foram colocados em 01/04/86 em um potreiro de 115 hectares, onde havia sido plantado sorgo, que, em consequência da estiagem, tinha nascido em pouca quantidade e não fora colhido. Aproximadamente 30% da área estava invadida por *Amaranthus blitum* (Fig. 2), o qual mostrava evidências de ter sido consumido pelos animais. Os animais começaram a adoecer no dia 26/04/86 e foram retirados do

potreiro uma semana depois; apesar disso continuaram aparecendo casos clínicos. Até 12/05/86 morreu um total de 30 (26,5%) bovinos.

Nos dois surtos a intoxicação ocorreu quando a planta estava em período de frutificação.

Manifestações clínicas

Os sintomas clínicos caracterizaram-se por depressão, anorexia, diminuição ou ausência de movimentos ruminais, corrimento sanguinolento pelas narinas e diarreia, que, em alguns casos era hemorrágica. Os animais permaneciam muito tempo deitados e alguns mostravam incoordenação motora quando eram movimentados. Nos casos em que o curso clínico foi mais prolongado os animais mostravam emagrecimento progressivo, lentidão nos movimentos e procura por água com frequência.

A evolução da doença era subaguda, ocorrendo a morte 3 a 10 dias após a observação dos primeiros sinais.

A análise bioquímica do soro dos animais afetados (Quadro 1), evidenciou hipocalcemia, hiperfosfatemia, elevação dos níveis de uréia e creatinina em todos os casos e hiperpotassemia em um dos três bovinos testados.

Patologia

Macroscopicamente observaram-se, em todos os casos, hemorragias petequiais no tecido subcutâneo e serosas, presença de líquido seroso nas cavidades abdominal e torácica, lesões ulcerativas na mucosa do esôfago (Fig 3), em toda sua extensão; as mucosas do abomaso, intestino, laringe e traquéia apresentavam-se congestionadas. No abomaso e laringe de um animal foram observadas lesões erosivas do epitélio. Em todos os casos o conteúdo do abomaso era líquido ou pastoso com presença de grande quantidade de semente de *Amaranthus* spp. e os rins apresentavam-se com consistência aumentada, edemaciados e de cor amarela.

As alterações histopatológicas mais importantes e mais características foram observadas nos rins (Fig. 4) e consistiam de uma nefrose tubular tóxica caracterizada por vacuolização do citoplasma das células epiteliais, com picnose e cariorrexis dos núcleos e posterior descamação. Em alguns túbulos as células apresentavam numerosas gotas hialinas no seu citoplasma, enquanto que em raras ocasiões observava-se necrose de coagulação dos túbulos caracterizada por uma massa eosinofílica limitada pela

Quadro 1. Níveis séricos de Ca, P, K, uréia e creatinina em bovinos intoxicados espontaneamente por *Amaranthus* spp., em dois municípios do Rio Grande do Sul

Bovino	Procedência	Ca mg/dl	P mg/dl	K meq/l	Uréia mg/dl	Creatinina mg/dl
1	Dom Pedrito	7,5	11,2	ND ^a	149	ND
2	Pinheiro Machado	5,0	13,5	6,9	314	22
3	Pinheiro Machado	5,63	14,6	4,0	162	26,2
4	Pinheiro Machado	7,41	8,2	3,0	142	16,4
Normais ^b		8,0-11,5	2,3-5,6	3,9-5,8	10-45	<1,5

^a ND = Não determinado.

^b Duffy et al. 1985.



Fig. 3. Esofago de um bovino intoxicado por *Amaranthus hybridus*, mostrando ulcerações longitudinais.

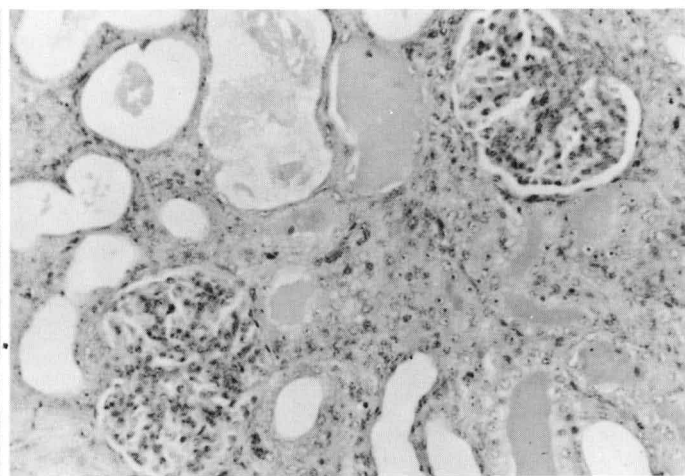


Fig. 4. Corte histológico de rim de um bovino intoxicado espontaneamente por *A. blitum*, apresentando degeneração de túbulos, com cilindros hialinos, dilatação tubular, epitélio plano em alguns túbulos e espessamento da cápsula de Bowman. HE, obj. 25.

membrana basal. Alguns túbulos apresentavam epitélio plano caracterizando um processo regenerativo. Numerosos cilindros hialinos e granulados eram observados na luz dos túbulos e, em um animal foram observados cristais poliédricos refringentes ligeiramente amarelados, similares a cristais de oxalato, em número discreto. O interstício apresentava fibroplasia e em alguns glomerúlos a cápsula de Bowman estava espessada. As alterações histológicas observadas no esôfago, consistiam em acantose e paraqueratose, com posterior vacuolização e infiltração de neutrófilos nas camadas superiores do epitélio; observaram-se ainda ulceração e, em algumas ocasiões, deposição de sais de cálcio nos tecidos abaixo dessas áreas. Na submucosa observava-se infiltração de células linfocitárias e neutrófilos. No abomaso observaram-se em algumas áreas, necrose do epitélio superficial com congestão e hemorragias da lâmina própria. Os outros órgãos das cavidades abdominal e torácica e o sistema nervoso central, não apresentaram lesões histológicas de significação.

Reprodução experimental

Os animais, tanto o que ingeriu 492,25 g/kg de *A. blitum* como o que recebeu, via fístula ruminal, 339,88 g/kg de *A. hybridus*, não mostraram nenhum sintoma de intoxicação sendo sacrificados uma semana após finalizada a administração da planta.

Os resultados dos exames laboratoriais (Quadro 2),

não apresentaram um quadro indicativo de insuficiência renal, observando-se somente um discreto aumento dos níveis de uréia na segunda amostra de soro de terneiro nº 2.

Nas necropsias não foram observadas lesões significativas, com exceção dos rins do terneiro que ingeriu *A. blitum*, os quais apresentavam-se discretamente edemaciados.

No estudo histológico, os dois animais apresentaram lesões leves de nefrose caracterizadas por degeneração em gotas hialinas, descamação das células epiteliais de alguns túbulos uriníferos e presença de cilindros hialinos e granulados. Também observam-se dilatação tubular, discreta fibroplasia e áreas focais de nefrite intersticial. Essas lesões, apesar de apresentarem-se mais marcadas no terneiro que consumiu *A. blitum*, eram de intensidade moderada.

DISCUSSÃO

Diversas espécies de *Amaranthus* spp. têm sido descritas como nefrotóxicas para ruminantes (Jeppesen 1966, Stuart et al. 1975, González 1983, Duffy et al. 1985). Neste trabalho a ocorrência de uma nefrose tóxica em bovinos pastejando em áreas severamente invadidas por *Amaranthus* spp., assim como a reprodução de lesões renais nos animais experimentais, confirmam o diagnóstico de intoxicação por *A. blitum* e *A. hybridus*.

Quadro 2. Níveis sanguíneos de Ca, P, K, uréia e creatinina em bovinos intoxicados experimentalmente por *Amaranthus* spp.

Bovino	Planta utilizada	Data ^a	Ca mg/dl	P mg/dl	K meq/l	Uréia mg/dl	Creatinina mg/dl
1	<i>A. hybridus</i>	22/05	8,92	7,50	4,4	19,0	0,69
		28/05	12,0	2,25	4,9	24,0	0,88
2	<i>A. blitum</i>	22/05	8,70	3,0	5,0	46,0	1,28
		28/05	11,80	3,53	5,2	71,0	1,92

^a A administração da planta foi iniciada em 13/05.

Os sinais clínicos caracterizados por depressão, anorexia, diminuição ou ausência de movimentos ruminais, incoordenação, corrimento sanguinolento pelas narinas e diarreia, que em alguns casos era hemorrágica, são similares aos mencionados por Cursack & Romano (1967) e Duffy et al. (1985), sendo que estes últimos não observaram diarreia e sim coprostasia. Chama a atenção a presença de corrimento nasal hemorrágico o que não é mencionado por nenhum dos autores que descrevem a enfermidade. Esse sinal é observado em algumas intoxicações por plantas nefrotóxicas tais como *Thiloo glaucocarpa* (Tokarnia et al. 1981) e, principalmente aquelas que contêm oxalatos (Schenk et al. 1982).

Os resultados obtidos na análise do soro sanguíneo, caracterizados por hipocalcemia e elevação dos níveis séricos de creatinina, fósforo e uréia em todos os animais e hiperpotassemia em um animal, que evidenciam insuficiência renal, coincidem com aqueles observados por outros autores (Cursack & Romano 1967, Duffy et al. 1985).

Algumas das alterações macroscópicas observadas neste trabalho, incluindo as lesões renais, as hemorragias petequiais em diversos órgãos e tecido subcutâneo e a presença de líquido nas cavidades foram também descritas por Buck et al. (1965) e Osweiler et al. (1969) em suínos, e por Cursack & Romano (1967), Stuart et al. (1975) e Duffy et al. (1985) em bovinos. O edema perirrenal frequentemente observado por esses autores não foi constatado em nenhuma das necropsias realizadas neste trabalho. Por outro lado as descrições anteriores da intoxicação por *Amaranthus* spp. em diversas espécies não mencionam a ocorrência de lesões ulcerativas nos sistemas digestivo e respiratório, as quais foram uma alteração constantemente observada neste trabalho, no esôfago e, em algumas ocasiões, na laringe e no abomaso. Lesões similares são descritas em intoxicações por *Thiloo glaucocarpa* em bovinos (Tokarnia et al. 1981); Boughton & Hardy (1936) mencionam a presença de gastrite hemorrágica e formação de pseudomembranas no intestino grosso, além de nefrose causada por *Quercus* spp., que tem provocado surtos de intoxicação nos Estados Unidos e na Alemanha. Na intoxicação por *Amaranthus* spp. é possível que essas lesões ulcerativas dos sistemas digestivo e respiratório sejam secundárias à uremia. O fato de que os animais experimentais, nos quais foi reproduzida a nefrose, mas não a insuficiência renal, não terem apresentado essas lesões, corroborara com essa hipótese.

As alterações histológicas observadas nos rins caracterizadas por nefrose tubular tóxica com degeneração e necrose das células epiteliais, epitélio plano em alguns túbulos, dilatação tubular e fibroplasia intersticial, são similares às descritas por outros autores nas intoxicações por *Amaranthus* spp. (Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985). Outras alterações microscópicas como as lesões degenerativas de fibras cardíacas atribuídas a hiperpotassemia (Osweiler et al. 1969), bem como, destruição das células endoteliais das arteríolas de diversos órgãos

(Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985), não foram constatadas neste trabalho.

A ocorrência de intoxicação, 20 a 25 dias após os animais serem introduzidos na pastagem, em áreas severamente invadidas por *Amaranthus* spp., e o fato da planta ser palatável, indicam que para que a doença ocorra, devem ser ingeridas grandes quantidades de planta. Isso foi evidenciado também na reprodução experimental da enfermidade na qual doses totais de 339,88 g/kg de *A. hybridus* e 492,25 g/kg de *A. blitum* produziram leves lesões histopatológicas de nefrose, mas não insuficiência renal, indicando que para a reprodução do quadro clínico são necessárias doses maiores da planta. Em relação a este ponto no único trabalho experimental de reprodução da enfermidade, realizado em suínos, foram necessárias doses de aproximadamente 500 g/kg (Osweiler et al. 1969). Deve ser considerado também a possibilidade de que a planta usada nos experimentos tenha diminuído a sua toxicidade durante o transporte para o laboratório e posterior congelamento, já que Osweiler et al. (1969), comprovaram que *A. retroflexus* perde consideravelmente a sua toxicidade quando dessecado.

Outra observação a ser levada em consideração é que os dois surtos ocorreram no outono, quando a planta estava em estágio de frutificação. Esse mesmo fato foi observado nos surtos de intoxicação por *Amaranthus* spp. em bovinos descritos nos Estados Unidos (Jeppesen 1966) Argentina (Duffy et al. 1985) e Uruguai (R. Rivero 1988, comunicação pessoal; F. Riet-Correa 1987, dados não publicados), enquanto que Cursack & Romano (1967) não mencionam o estágio de crescimento em que estava a planta, mas observaram abundante conteúdo de sementes de *Amaranthus* no abomaso de animais mortos. Isto indica a possibilidade de que a toxicidade de *Amaranthus* spp. seja maior quando as plantas estão em estágio de frutificação. Com relação a esse ponto, Mugerwa & Stafford (1976) realizaram experimentos com plantas de 5 a 9 semanas, administradas diariamente durante 5 semanas, concluindo que *A. hybridus incurvatus* e *A. hybridus hybridus* não são tóxicos e podem ser utilizados para alimentação animal. Isso demonstra claramente que a toxicidade deste gênero é muito variável, sendo necessário determinar quais as espécies tóxicas e em que estágio elas apresentam toxicidade. Além da possibilidade de que a planta seja mais tóxica quando está frutificando, poderão existir outros fatores influenciando a toxicidade tais como, tipo de solo, adubação, clima e diferença entre variedades de *Amaranthus* spp.

Amaranthus spp. tem sido mencionada como uma planta que pode conter altas concentrações de oxalatos (Marshall et al. 1967) e, em um surto descrito no México (González 1983) em ovinos e caprinos foram observados numerosos cristais de oxalato nos rins dos animais necropsiados, o que permitiu concluir que a intoxicação foi devida ao alto conteúdo de oxalatos em espécies de *Amaranthus* existentes na área onde pastejavam os animais. Nos surtos descritos por Stuart et al. (1975), Duffy et al.

(1985) em bovinos e por Buck et al. (1965), Osweiler et al. (1969) e Sanko (1975) em suínos, não foram observados cristais de oxalatos nos rins. Neste trabalho, de 5 bovinos necropsiados somente foram observados cristais, interpretados como sendo de oxalatos, em quantidade discreta, em um animal, o que evidenciava que a nefrose não foi causada pelos oxalatos contidos na planta. Mugerwa & Stafford (1967) administraram experimentalmente a ovinos 2 espécies de *Amaranthus* ricas em oxalatos, constatando que grande parte do oxalato ingerido, é destruído no trato gastrointestinal, sem produzir sintomas clínicos nem lesões histológicas nos rins que pudessem determinar a morte dos animais.

Surtos de intoxicação por nitritos têm sido observados em ovinos e bovinos colocados em pastagens invadidas por *Amaranthus* spp. (Brakenridge 1956, Dodd & Coup 1957, Egyed & Miller 1967, Duckworth 1975, Rivera et al. 1984). Nesses casos a doença teve um curso agudo com tremores musculares, dificuldade de movimentar-se e metahemoglobinemia, ocorrendo a morte em um período de 2 a 12 horas. Cursack & Romano (1967) mencionam que a nefrose causada por *Amaranthus hybridus* é devida a uma intoxicação sub-aguda por nitritos. Porém essa hipótese parece não ser correta já que o quadro clínico e patológico observado na nefrose produzida por *Amaranthus* é diferente da intoxicação por nitritos, evidenciando que a planta deve ter algum outro princípio ativo de ação nefrotóxica.

Com relação à profilaxia da intoxicação por *Amaranthus* spp., considerando o fato descrito por Osweiler et al. (1969), de que a planta após dessecada perde consideravelmente sua toxicidade, pode ser recomendado que áreas severamente invadidas por *Amaranthus* sejam roçadas antes de soltar os animais, o que, baseado nas observações epidemiológicas descritas neste trabalho, evitará a ocorrência da enfermidade.

Apesar de *Amaranthus* spp. ser uma invasora frequentemente observada no Rio Grande do Sul e em outros Estados do Brasil, aparentemente é uma planta tóxica de pouca importância já que nem sempre ocorrem as condições epidemiológicas que determinam a ocorrência da intoxicação.

REFERÊNCIAS

- Boughton I.B. & Hardy W.T. 1936. Oak poisoning in range cattle sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 89:157-162.
- Brakenridge D.T. 1956. Nitrate poisoning caused by Turnips and Redroot. N.Z. Vet. J. 4:165-166.
- Buck W.M., Preston K.S. & Abel M. 1965. Common weeds as a cause of perirenal edema in swine. Iowa State Univ. Vet. 27:105-108.
- Cursack H.A. & Romano L.A. 1967. Posible intoxicación sub-aguda con nitratos y nitritos. Gaceta Veterinaria 29:69-74.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Gava A. & Consorte L.B. 1985. Intoxicação experimental em bovinos pela fava de *Dimorphandra gardneriana* (Leg. Caesalpinoideae). Pesq. Vet. Bras. 5:47-51.
- Dodd D.C. & Coup M.R. 1957. Poisoning of cattle by certain nitrate containing plants. N.Z. Vet. J. 5:51-54.
- Duckworth R.H. 1975. Poisoning of cattle by *Amaranthus*. N.Z. Vet. J. 23:154-155.
- Duffy S.J., León E.A., Gavier M.D., Vieira F.J.B., Corbellini C. N. & Morra M. 1985. Intoxicación por *Amaranthus quitensis* (Yuyo colorado) en bovinos. Veterinaria Argentina 2: 942-949.
- Egyed M. & Miller A. 1963. Nitrate poisoning in cattle due to feeding on *Amaranthus retroflexus*. Refuah Veterinarith 20:167-169.
- González C. 1983. Nefrosis tubular tóxica en ovinos y caprinos asociada a la ingestión de plantas del género *Amaranthus* spp. Veterinaria Mex. 14:247-251.
- Jeppesen A.E. 1966. Bovine perirenal disease associated with pigweed. J. Am. Vet. Med. Assoc. 149:22.
- Marshall V.L., Buck W.B. & Bell G.L. 1967. Pigweed (*Amaranthus retroflexus*) an oxalate-containing plant. Am. J. Vet. Res. 28:888-889.
- Mugerwa J.S. & Stafford W. 1976. Effect of feeding oxalate-rich *Amaranthus* on ovine serum. Calcium and oxalate levels. E. Afr. Agric. For. J. 42:71-75.
- Osweiler G.D., Buck W.B. & Bicknell E.J. 1969. Production of perirenal edema in swine with *Amaranthus retroflexus*. Am. J. Vet. Res. 30:557-566.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Brod C.S. & Ferreira J. L. 1985. Laboratório Regional de Diagnóstico. Doenças diagnosticadas no ano 1984. Editora e Gráfica Universitária, UFPel, Pelotas, p. 29-31.
- Rivera M., Aguilo R., Lorenzo M., Ferro M. & Villalon J. 1984. Reporte de intoxicación en bovinos jóvenes por el *Amaranthus viridis* (bledo blanco). Revta Cub. Cienc. Vet. 15:335-338.
- Sanko R.F. 1975. Perirenal edema in swine caused by ingestion of *Amaranthus retroflexus* (pigweed). Vet. Med. Small Anim. Clin. 70:42-43.
- Schenk M.A.M., Faria Filho T.T., Pimentel D.M. & Thiago L.R. L.S. 1982. Intoxicação por oxalatos em vacas lactantes em pastagem de Setaria. Pesq. Agropec. Bras. 17:1403-1407.
- Strom C.G. 1967. Lush plants can kill. Queensl. Agric. J. 93:498-499.
- Stuart B.P., Nicholson S.S. & Smith J.B. 1975. Perirenal edema and toxic nephrosis in cattle associated with ingestion of pigweed. J. Am. Vet. Assoc. 167:949-950.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1967. Intoxicação experimental pela fava da "faveira" (*Dimorphandra mollis* Benth.) em bovinos. Pesq. Agropec. Bras. 2:367-373.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C., Couceiro J.E.M., Silva A.C.C. & Araújo F.V. 1981. Intoxicação de bovinos por *Thiloo glauco-carpa* (Combretaceae) no nordeste do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 1:111-132.

TRATAMENTO INTERMITENTE DA TUBERCULOSE BOVINA COM ISONIAZIDA¹

JEROME LANGENEGGER², GILMAR OLIVEIRA LEITE³ e JARBAS OLIVEIRA JR.⁴

ABSTRACT.- Langenegger J., Leite G.O. & Oliveira Jr, J. 1991. [Intermittent treatment of bovine tuberculosis with isoniazid.] Tratamento intermitente da tuberculose bovina com isoniazida. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):55-59. Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

An intermittent treatment regimen for bovine tuberculosis with isoniazid was used. Fifty five positive and 13 suspect reactors were treated orally with cristalized isoniazid (25 mg/kg bw) mixed in a concentrated ration given 3 times a week, during 6 months. The cure of the tuberculosis was evaluated after the treatment by allergic desensitization with comparative tuberculinizations performed in 3 months intervals, during a year. The monitoring showed progressive reduction of the allergic sensitivity until definitive disappearance. At 90 days pos-treatment there were 31 negative, 19 suspect and 18 positive reactors; at 180 days, 47 were negative, 10 suspect and 11 positive; at 270 days, 51 were negative, 12 suspect and 5 weakly positive, and at 360 days, 63 were negative, 5 suspect and no one anymore positive. As it was demonstrated experimentally, the pos-treatment suspect reactors may be considered infection-free and so the cure rate was 100 percent. This experiment showed that the intermittent 3 week dosages were as good as the continuous regimen with the advantage of about 40 percent cost reduction.

INDEX TERMS: Tuberculosis, bovine, intermittent treatment, isoniazid.

SINOPSE.- Foi adotado um regime de tratamento intermitente da tuberculose com isoniazida em 55 bovinos reagentes positivos e 13 suspeitos. A isoniazida em forma de sal cristalizado foi fornecida aos animais misturada em ração concentrada, em doses de 25 mg/kg p.v., nas 2.^{as}, 4.^{as} e 6.^{as} feiras, durante 6 meses. A cura da tuberculose foi avaliada pela dessensibilização alérgica, após o término do tratamento através de tuberculinizações comparativas realizadas de 3 em 3 meses, durante um ano. Este monitoramento revelou progressiva redução da sensibilidade alérgica até o desaparecimento definitivo. Aos 90 dias pós-tratamento já havia 31 (45,5%) bovinos negativos, 19 (27,9%) suspeitos e 18 (26,4%) positivos; aos 180 dias, 47 (69,1%) negativos, 10 (14,7%) suspeitos e 11 (15,1%) positivos; aos 270 dias, 51 (75,0%) negativos, 12 (17,6%) suspeitos e 5 (7,3%) positivos e aos 360 dias, 63 (92,6%) negativos, 5 (7,3%) suspeitos e nenhum mais positivo. Como os reagentes suspeitos, no final do tratamento podem ser considerados livres da infecção, o percentual de curas foi de 100%, mostrando que o tratamento intermitente com 3 dosagens de isoniazida semanais foi tão eficiente quanto o regime contínuo. O regime intermitente reduziu de 120 para 80 o número de doses administradas e reduziu o custo em 40%.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Tuberculose, bovinos, tratamento intermitente, isoniazida.

INTRODUÇÃO

A hidrazida do ácido isonicotínico (isoniazida) reúne um conjunto de propriedades que a torna um quimioterápico eficaz e prático para o combate da tuberculose bovina em países que não podem adotar o abate e a indenização dos reagentes. Em doses altas a isoniazida exerce ação bactericida sobre o *Mycobacterium bovis* e em doses menores atua como bacteriostático, levando a micobactéria a um estado de latência com progressiva perda de patogenicidade e morte quando a administração é prolongada (Kleeberg 1967). Em culturas de *M. bovis* (amostra BCG) foi demonstrado que a isoniazida inibe a síntese do DNA, RNA e proteína. A inibição do DNA provoca perda da viabilidade da cultura (McClatchy 1970).

A isoniazida pura, em forma de sal cristalizado, quando fornecida ao bovino, por via oral, misturado na ração ou dissolvido na água ou no leite, em doses adequadas, alcança níveis terapêuticos no soro-sangüíneo, nos tecidos e se difunde rapidamente nas lesões causadas pela tuberculose, mantendo-os durante 18 a 24 horas (Kleeberg & Weyland 1961, Cerruti et al. 1961, Straka 1968).

A posologia utilizada no tratamento da tuberculose bovina variou muito nos últimos três decênios. A dosagem inicialmente utilizada foi de apenas 4 mg/kg p.v. e passou a ser até de 30 mg; as vias subcutânea e intramuscular foram substituídas pela via oral; a duração da medicação contínua variou de 30 dias até 30 meses e as per-

¹ Aceito para publicação em 7 de maio de 1990.

² Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal (NPSA), Embrapa, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

³ Laboratório Nacional de Referência Animal (Lanara), Av. Rômulo Joviano s/n, Pedro Leopoldo, Minas Gerais 33600.

⁴ Clínica Veterinária (Cliveti), Rua Oscar Guedes n° 4, Itanhandú, Minas Gerais 37464.

Quadro 1. Retrospecto resumido sobre a posologia usada no tratamento da tuberculose bovina com isoniazida

Referência	Ano	Número de bovinos tratados	Via	Dosagem da isoniazida	Regime de medicação	Resultados
Moretti & Pedini Pedini Mucci Sandro	1952 1953 1953 1954	Alguns animais clinicamente doentes	im	4 mg/kg	Durante períodos de 30 a 60 dias consecutivos	Os bovinos tratados apresentaram apenas alguma melhora clínica
Avellini & Figorelli	1954	4 bezerras (inf. exp.)	sc	10 mg/kg	Durante 60 dias consecutivos	49 dias após os animais não mais reagiram ao teste da tuberculina. Nas lesões ainda havia <i>M. bovis</i> .
Rosatti & Tini	1955	7 bovinos		4 mg/kg e 8 mg/kg	Durante 2 períodos de 60 dias consecutivos; no 2º, dose dobrada	Em um animal desapareceu a reação alérgica e não havia mais lesões
Avellini	1957	4 bezerras (inf. exp.)	sc	6 mg/kg associado com estreptomicina	Durante 48 dias consecutivos	Após 45 dias encontraram lesões discretas; em 2 casos ainda isolaram <i>M. bovis</i>
Nai & Crespi	1958	77 50 (em várias propriedades)	im ou oral	4 a 5 mg/kg 10 mg/kg	Séries de 15 dias consecutivos alternados por 15 dias de descanso, durante períodos de até 18 meses	54,5% de curas; 19,4% após aparente cura voltaram a reagir e 25,9% sempre continuaram reagindo à tuberculina
Nai & Perini	1960	413 (em várias propriedades)	sc ou oral	5 mg/kg 10 mg/kg	Durante períodos de 2 a 12 meses, em parte intercalado com pausa de 15 dias	Após período de 3 anos 73,3% de curas
D'Ascanti & Micozzi	1961	29	sc ou oral	4 a 5 mg/kg	Durante períodos de 50 a 70 dias consecutivos; em 8 animais foi repetido o mesmo regime	41,37% de curas; 41,37% após aparente cura voltaram a reagir; 17,26% sempre continuaram reagindo à tuberculina
Cerutti et al.	1961	165	oral	5 a 10 mg/kg	Durante períodos de 1 a 4 meses em dias consecutivos	70% dos animais deixaram de reagir durante ou após o tratamento
Cerutti et al.	1962	145	oral	10 mg/kg	Durante 250 dias consecutivos	80,7% de curas; 17,9% reação suspeita; 1,4% reagentes positivos
Penha & Amaral	1963	16 (recém infectados)	sc	10 mg/kg	Diariamente até tornarem-se negativos (\pm 5 meses)	93,7% de curas
Dormer et al.	1961	85	oral	5 a 20 mg/kg	Durante 30 meses consecutivos	36% de curas; 37% reagentes suspeitos; 27% reagentes positivos
Kleeberg	1959	330 (em várias propriedades)	oral	10 mg/kg	Durante períodos de 2 a 10 meses em dias consecutivos	50% de cura estéril; após 3 meses, 12% não mais reagiu à tuberculina, aos 6 meses 29%; 16% tiveram cura aparente
Kleeberg & Worthington	1963	913 (vários rebanhos)	oral	10 mg/kg e 15 mg/kg	Durante períodos de 7 a 11 meses em dias consecutivos	75% de curas, comprovadas bacteriologicamente em 158 animais necropsiados
Kleeberg et al.	1966	1323 209 464 170 254 18 171 84 170 65 19	oral oral oral oral oral oral oral oral oral oral oral	10 mg/kg 15 mg/kg 20 mg/kg 25 mg/kg 30 mg/kg 10 mg/kg e 20 mg/kg 20 mg/kg e 30 mg/kg 20 mg/kg e 10 mg/kg 25 mg/kg e 10 mg/kg 30 mg/kg e 10 mg/kg 30 mg/kg e 10 mg/kg	Doses diárias por 6 a 11 meses Durante 2 meses, depois durante 5 meses Durante 4 meses, depois durante 3 meses Durante 4 meses, depois durante 4 meses Durante 4 meses, depois durante 3 meses Durante 3 meses, depois durante 6 meses Durante 3 meses, depois durante 3 meses	78% de curas, comprovadas bacteriologicamente em 2/3 bovinos necropsiados
Castagnino et al.	1973	50	oral	20 mg/kg e 10 mg/kg	Durante 3 meses, depois durante 4 meses	Um ano após, não foram encontradas lesões ativas de tuberculose no abate
Langenegger et al.	1981	149	oral	25 mg/kg	Durante 2 meses em dias consecutivos e depois, intermitentemente 3 x por semana, durante 20 semanas	93,28% de curas
Langenegger et al.	1988	409	oral	25 mg/kg	Idem, porém o medicamento foi fornecido em cochos coletivos (tratamento massal)	96,40% de curas

centagens de curas cresceram progressivamente como mostra resumidamente o Quadro 1.

Predominantemente o regime de medicação da isoniazida, tanto na medicina humana quanto na da veterinária, consistia na administração contínua, diária, por períodos longos. Em tratamentos mais recentes foram usadas dosagens maiores nos primeiros meses do tratamento e a duração foi sendo reduzida até 6 meses.

No tratamento da tuberculose bovina a medicação intermitente se limitou a alguns ensaios, em que períodos de administração contínua por 15 ou 60 dias eram interrompidos por 15 dias de descanso (Rosati & Tini 1955, Nai & Crespi 1958, Nai & Perini 1960, D'Ascani & Micozzi 1961).

Langenegger et al. (1981a) vinham utilizando um regime misto em que nos primeiros 60 dias a isoniazida era administrada diariamente e depois num período de 4 meses e 21 dias o medicamento era fornecido em dias alternados, ou mais precisamente, nas 2.^{as}, 4.^{as} e 6.^{as} feiras, em doses de 25 mg/kg p.v., obtendo-se com esta posologia, em média, 95% de curas estéreis dos animais tratados nos últimos 15 anos.

No decurso destes trabalhos anteriores foram necropsiados animais no final do período intensivo de tratamento, isto é, no final dos 60 dias de aplicação contínua, verificando-se que nas lesões grandes com mais de 2 cm de diâmetro encontravam-se ainda, no interior da lesão, *M. bovis* vivos e patogênicos. Como ocorria a cura com o prosseguimento do tratamento em dias alternados, optou-se por utilizar a medicação intermitente desde o início do tratamento. O resultado desta experimentação será apresentado a seguir.

MATERIAL E MÉTODOS

A experimentação foi realizada numa fazenda em Itanhandu-MG, cujo rebanho leiteiro da raça holandesa preto-e-branca, com 254 animais, acusou a presença de 55 reagentes positivos e 13 suspeitos para tuberculose. O diagnóstico alérgico da tuberculose foi feito com tuberculina PPD bovina, contendo 5.000 UI por dose e tuberculina PPD aviária com 2.500 UI. Os critérios de interpretação das reações obedeceram às normas oficiais adotadas pelo Ministério da Agricultura (Langenegger et al. 1981b) nas quais, a tuberculização comparativa simultânea prevê o uso da chave esquematizada no Quadro 2.

Os bovinos reagentes foram submetidos à inspeção clínica em que foi dada atenção especial a alterações dos linfonodos externos e verificada a incidência de tosse. A anamnese indicou a existência da tuberculose em anos anteriores.

Os bovinos reagentes positivos e suspeitos foram isolados dos demais animais da fazenda em pasto e abrigo próprios e o peso corporal de cada animal foi avaliado por estimativa.

O tratamento da tuberculose foi feito com a hidrazida do ácido isonicotínico (isoniazida), sob forma de sal cristalizado, fornecida por via oral aos bovinos misturada na ração concentrada, individualmente, quando estes estavam presos nos cochos. A dose de 25 mg/kg p.v. correspondia a 10 g de isoniazida para um animal de 400 kg de peso vivo ou um grama a mais ou a menos para cada 40 kg de peso do animal. Esta dose de isoniazida era misturada, na hora, em 1 kg de ração concentrada de boa palatabilidade.

Ao contrário do regime anteriormente usado (Langenegger et al. 1981a), desde o início, o medicamento foi administrado intermitentemente, 3 vezes por semana, ou mais precisamente nas 2.^{as}, 4.^{as} e 6.^{as} feiras, durante 6 meses perfazendo um total de 80 doses.

Quadro 2. Chave de interpretação da tuberculização comparativa simultânea

Testes simultâneos	Diferença mm	Resultado em relação à tuberculose
TB(a) menor que TA(b)	—	Negativo
TB maior que TA	0,1 a 1,9	Negativo
TB maior que TA	2,0 a 2,9	Suspeito
TB maior que TA	3,0	Positivo

(a) Tuberculina bovina.

(b) Tuberculina aviária.

Durante o período de aplicação da medicação não foi feito nenhum teste alérgico.

Passados 90 dias após o término da medicação, foram realizadas 4 tuberculizações com intervalos de 3 meses para avaliar o índice de cura através da dessensibilização alérgica.

RESULTADOS

A inspeção clínica dos 55 bovinos reagentes positivos e dos 13 suspeitos ao teste da tuberculina revelou que duas vacas tossiam com certa frequência. Não foram encontrados linfonodos com alterações palpáveis que lembrassem lesões da tuberculose. Como no rebanho não houve reagentes entre os bezerros e novilhas pôde ser excluída a existência da lesão tuberculosa do úbere.

O tratamento intermitente com 25 mg/kg p.v. de isoniazida, durante 6 meses, seguido do monitoramento alérgico de 3 em 3 meses, revelou progressiva dessensibilização dos animais conforme mostra o Quadro 3. A

Quadro 3. Resultado da dessensibilização alérgica após a medicação com isoniazida

Dias após a medicação	Animais reagentes			AEDP ^(a) médio das reações	
	Negativos Nº %	Suspeitos Nº %	Positivos Nº %	Suspeitas mm	Positivas mm
0 ^(b)	0 0	18 (19,2)	55 (80,8)	2,6	6,0
90	31 (45,5)	19 (27,9)	18 (26,4)	2,3	4,7
180	47 (69,1)	10 (14,7)	11 (16,1)	2,4	4,7
270	51 (75,0)	12 (17,6)	5 (7,3)	2,1	4,3
360	63 (92,6)	05 (7,3)	0	2,1	

(a) Aumento da espessura da dobra da pele.

(b) Situação antes do início do tratamento.

juizar pelas reações negativas nos testes de tuberculização, verificou-se maior índice de cura (31 casos), até os 90 dias após o término da medicação e que aos 360 chegou a 63. Paralelamente diminuíram os reagentes positivos que aos 360 dias pós-tratamento passou a zero. As reações suspeitas permaneceram numa faixa intermediária como ilustra a Fig. 1. A persistência de apenas 5% de animais com reação suspeita, equivale a 100% de cura, pois a experiência já demonstrou que estas reações suspeitas tendem a regredir com o tempo.

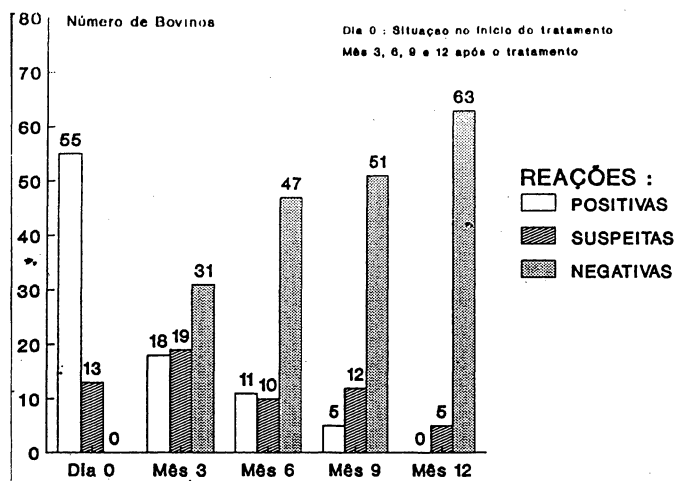


Fig. 1. Monitoramento da cura da tuberculose bovina através da dessensibilização alérgica.

DISCUSSÃO

O resultado do presente trabalho trouxe um aspecto novo, contestando a posologia clássica da tuberculose na qual era imperativo o tratamento diário, continuado por período longo. Era tido como fundamental manter constante o nível terapêutico da isoniazida no sangue para que o medicamento se difundisse e alcançasse a micobactéria nas grandes massas necróticas causadas pela tuberculose; a presença contínua da droga suprimisse a multiplicação do *Mycobacterium bovis* e, ainda, para que a presença do medicamento vencesse a longa persistência e sobrevivência do germe (até 6 meses) em seu estado de latência determinado pelo efeito da isoniazida em subdoses (Kleeberg 1967). A eficácia do tratamento intermitente, com apenas 3 aplicações semanais durante seis meses e na dosagem de 25 g/kg p.v., pode ser atribuída à alta concentração utilizada que certamente favoreceu a terapia através da ação bactericida conforme pôde ser demonstrado por Kleeberg (1967a,b), independentemente de ter sido administrada em regime contínuo ou intermitente.

A eficácia da medicação intermitente poderá estar ligada ao possível acúmulo de isoniazida no material caseoso da lesão tuberculosa. Neste material inerte, a isoniazida permaneceria ativa por mais tempo como acontece quando a droga é incorporada ao meio de cultura em teste de sensibilidade (Kleeberg & Weyland 1961).

Kleeberg (1967a) afirma que a concentração de isoniazida no material caseoso da lesão tuberculosa se iguala amplamente com a do soro sanguíneo. Não forma encontradas referências sobre acúmulo ou período de persistência da isoniazida nas lesões.

Outra hipótese admissível para a eficácia do tratamento intermitente, nas condições testadas, seria o efeito terapêutico tindalizante sobre o *M. bovis*, provocado pela alternância de fases de redução e ativação do metabolismo do germe e conseqüente exaustão das atividades fisiológicas mesmo com menor quantidade do medicamento.

O regime intermitente do tratamento da tuberculose bovina, empregado na presente experimentação, representou um grande benefício econômico ao produtor pois permitiu reduzir em um terço o gasto com a isoniazida. Com a posologia ora proposta, necessita-se apenas 800 g de isoniazida para uma vaca de 400 kg, enquanto para o mesmo animal eram gastos 1200 g no regime misto anteriormente por nós usado. Atualmente o custo do tratamento de uma vaca de leite representa entre 10 e 15% do valor comercial do animal, dependendo da sua produção de leite. Como não há condições de obter indenização para os reagentes, a opção do abate representaria uma perda média de 50% do valor comercial. Este é um argumento forte que leva o produtor a optar pelo tratamento.

A duração de 6 meses no tratamento da tuberculose não pode ser reduzida por causa da lenta absorção das grandes massas caseosas das lesões tuberculosas. Em experimento anterior verificou-se que em lesões com mais de 2 cm de diâmetro, após 2 meses de medicação contínua, ainda havia *M. bovis* vivos e patogênicos no centro da lesão, ao passo que lesões menores estavam estéreis. Isto mostrou que a difusão da isoniazida, em dose terapêutica, ocorre somente até uma certa profundidade da massa caseosa. Para que o tratamento tenha êxito, é necessário que o organismo animal absorva o material caseoso da periferia da lesão e desta forma a droga possa difundir-se mais para o interior desta.

A absorção da massa caseosa sendo lenta, são necessários, pelo menos, 6 meses para a remoção do material necrótico das lesões maiores. Esta circunstância também é responsável pelo retardamento da dessensibilização alérgica de boa parte dos animais após o tratamento, pois o animal ao absorver material caseoso da lesão, depara-se também com micobactérias mortas e diante disso mantém armado o sistema imunológico, cuja sensibilização alérgica pode manter-se até 12 ou mais meses depois de findo o tratamento, em animais curados.

No presente trabalho, aos 9 meses após o final do tratamento, apenas havia 5 reagentes positivos com AEDP médio de 4,3 mm e aos 12 nenhum mais, totalizando 100% de curas.

A dessensibilização alérgica é uma maneira prática de avaliar a cura da tuberculose em bovinos embora seja demorado. Kleeberg & Worthington (1963), Kleeberg et al. (1966) comprovaram que há estreita correlação entre a dessensibilização alérgica pós-tratamento com a cura estéril da tuberculose. Esta conclusão baseou-se em grande número de necropsias e exames bacteriológicos e longa convivência de grande número de bovinos curados em rebanhos indenes. Levado pelo monitoramento de muitos rebanhos já tratados aqui no Brasil nos últimos 15 anos, foi possível confirmar os resultados de Kleeberg e sua equipe. Verificou-se que podem ser considerados curados os bovinos quando o grau de dessensibilização decresce até atingir um AEDP inferior a 3 mm, que é alcançado na grande maioria dos casos aos 12 meses após o término do tratamento. Baseado neste critério, considerou-se que no

presente experimento houve 100% de curas dentre os 55 bovinos reagentes positivos e 13 suspeitos. Kleeberg (1961) usando doses de 10 mg/kg/dia durante 8 meses obteve 92% de cura monitorando os animais durante 36 meses.

O tratamento intermitente se revelou tão eficaz quanto o regime misto que vinha sendo usado.

REFERÊNCIAS

- Avellini G. & Figorelli L. 1954. Comportamento della reazione allergica tubercolinica in vitelli sperimentalmente infettati com micobacteri tuberculare i trattati con idrazide dell'acido isonicotinico. Zooprofilassi 9:831-839.
- Avellini G. 1957. Attività antitubercolare nel vitelli dell'associazione streptomycina-diidroestreptomycina-metansulfonato sodico dell'idrazide dell'acido isonicotinico. Vet. Ital. 8:769-778.
- Castagnino R.D., Barsallo J. & Tobacchi L. 1973. Isoniacida y tuberculosis bovina. Revta Invest. Pecuarias, Perú, 2:161-167.
- Cerruti C.G., Quesada A. & Corcione B. 1961. Sull'attività dell'idrazide dell'acido isonicotinico (I.N.I) nella infezione tubercolare bovina. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 15:775-786.
- Cerruti C.G., Quesada A. & Corcione B. 1962. Ulteriori indagini sull'attività dell'idrazide dell'acido isonicotinico (I.N.I.) nella infezione tubercolare bovina in campo pratico. Atti Soc. Ital. Vet. 16:513-522.
- D'Ascani E. & Micozzi G. 1961. L'idrazide dell'acido isonicotinico sola od associata alla diidroestreptomycina nella chemioprofilassi della tubercolosi. Zooprofilassi 16:724.
- Dorner B.A., Martinaglia G. & Hobbs W.B. 1961. INH prophylaxis and treatment in bovines. S. Afr. Med. J. 35:429-431.
- Kleeberg H.H. 1959. The treatment of tuberculosis in man and animals with isoniazid. J.S. Afr. Vet. Med. Ass. 30:69-73.
- Kleeberg H.H. 1961. The tuberculin test in cattle. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 32:482-486.
- Kleeberg H.H. 1963. Eradication of bovine tuberculosis J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 34:393-398.
- Kleeberg H.H. 1967a. La quimioterapia, nuevo recurso para la erradicaion de la tuberculosis bovina. Notficia Médico Veterinarias, Marburg/Lahn, 2/3:128-145.
- Kleeberg H.H. 1967b. The use of chemotherapeutic agents in animal tuberculosis. Veterinarian 4:197-211.
- Kleeberg H.H. & Weyland H. 1961. Isoniazid administration and blood level in cattle. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 32:349-353.
- Kleeberg H.H. & Worthington R.W. 1963. A modern approach to the control of bovine tuberculosis. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 34:383-391.
- Kleeberg H.H., Nixon R.C. & Worthington R.W. 1966. Evaluation of isoniazid in the field control of bovine tuberculosis. J. S. Afr. Vet. Med. Ass. 37:219-228.
- Langenegger J., Langenegger C.H. & Oliveira J. 1981a. Tratamento da tuberculose com isoniazida, Pesq. Vet. Bras. 1:1-6.
- Langenegger J., Langenegger C.H., Mota P.M.P.C. & Leite R.C. 1981b. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. Pesq. Vet. Bras. 1:145-150.
- Langenegger J., Cavalcante M.J. & Lira A.D. 1991. Tratamento massal da tuberculose bovina com isoniazida, Pesq. Vet. Bras. 11(1/2):21-23.
- McClatchy J.K. 1971. Mechanism of action of isoniazid on *Mycobacterium bovis* strain BCG. Infection and Immunity 3:530-534.
- Moretti B. & Pedini B. 1952. Primi rilievi sul trattamento, com idrazide dell'acido isonicotinico, de forme acute di tubercolosi bovini. Nuova Vet. 28:345-351.
- Muci G. 1953. Considerazioni i relivi clinici sull'applicazione dell'idrazide nella tubercolosi bovina. Zoot. Vet. 8:278-283.
- Nai D.D. & Crespi A. 1958. Sulla negativizzazione della reazione tubercolinica nei bovini trattati con isoniazide. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 12:640-643.
- Nai D.D. & Perini G. 1960. Ulteriori osservazioni sulla negativizzazione allergica dei bovini tubercolino-positivi trattati con isoniazide. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 14:612-616.
- Pedini B. 1953. Ulteriori rilievi sull trattamento della TBC bovina com idrazide dell'acido isonicotinico. Clin. Vet. Milano 76:353-360.
- Penha A.M. & Amaral L.B.S. 1963. Método de erradicação da tuberculose bovina para pafses subdesenvolvidos. Biológico, S. Paulo, 29:41-45.
- Rosatti T. & Tini R. 1955. Sull'andamento della reazione tubercolinica in bovini naturalmente infettati con idrazide dell'acido isonicotinico. Vet. Ital. 6:895-905.
- Sandro C. 1954. La cura dei bovini tubercolotici con la idrazide dell'acido isonicotinico unita a sali di calcio e di magnesio. Clin. Vet., Milano, 77:79-89.
- Straka J. 1968. Isoniazid (INH) metabolism in cattle. Vet. Med, Praha, 13:457-462.

AVALIAÇÃO DO LEUCOGRAMA DE FÊMEAS DA RAÇA HOLANDESA NATURALMENTE INFECTADAS PELO VÍRUS DA LEUCOSE BOVINA¹

MAURÍCIO GARCIA, JOSÉ LUIZ D'ANGELINO, FERNANDO JOSÉ BENESI,
EDUARDO HARRY BIRGEL e WILMAR SACHETIN MARÇAL²

ABSTRACT.- Garcia M., D'Angelino J.L., Benesi F.J., Birgel E.H., & Marçal W.S. 1991. [Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus.] Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):61-64. Depto Clínica Médica, Fac. Med. Vet. e Zootec., USP, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05508, Brazil.

Lymphocytosis caused by Enzootic Bovine Leukosis (EBL) has been known since the beginning of the century. For the clinical diagnosis of EBL "hematologic keys" have been largely used. The objective of this paper was to evaluate the hematologic condition of black and white holstein cows infected by the Bovine Leukosis Virus (BLV) giving special attention to lymphocytic morphology. Blood samples from 423 cows reacting to the Agar Gel Immunodiffusion Test (AGID) and from 374 non reacting cows were collected. No statistical differences in polymorphic nuclear leucocyte counts and monocyte counts between reacting and non reacting cows were found, but the AGID-reacting cows showed higher lymphocyte counts than the non AGID-reacting cows. When the morphology of the lymphocytes was analysed it was found that the monocytic cell counts and the double nucleus lymphocyte counts were higher in AGID-reacting animals.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leucose bovina, hematologia, linfócitos atípicos.

SINOPSE.- Desde o início do século já era conhecido que os animais afetados pela Leucose Enzoótica dos Bovinos (LEB) apresentavam linfocitose. Esta alteração foi muito usada como recurso auxiliar no diagnóstico clínico da LEB através do emprego das chamadas "chaves leucométricas". O presente estudo procurou avaliar o perfil do quadro leucocitário de fêmeas bovinas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB) dando-se particular atenção à morfologia dos linfócitos. Para tanto, realizou-se o leucograma de 423 bovinos reagentes e 374 não reagentes à prova de Imunodifusão em Gel para a Leucose Bovina (IDLB). Os resultados obtidos mostraram que apenas os linfócitos apresentaram aumentos estatisticamente significantes nos animais reagentes à IDLB. No tocante ao aspecto morfológico dos linfócitos, concluiu-se que os linfócitos monocitoides e os linfócitos com núcleo duplo apresentaram contagens significativamente maiores nos animais reagentes.

INDEX TERMS: Bovine leukosis, hematology, atypical lymphocytes.

INTRODUÇÃO

Talvez tão antigo quanto as primeiras notificações da ocorrência da Leucose Enzoótica dos Bovinos (Siedam-

grotzky 1876) seja o conhecimento da intensa proliferação linfocitária que acompanha essa doença. No início do século foi citado, ainda, que esta alteração hematológica não era apenas quantitativa, mas também qualitativa, ou seja, nos animais acometidos pela LEB eram encontrados vários linfócitos com morfologia atípica (Knuth & Volkman 1916, Toit 1917). Outra importante averiguação foi o fato das alterações hematológicas não ocorrerem apenas em animais com tumorações, sendo também detectadas em animais aparentemente sadios (Dobberstein & Paarmann 1924).

Baseado nestes fatos o primeiro programa de controle da doença foi estabelecido considerando-se os valores do leucograma como parâmetro de diagnóstico da infecção pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB) (Götze et al. 1954) dando-se o nome de "chave leucométrica" ao conjunto destes parâmetros (Bendixen 1961, Tolle 1965, Chevrier 1975). Desde que o VLB foi isolado (Miller et al. 1969) foi possível estabelecer-se uma nova metodologia de diagnóstico baseada na detecção de anticorpos séricos desenvolvidos durante a infecção, através da prova de imunodifusão em gel (IDLB) (Miller & Van der Maaten 1977). Desde então, o diagnóstico hematológico vem sendo desconsiderado face às suas limitações de sensibilidade e praticidade (Ferrer et al. 1978). No Brasil, entretanto, ainda não existe a produção do antígeno para a realização da IDLB e face à carência de trabalhos sobre o comportamento hematológico dos animais com LEB (Alencar Filho 1970, Birgel et al. 1982c, Modena & Figuei-

¹ Aceito para publicação em 20 de novembro de 1990.

Assunto da tese-MSc em Patologia Bovina, do primeiro autor, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1989.

Trabalho apresentado no XVI Congresso Mundial de Buiatria, Salvador, Bahia, 13-17 de agosto de 1990.

² Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05508.

redo 1981) decidiu-se apresentar estudos das variações do quadro leucométrico de bovinos naturalmente infectados pelo VLB.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram divididas em dois grandes lotes 797 fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta criadas na região da bacia leiteira de Campinas, SP, em regime semi-intensivo, em função de sua condição reagente ou não reagente à prova de IDLB. Em cada lote os animais foram distribuídos em grupos segundo as faixas etárias detalhadas no Quadro 1.

Após a colheita das amostras de sangue, por punção da veia

Quadro 1. Grupos experimentais, caracterizando-se o número de animais examinados, distribuídos segundo a faixa etária e a reação frente à imunodifusão em ágar gel. São Paulo, 1990

Faixa etária (anos)	Nº de amostras reagentes	Nº de amostras não reagentes	Total
< 1	59	108	167
1-2	77	88	165
2-3	94	63	157
3-4	60	38	98
4-5	47	28	75
5-6	36	20	56
> 6	50	29	79
Total	423	374	797

CONTAGEM LEUCOCITÁRIA

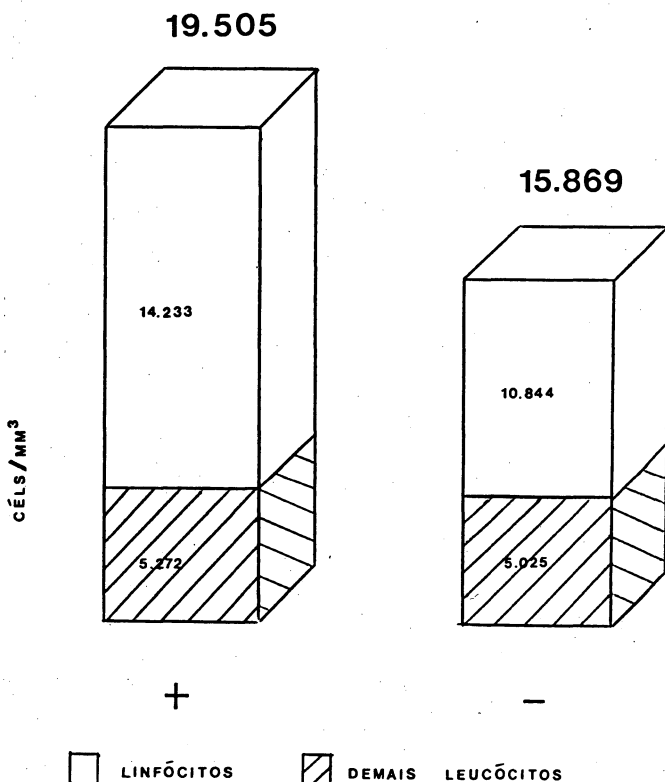


Fig. 1. Valores leucocitários de animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em céls./mm³. São Paulo, 1990.

NÚMERO ABSOLUTO DE LINFÓCITOS

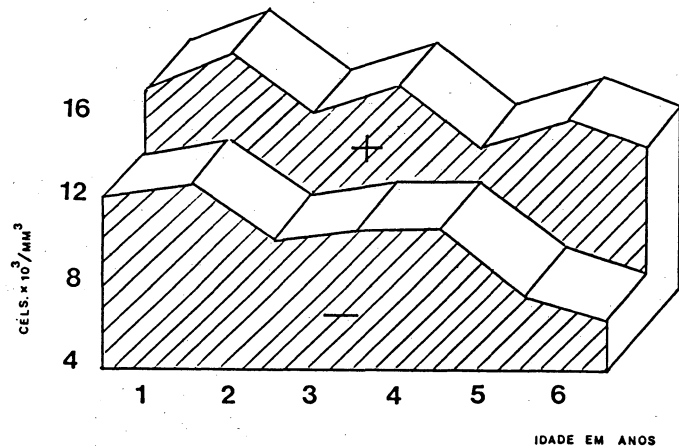


Fig. 2. Número absoluto de linfócitos de animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em milhares de céls./mm³. São Paulo, 1990.

ATIPIAS LINFOCITÁRIAS

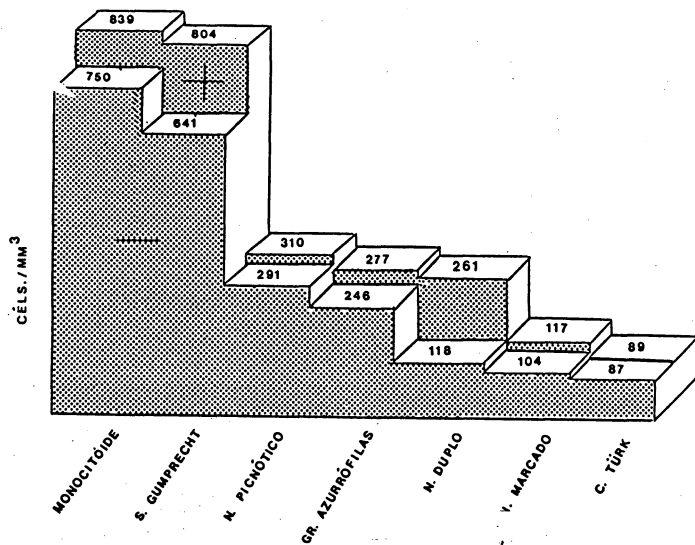


Fig. 3. Número absoluto das formas atípicas de linfócitos em animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em céls./mm³. São Paulo, 1990.

jugular, utilizando-se EDTA como anticoagulante, foram realizadas a contagem global de leucócitos em câmara hematimétrica (Birgel 1982a), a contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sanguíneos corados (Birgel 1982a) e a pesquisa de anticorpos séricos anti-VLB através da IDLB com antígeno gp 51 (Rinderleukose-Antigen da Behring-RFA) (Birgel 1982b).

RESULTADOS

A Fig. 1 mostra que os animais reagentes à prova de IDLB apresentaram uma contagem total de leucócitos superior aos não reagentes (19.505 céls./ μ^3 contra 15.869 céls./ μ^3 , respectivamente). A mesma figura ilustra, ainda, o fato desta diferença ter sido causada pelos linfócitos

Quadro 2. Valores médios e desvios padrões dos elementos constituintes do leucograma (em células por mm³ de sangue) de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídas segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Leucócitos		Neutrófilos		Eosinófilos		Basófilos		Monócitos		Linfócitos	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
<1	19.731	16.066*	4.155	3.655	513	475	103	67	171	190	14.786	11.683*
	8.229	6.635	2.278	2.523	646	587	157	118	161	190	7.871	5.828
1-2	21.932	17.669*	4.069	3.667	1.081	1.195	84	79	224	219	16.530	12.473*
	7.225	6.152	1.885	1.822	873	914	140	136	238	212	6.834	5.298
2-3	19.257	15.533*	3.965	3.797	1.235	1.320	83	89	292	275	13.702	10.086*
	7.055	4.846	1.761	1.497	826	1.061	135	112	414	260	6.834	4.316
3-4	20.622	16.113*	3.765	4.145	1.278	1.079	91	75	239	243	15.203	10.578*
	7.607	5.571	1.445	3.421	1.043	659	168	105	251	193	7.414	5.094
4-5	17.383	16.004	3.817	3.443	1.213	1.656	64	107	162	252	12.138	10.580
	7.542	7.517	2.125	1.287	684	1.284	116	130	162	251	6.922	6.813
5-6	19.247	12.050*	3.766	3.033	1.367	1.145	83	64	322	262	13.659	7.557*
	15.138	3.151	1.842	1.374	1.069	564	182	106	390	172	14.780	2.759
>6	16.806	12.586*	3.205	3.609	1.080	1.406	72	101	188	187	12.259	7.300
	11.434	5.051	1.638	1.933	752	1.042	167	161	168	141	11.058	4.414
Total	19.505	15.869*	3.859	3.679	1.103	1.044	84	80	231	225	14.233	10.844*
	8.998	6.113	1.868	2.164	879	944	150	124	286	210	8.639	5.447

* Diferença estatisticamente significativa para alfa = 5%; r = reagentes; nr = não reagentes.

posto que não se encontrou diferenças significantes nas demais células. A Fig. 2 mostra que essa linfocitose foi encontrada em todos os grupos etários dos animais reagentes. As formas atípicas de linfócitos que apresentaram-se significativamente em maior número foram os linfócitos monocitóides e os linfócitos com núcleo duplo, conforme demonstra-se na Fig. 3. Todos os resultados estão detalhadamente descritos nos Quadros 2, 3 e 4.

DISCUSSÃO

O maior número de leucócitos (leucocitose) encontrado no sangue dos animais reagentes à IDLB deveu-se exclusivamente ao aumento do número absoluto de linfócitos, posto que não se encontrou qualquer diferença entre as médias do número absoluto dos polimorfonucleares granulócitos (neutrófilo, eosinófilo e basófilo) ou dos monó-

Quadro 3. Valores médios e desvios padrões do número total de linfócitos, de linfócitos atípicos e de linfócitos típicos (grandes e pequenos) por mm³ de sangue de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídos segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Nº total de linfócitos		Nº total de linfócitos atípicos		Nº total de linfócitos típicos		Linfócitos grandes		Linfócitos pequenos	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
< 1	14.786	11.683	3.211	2.597	11.575	9.085*	3.230	2.460	8.345	6.679*
	7.871	5.828	2.632	1.834	5.998	4.775	3.105	2.245	5.496	4.634
1-2	16.530	12.473*	3.590	2.450	12.941	10.024*	4.264	2.818*	8.676	7.205*
	6.834	5.298	2.458	1.308	5.575	4.490	4.114	2.842	4.977	4.269
2-3	13.702	10.086*	2.335	2.119	11.367	7.967*	2.194	2.073	9.172	5.893
	6.834	4.316	1.341	1.194	6.267	3.787	1.906	1.687	6.094	3.460
3-4	15.203	10.578*	2.875	2.207*	12.328	8.370*	2.827	1.964*	9.501	6.407*
	7.414	5.094	1.889	1.192	6.217	4.492	2.438	1.312	5.258	4.536
4-5	12.138	10.580	2.070	2.055	10.068	8.525	1.627	2.025	8.441	6.501
	6.922	6.813	1.244	1.390	6.221	5.865	1.269	1.601	5.912	5.972
5-6	13.659	7.557*	2.117	1.436*	11.542	6.121*	2.594	1.557	8.948	4.564
	14.780	2.759	1.640	608	13.799	2.652	2.953	1.267	13.027	2.593
> 6	12.259	7.300*	2.199	1.263*	10.059	6.037*	2.389	1.746	7.670	4.291*
	11.058	4.414	2.196	487	9.128	4.241	3.180	1.303	6.794	3.262
Total	14.233	10.844*	2.698	2.236*	11.535	8.608*	2.799	2.277*	8.735	6.331*
	8.639	5.447	2.049	1.442	7.432	4.614	2.958	2.124	6.649	4.348

* Diferença estatisticamente significativa para alfa = 5%; r = reagentes; nr = não reagentes.

Quadro 4. Valores médios e desvios padrões dos números (por mm³ de sangue) dos diferentes tipos de linfócitos atípicos de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídas segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Linfócitos monocitóides		Sombras de Gumprecht		Linfócitos com núcleo marcado		Linfócitos com núcleo duplo		Linfócitos picnóticos		Linfócitos com granulações azurófilas		Células de Türk	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
< 1	1.066	905	1.142	792	102	113	233	112	288	329	238	214	142	132
	892	650	2.011	1.468	168	177	461	293	389	392	304	250	217	164
1-2	1.048	796*	1.341	695*	111	151	377	124*	284	362	328	237	99	84
	647	614	2.134	719	184	212	508	325	343	458	358	245	154	132
2-3	752	747	590	628	72	75	218	87*	377	252*	228	256	100	75
	530	602	807	981	139	169	332	148	450	300	293	243	179	116
3-4	815	697	917	617	133	63	332	138*	359	266	258	334	60	91
	597	510	1.454	702	363	99	679	267	401	269	299	328	112	123
4-5	601	684	462	445	144	107	172	182	332	265	298	336	61	36
	410	539	643	653	206	172	227	442	339	331	260	271	104	64
5-6	697	474	338	400	235	67	147	119	237	205	352	122*	61	48
	755	292	633	348	817	170	244	241	286	237	281	125	147	82
> 6	771	358*	469	333	103	64	275	93	227	141	284	246	71	27*
	886	240	917	385	179	122	627	157	144	166	245	171	122	56
Total	839	692*	804	641	117	104	261	118*	310	291	277	246	89	87
	692	591	1.454	1.008	313	176	476	282	372	364	300	251	158	133

* Diferença estatisticamente significante para alfa = 5%; r = reagente; nr = não reagente.

cit. Essa observação coincide com as afirmações apresentadas por numerosos autores (Götze et al. 1954, Bendixen 1961, Ferrer et al. 1978, Birgel 1982c). Com relação aos aspectos morfológicos dos linfócitos notou-se que sombras de Gumprecht, linfócitos com núcleos marcados, linfócitos com núcleo picnótico, linfócitos com granulações azurófilas e células de Türk não possuem importância decisiva no diagnóstico hematológico da Leucose Bovina. Todavia, devem ser ressaltados os resultados encontrados para as duas atípicas que demonstraram significância no diagnóstico hematológico desta infecção, ou seja, os linfócitos com núcleo duplo (células tetraplóides) e os linfócitos monocitóides (células de Riedel). Os resultados obtidos na presente pesquisa demonstram que a avaliação hematológica adequada continua sendo um recurso que contribui ao diagnóstico da LEB desde que sejam observados os parâmetros nacionais do leucograma, uma vez que a usual ocorrência de plasmoses nos animais brasileiros altera substancialmente o seu hemograma (Birgel et al. 1974). Desta forma, se forem usadas as chaves leucométricas européias, muitos animais serão considerados positivos, posto que seus parâmetros são muito inferiores daqueles encontrados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Alencar Filho R.A. 1970. Leucograma de bovinos nacionais e estrangeiros com vistas ao estudo da leucose. *Biológico*, S. Paulo, 36:181-184.
- Bendixen H.J. 1961. Methoden und Ergebnisse der systematischen Bekämpfung der Rinderleukose in Daenemark. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 68:100-104.
- Birgel E.H., Araújo L.M., Reichmann C.E., Araújo W.P., D'Angelino J.L., Santos C.D.M. 1974. Influência da pré-municação no quadro leucocitário de bovinos da raça holandesa importados do Canadá. In: *Anais XIV Congr. Bras. Med. Vet.*, São Paulo, p. 161-162.
- Birgel E.H. 1982a. Técnicas hematológicas de uso corrente em patologia clínica veterinária, p. 7-23. In: Birgel E.H. & Benesi F.J. (ed.) *Patologia Clínica Veterinária*, Soc. Paulista Vet., São Paulo.
- Birgel E.H. 1982b. Leucose enzoótica dos bovinos adultos. Aspectos clínicos e diagnóstico, p. 249-260. In: Birgel E. H. & Benesi F.J. (ed.) *Patologia Clínica Veterinária*. Soc. Paulista Med. Vet., São Paulo.
- Birgel E.H., Benesi F.J., D'Angelino J.L., Hagiwara M.K., Prado M.S.S. 1982c. Características leucométricas do sangue de bovinos de rebanhos acometidos por leucose enzoótica dos bovinos. In: *Anais I Semana Vet. Fac. Med. Vet. Zootec.*, USP, São Paulo, p. 73.
- Chevrier L. 1975. Aspect hématologique de la leucose bovine: application au dépistage hématologique. *Réc. Méd. Vét.* 151:145-152.
- Dobberstein J. & Paarmann P. 1934. Die sogenannte Lymphadenose des Rindes (Rinderleukose). *Z. Infektionskrankh. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere* 46:65-109.
- Ferrer J.F., Marshak R.R., Abt D.A. & Kenyon S.J. 1978. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to Lymphosarcoma. *Ann. Réch. Vét.* 9:851-857.
- Götze R., Rosenberger G., Ziegenhagen G. 1954. Die Leukose des Rindes: Ihre haematologische und klinische Diagnose. *Monatsh. Veterinarmed.* 9:517-526.
- Knuth P. & Volkmann O. 1916. Untersuchungen ueber die Lymphozytomatose des Rindes. *Z. Infektionskrankh. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere* 17:393-467.
- Miller J.M., Miller L.D., Olson C., Gillette K.G. 1969. Virus like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine Lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 43:1297-1305.
- Miller J.M. & Van der Maaten M.J. 1977. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Eur. J. Cancer* 13:1369-1375.
- Moderna C.M. & Figueiredo J.B. 1981. Leucose enzoótica bovina. I. Comparação entre métodos de diagnóstico. II. Evolução sorológica em bezerros. III. Interferência com a vacina anti-febre-aftosa. *Arqs Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais* 33:624-625.
- Siedamgrotzky 1876 apud Rosenberg G. 1983. *Enfermedades de los Bovinos*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, p.48-52.
- Toit P.J. 1917. Beitrag zur Morphologie des normalen und leukaemischen Rinderblutes. *Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkde* 43:145-203.
- Tolle A. 1965. Zur Beurteilung quantitativer hämatologischer Befunde im Rahmen der Leukose-Diagnostik beim Rind. *Zentralbl. Veterinarmed.* 128:281-290.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) EM CAPRINOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³
e JÜRGEN DÖBEREINER⁴

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1991. [Experimental poisoning of goats by *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae).] Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):65-70. Depto. Nutrição Animal e Pastagens, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro and Embrapa-NSPA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

The leaves of the most important poisonous plant for cattle in Brazil, *Palicourea marcgravii* St. Hil., were found to be toxic also for goats. Doses of 0.6 to 1.0 g/kg of the fresh leaves, administered orally, caused death of 2/3 of the experimental goats. Symptoms of poisoning and death occurred in most goats when they were exercised. The course of the poisoning varied from 1 minute to as long as 2 days. In general, the course was longer than in bovines and ovines. The symptoms of poisoning by *P. marcgravii* in goats were reluctance to walk, walking with stiff legs, sternal decubitus, muscular tremors, falling over, laying on its side, and pronounced dyspnea. Exercise was found to always aggravate symptoms. The animals which had longer courses of poisoning, remained in a sternal position for most of the time, were listless and had anorexia. Post-mortem examinations revealed no important or constant lesions. Histopathological studies showed mainly regressive changes in heart, liver and kidney. Small foci of coagulative necrosis of heart fibers were seen in the myocardium of half of the cases and in one additional case greater areas of necrosis were observed; edema and vacuolization of heart fibers also occurred. Vacuolization and less commonly necrosis of liver cells was seen in most cases. Only one case of necrosis of the epithelial cells of the uriniferous tubules was seen in the kidney cortex.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Palicourea marcgravii*, Rubiaceae, plant poisoning, goats, pathology.

SINOPSE.- Foi confirmada também para caprinos a toxidez das folhas de *Palicourea marcgravii* St. Hil., no Brasil, a planta tóxica de interesse pecuário mais importante para bovinos. Doses entre 0,6 e 1,0 gramas das folhas frescas, administradas por via oral, causaram a morte de mais de 2/3 dos caprinos. Os sintomas de intoxicação e a morte dos caprinos apareceram, na grande maioria dos casos, após exercício a que os animais experimentais eram submetidos, 2 vezes ao dia, a partir de aproximadamente 15 horas após a administração da planta. Além disto, o exercício, toda vez que era aplicado, também acentuava a sintomatologia, uma vez manifestada. A evolução clínica da intoxicação por *P. marcgravii* em caprinos variou de 1 minuto a 2 dias, portanto, de uma maneira geral, foi mais longa que a de bovinos e ovinos. Os sintomas observados foram relutância em andar, andar com membros rígidos, decúbito externo-abdominal, tremores musculares, impossibilidade de ficar em pé, decúbito lateral, dispnéia acentuada e morte. Os animais que tiveram evolução mais longa, ficavam em decúbito esternal, apáticos, com anorexia. Não foram verificados achados de necropsia de relevância ou constantes. Os

exames histopatológicos revelaram alterações no coração, fígado e rim, principalmente de natureza regressiva. No miocárdio observaram-se pequenos focos de necrose de coagulação de fibras cardíacas na metade dos casos; em um caso adicionalmente havia maiores áreas de necrose; com menor frequência, ocorreu edema e vacuolização de fibras cardíacas. No fígado verificaram-se, na maioria dos casos, vacuolização e, menor escala, necrose de hepatócitos. No rim, em apenas um caso, havia necrose das células epiteliais dos túbulos uriníferos do córtex.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Palicourea marcgravii*, Rubiaceae, intoxicação por planta, caprinos, patologia.

INTRODUÇÃO

A planta tóxica de interesse pecuário mais importante no Brasil é *Palicourea marcgravii*. A principal espécie animal afetada, sob condições naturais, é a bovina, sendo que existem diversos estudos experimentais com *P. marcgravii* nessa espécie animal (Pacheco & Carneiro 1932, Döbereiner & Tokarnia 1959, Costa et al. 1984, Tokarnia et al. 1986). Essa planta pertence ao grupo das que causam "morte súbita", isto é, uma intoxicação que se caracteriza por evolução geralmente superaguda, de minutos, e cujos sintomas podem ser provocados ou precipitados pela movimentação dos animais.

¹ Aceito para publicação em 18 de dezembro de 1990.

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

³ Departamento de Patologia Animal, Universidade Federal de Santa Maria, 97116 Santa Maria, RS.

⁴ Embrapa-NSPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

O coelho é muito sensível à intoxicação experimental por *P. marcgravii*, tendo sido usado extensivamente como ajuda no reconhecimento desta planta das diversas regiões do Brasil, especialmente da Região Amazônica (Peixoto et al. 1987).

Foi realizado um estudo experimental bastante detalhado em ovinos, no qual se verificou que essa espécie animal tem sensibilidade à toxidez de *P. marcgravii* semelhante à do bovino (Tokarnia et al. 1986). Segundo os mesmos autores a intoxicação espontânea por *P. marcgravii* em ovinos não ocorre ou é rara, não só devido ao desencontro da distribuição geográfica da planta com a dos ovinos, mas também porque os ovinos preferem campos limpos, enquanto *P. marcgravii* tem seu habitat nas capoeiras e beira de matas.

São poucos os dados sobre a toxidez de *P. marcgravii* em relação aos caprinos. Há, na literatura, o registro de somente um experimento com *P. marcgravii* em um único caprino (Pacheco & Carneiro 1932). Este recebeu 0,56 g/kg da planta "em extrato aquoso". No dia seguinte mostrou batimentos cardíacos fortes e acelerados, respiração acelerada e profunda, carótida sacudida por batimentos fortes. No 3º dia do experimento apresentou sinais de melhora. No 4º dia recebeu "dose adicional da planta correspondente a 0,2 g/kg", de modo a completar a dose de 0,76 g/kg, verificada, segundo eles, como mortal para os bovinos. O caprino morreu pela manhã do 5º dia. Os autores afirmam que a dose letal para o caprino seria mais ou menos idêntica à dos bovinos e concluem, de maneira estranha, que a cabra, em comparação ao bovino, parece resistir melhor à ação tóxica da planta, pois teriam obtido um tipo de intoxicação sub-aguda – o que ao nosso ver não ocorreu, pois quando se completou a dose letal (os próprios autores no seu trabalho concluíram que a planta possui efeito acumulativo), o animal morreu no dia seguinte. Não são apresentados achados macro e microscópicos.

Nossas observações indicam que a intoxicação espontânea por *P. marcgravii* em caprinos deve ser rara, principalmente pelo desencontro da distribuição geográfica e o habitat da planta com os dos caprinos, que são criados, no Brasil, principalmente em áreas secas da Região Nordeste; *P. marcgravii* só ocorre em limitadas áreas da Região Nordeste, em microrregiões que oferecem o habitat a *P. marcgravii*, isto é, áreas de boa precipitação pluvial e onde há matas e capoeiras. Obtivemos um único histórico de mortes em caprinos, em que os dados indicaram intoxicação por *P. marcgravii*; as mortes ocorreram na Região Amazônica, no município de Prainha, Estado do Pará, em criação de um migrante nordestino, que tinha trazido seus caprinos.

O presente estudo experimental foi realizado para estabelecer a dose letal, caracterizar melhor o quadro clínico e descrever os achados macro e microscópicos da intoxicação por *P. marcgravii* em caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas 2 séries de experimentos, ambas em 1990. A primeira série foi realizada no mês de outubro, com a planta coletada em 10.10.90 na Fazenda Monte Alegre, município Miguel Pereira, Estado do Rio de Janeiro, a segunda série no mês de novembro, com a planta coletada em 14.11.90 na Fazenda Todos os Santos, município de Engenheiro Paulo de Frontin, também Estado do Rio de Janeiro.

Em todos os experimentos foi administrada a planta fresca recém-colhida, dada no mesmo dia da coleta ou nos dias seguintes; neste último caso a planta foi guardada em sacos plásticos na geladeira. Todos os experimentos consistiram em administrações únicas da planta, que era aplicada manualmente por via oral. Essas administrações eram sempre efetuadas à tardinha ou no começo da noite.

Os animais experimentais, machos ou fêmeas não prenhes, adultos, eram mantidos confinados, durante a noite em um box e durante o dia num pasto pequeno. Recebiam capim inteiro e picado e água à vontade. Sabendo-se que o exercício pode desencadear ou precipitar os sintomas de intoxicação por *P. marcgravii*, todos os caprinos eram movimentados nos dias seguintes às administrações pela manhã e à tarde, durante pelo menos 15 minutos. Quando não queriam andar, eram submetidos a exercício forçado.

Em caso de morte, procedia-se imediatamente a necropsia. Um animal que adoeceu gravemente e se recuperou, foi sacrificado e necropsiado 2 meses após a ingestão da planta. Fragmentos de coração, pulmões, fígado, rins, baço, linfonodos, tubo digestivo e sistema nervoso central eram coletados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos constam dos Quadros 1 a 3.

Doses administradas

A menor dose que causou a morte de caprinos foi 0,5 g/kg. A dose mais elevada que não causou a morte de caprino foi 1 g/kg. Detalhes sobre as doses administradas constam do Quadro 2. Verificou-se que doses entre 0,6 e 1,0 g/kg causaram a morte de mais que 2/3 dos caprinos.

Influência de exercício

Todos os caprinos foram exercitados. Os primeiros sintomas foram observados somente após exercício, com exceção de um animal, que começou a mostrar sintomas de intoxicação antes do exercício (Capr. 4885). Alguns animais morreram durante o 1º exercício (Capr. 4885, 4895, 4889). Alguns animais dos que começaram a mostrar sintomas durante o exercício, morreram mais tarde, quando não mais eram exercitados (Capr. 4883, 4892) ou durante o 2º exercício (Capr. 4900). Dois animais não mostraram sintomas durante o primeiro exercício; porém um (Capr. 4899) morreu de repente 2 horas após, o outro (Capr. 4894), 2h e 30min após o exercício começou a mostrar sintomas, que no exercício à tarde tornaram-se mais acentuados, e no dia seguinte amanheceu morto. Outros caprinos mostraram sintomas, mais nítidos durante

Quadro 1. *Intoxicação experimental por Palicourea marcovii em caprinos. Quadro clínico-patológico*

Caprino Nº (reg. SAP)	Administrações		Desfecho	Sintomas	Início dos sintomas após começo do exercício	Evolução	Morte após início da administra- ção	Achados de necropsia	
	Peso kg	Data da adminis- tração							Dose g/kg
4882	38	10.10.90	0,5	Sem sintomas	-	-	-	-	
4883	19	11.10.90	0,75	Morreu no 4º dia do experi- mento ^a	Durante o primeiro exercício da manhã seguinte (2º dia do experimento), deitou-se. Mais tarde com andar rígrado, anorexia, ranger de dentes. Ao exercício forçado, à tarde, baliu muito; com dispnéia, tremores; ficou em decúbito lateral. No 3º dia ficou quase sempre deitado e não comia. No 4º dia amanheceu morto	6 min.	2 dias	2 dias e meio	Sem alterações
4884	26	11.10.90	0,5	Sem sintomas	-	-	-	-	
4885 (25007)	42	10.10.90	1,0	Morreu durante 1º exercício	Pela manhã (2º dia exp.) começou a baliir intermitentemente sem ter sido movimentado, ranger de dentes. Durante o exercício não quis correr, baliu sempre, tremores; ao exercício forçado, com dispnéia, respirando com a boca aberta; finalmente calu em decúbito lateral e morreu	Já 50 min. antes do exercício	1h 22 min.; 32 min. após início exercício	17h 37 min	Epicárdio e pleura com pequena quantidade de petéquias
4887	57	14.11.90	0,5	Adoeceu leve- mente	Ficava muito tempo deitado	-	2 dias	-	-
4889 (25025)	41	14.11.90	1,0	Morreu durante 1º exercício	Durante o exercício da manhã (2º dia exp.) deitava constantemente, dispnéia; ao exercício forçado baliu, dispnéia, ficava em decúbito lateral, tremores, morte	12 min.	38 min.	14h 03 min	Edema pulmonar
4892 (25028)	31	14.11.90	0,6	Morreu no 4º dia do exp.	Durante o exercício da manhã (2º dia exp.) deitava, com dispnéia; ao exercício forçado idem. Após, continuou sempre em decúbito esterno-abdominal. À tarde, durante o exercício forçado, baliu, dispnéia, respirando com a boca aberta, tremores, jugular saliente, pulsando; ficou em decúbito esternal com a cabeça encostada no flanco. No 3º dia continuou na mesma posição; não conseguia ficar em estação. No 4º dia inicialmente na mesma posição, depois em decúbito lateral, morte	20 min.	2 dias	2 dias e meio	Endocárdio com estrias acinzentadas. Fígado com aspecto reticulado, em algumas áreas acinzentado, em outras avermelhado. Rins na superfície e ao corte com manchas claras
4894 (25010)	23	11.10.90	0,6	Morreu no 3º dia do exp.	Durante o exercício de manhã (2º dia exp.) sem sintomas. Após 2h e 30 min. menos ativo, com frequência estava deitado. Mais tarde com andar rígrado, anorexia. Durante o exercício, à tarde, deitou logo; durante exercício forçado com andar rígrado. Amanheceu morto no dia seguinte	2 1/2 h (após o 1º exercício)	1 dia	1 dia e meio	Intestino delgado com congestão
4895 (25011)	27	12.10.90	0,75	Morreu durante 1º exercício	Durante o exercício da manhã (2º dia exp.) não quis correr; ao exercício forçado baliu, ficou em decúbito lateral, com respiração profunda espaçada; não conseguia ficar em pé e morreu	2 min.	10 min.	14h 55 min.	Sem alterações
4897	30	12.10.90	0,6	Adoeceu mode- radamente	Durante os exercícios não quis correr; puxado, deitou logo, dispnéia. Quando não exercitado, sem sintomas	6 min.	2 dias	-	-
4898	44	11.10.90	1,0	Adoeceu acen- tuadamente; re- cuperou-se; mais tarde sacrificado (9.12.90)	Sempre ao exercício não queria correr, dispnéia; ao exercício forçado, baliu, muita dispnéia, tremores musculares, ficava em decúbito lateral. Quando não exercitado, batia com as patas no chão, mas ficava durante muito tempo deitado. Anorexia. A partir do 5º dia diminuíram os sintomas e no 10º dia foi considerado completamente recuperado	2 min.	8 dias	-	No miocárdio ao corte pequenos pontos e estrias mais claras
4899	19	12.10.90	0,5	Morreu 2 horas e 15 min. após início do 1º exercício	Durante o exercício da manhã (2º dia exp.), sem sintomas. Após 2 horas, quando foi dada a ração, comia; logo em seguida foi visto em decúbito lateral, morte	2h (após o 1º exercício)	1 min.	16h 51 min.	Sem alterações
4900 (25027)	32	14.11.90	0,75	Morreu durante 2º exercício	Durante o exercício da manhã (2º dia exp.) sempre deitava; ao exercício forçado dispnéia e assumia o decúbito lateral. À tarde, sem exercício, com dispnéia e frequentes balidos. Ao exercício forçado, dispnéia, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, impossibilidade de ficar em estação, e morte	25 min.	7h 47 min	21h 35 min.	Coração pálido. Fígado com leve aspecto de noz moscada
4901	27	14.11.90	0,25	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4902	23	14.11.90	0,25	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4903	22	14.11.90	0,25	Adoeceu leve- mente	Ao ser exercitado mostrou dispnéia	15 min.	1 hora	-	-

^a O primeiro dia do experimento corresponde ao dia da administração da planta.

o exercício, mas se recuperaram (Capr. 4897, 4898, 4887, 4903).

Desta maneira, o exercício além de ter o efeito de precipitar ou provocar os sintomas de intoxicação ou morte, toda vez que aplicado, também acentuava a sintomatologia uma vez manifestada.

Evolução clínica

A evolução foi bastante variável. Nos experimentos que terminaram com a morte dos animais, oscilou entre 1 minuto (Capr. 4899) e 2 dias (Capr. 4883, 4892). Nos caprinos que adoeceram, mas se recuperaram, foi de 1 hora a 8 dias. Maiores detalhes vide Quadro 1.

Sintomas de intoxicação

A sintomatologia foi bastante uniforme. Quando movimentados, os animais não queriam mais andar, ficando em decúbito esternal, às vezes com dispnéia; às vezes apresentaram andar rígrado; ao exercício forçado apresentavam dispnéia acentuada, baliu fortemente, tinham tremores musculares, ficavam em decúbito lateral, não conseguiram ficar em pé quando assim colocados, ocorrendo então morte ou diminuição da intensidade desses sintomas após a interrupção do exercício. Os animais que tiveram evolução mais longa, ficavam em decúbito esternal, apáticos e com anorexia.

Quadro 2. *Intoxicação experimental por Palicourea marcgravii em caprinos. Relação entre dosagens e os graus de intoxicação^a*

Dose da planta administrada (g/kg)	Número do caprino (material histopatológico) e intensidade dos sintomas			
0,25	4901 ssa	4902 ss	4903 leves ^b	
0,5	4882 leves	4884 ss	4887 ss	4899 morreu (25013)
0,6	4892 morreu (25028)	4894 morreu (25010)	4897 moderados	
0,75	4883 morreu (25015)	4895 morreu (25011)	4990 morreu (25027)	
1,0	4885 morreu (25007)	4889 morreu (25025)	4898 graves	

^a ss = sem sintomas.

^b Com sintomas leves, moderados, graves.

Achados de necropsia

Não foram observadas lesões macroscópicas de relevância ou constantes. (Vide Quadro 1)

Alterações histológicas (Vide Quadro 3)

Os órgãos afetados foram principalmente coração, fígado e rim. Nos 8 animais que morreram durante os expe-

rimentos foi constatado no *coração* de 3 animais edema intracelular, sob forma de focos, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas. Necrose focal de fibras cardíacas, caracterizada por citoplasma fortemente eosinófilo com perda da estriação, e núcleos com a cromatina condensada ou picnótica, foi encontrada em 4 casos. Em um 5º caso havia maiores áreas de necrose (Capr. 4892). No *fígado* observou-se tumefação dos hepatócitos em 5 ca-

Quadro 3. *Alterações histológicas encontradas em caprinos intoxicados experimentalmente por Palicourea marcgravii*

Caprino nº (reg.SAP)	Coração				Fígado				Rim	
	Edema intracelular	Necrose focal (aumento da eosinofilia com picnose)	Áreas de necrose	Proliferação de fibroblastos e/ou fibrose	Tumefação de hepatócitos	Vacuolização de hepatócitos	Necrose	Congestão	"Degeração em gotas hialinas"	
4883 (25015)	- ^a	+	-	-	-	C+ ^b	-	-	-	-
4885 (25007)	-	-	-	-	D+(+)	D+	-	-	-	-
4889 (25010)	-	-	-	-	D+	D+	-	-	-	-
4892 (25028)	+	-	++	-	D++	-	Pa++	++	++	Necrose de coagulação tubular +++ Degeração em gotas hialinas +++ Degeração albuminosa-granular ++ Cilindros hialinos na cortex e medular +++
4894 (25010)	(+)	(+)	-	-	D+(+)	C+	-	-	-	-
4895 (25011)	-	+(+)	-	-	-	I+	-	-	-	-
4899 (25013)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4900 (25027)	-	-	-	-	-	C+	Pa++	-	-	-
4898 (25033)	+	(+)	-	+(+) muitos focos	ZI++	-	-	-	-	-

^a +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta, - ausente.

^b C=centrolobular, ZI = zona intermediária, Pa = paracentral, D = difusa, I = irregular.

os. Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos foi vista em 6 casos; esta afetava partes variáveis do lóbulo hepático e era de intensidade leve a moderada. Em 2 caprinos verificou-se moderada necrose de hepatócitos com localização paracentral. Em 1 animal foi observada a presença de esferas hialinas dentro de citoplasma de hepatócitos (“degeneração em gotas hialinas”), com variável localização (Capr. 4892). No rim somente foram observadas alterações em um único animal (Capr. 4892); neste, havia necrose de coagulação, “degeneração em gotas hialinas”, degeneração albuminosa-granular afetando as células epiteliais de grande parte dos túbulos uriníferos da córtex e presença de cilindros hialinos na córtex e medular (Capr. 4892).

No único caprino que foi sacrificado, 2 meses após a ingestão da planta (Capr. 4898), e que tinha adoecido gravemente, mas se recuperou, foram constatadas alterações somente no miocárdio, sob forma de pequenos focos de desaparecimento das fibras cardíacas com substituição por tecido conjuntivo rico em vasos neoformados e presença de pequena quantidade de colágeno, fibroblastos e células inflamatórias mononucleares.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Foi possível confirmar a toxidez de *Palicourea marcgravii* para caprinos.

As doses necessárias para causar a morte dos caprinos foram semelhantes às doses letais para bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1986) e ovinos (Tokarnia et al. 1986). Nos bovinos doses a partir de 0,6 g/kg causaram sempre a morte dos bovinos; nos ovinos a dose letal variou de 0,5 a 1 g/kg; nos caprinos doses a partir de 0,6 g/kg causaram a morte de mais de 2/3 dos caprinos.

Os sintomas de intoxicação e a morte dos caprinos apareceram durante ou após exercício. Somente um animal mostrou sintomas antes de ser exercitado, porém a sua morte ocorreu durante exercício. Não sabemos se sem exercício os animais mais tarde também teriam adoecido e morrido, pois a nossa metodologia incluiu o exercício a partir de aproximadamente 15 horas após a administração da planta. Talvez o exercício somente tenha precipitado a manifestação dos sintomas de intoxicação⁵. Nos bovinos, os sintomas e a morte também puderam ser provocados ou precipitados pelo exercício, porém a maioria dos bo-

vinos experimentais morreu sem ter sido exercitada (Tokarnia & Döbereiner 1986). Naqueles experimentos, entretanto, o exercício dos animais não fazia, rotineiramente, parte da metodologia – sendo, portanto, difícil fazerem-se comparações mais detalhadas. Nos ovinos o exercício, ao qual os animais eram rotineiramente submetidos, teve efeito semelhante ao observado nos caprinos; a maioria dos animais dos experimentos de administrações únicas somente mostrou sintomas, morrendo ou não, quando exercitada (Tokarnia et al. 1986).

A evolução clínica da intoxicação por *P. marcgravii* em caprinos, que variou de 1 minuto a 2 dias, foi, de uma maneira geral, mais longa que a dos bovinos e ovinos. Nos experimentos de administrações únicas de folhas frescas ou dessecadas em bovinos, a evolução, nos casos letais, oscilou, em geral, entre 1 e 10 minutos. Na avaliação desses prazos, nos bovinos, foram considerados somente sintomas nítidos; alguns animais mostraram anteriormente sintomas pouco nítidos como não mais querer andar quando tangidos, taquipnéia, deitar-se em posição esterno-abdominal e urinar frequentemente. Nos ovinos que receberam doses únicas da planta, fresca ou dessecada, a evolução, nos casos letais, foi de 3 a 15 minutos. Um desses animais, entretanto, mostrou, durante o exercício, na parte da manhã, sintomas acentuados, mas que logo desapareceram completamente; durante o exercício, à tarde, mostrou novamente sintomas acentuados e morreu; nesse caso foram consideradas em relação ao prazo da evolução somente as manifestações mostradas pelo animal durante o exercício à tarde e que culminaram com a sua morte. Nos caprinos, os sintomas, uma vez presentes, persistiram até a morte dos animais, mesmo com a cessação do exercício. Nesse particular, a intoxicação por *P. marcgravii* em caprinos diverge da dos bovinos e ovinos, pois estes últimos quando mostravam sintomas nítidos, morriam logo ou se recuperavam pouco depois da cessação do exercício.

Os sintomas de intoxicação por *P. marcgravii* observados nos caprinos foram semelhantes aos observados nos bovinos e ovinos. Também nos bovinos e ovinos que morreram nos experimentos de administrações únicas, os achados de necropsia foram poucos e inconsistentes.

As alterações histológicas encontradas nos caprinos intoxicados experimentalmente por *P. marcgravii* são semelhantes às verificadas nos bovinos e ovinos intoxicados experimentalmente com administrações únicas de *P. marcgravii* (Tokarnia & Döbereiner 1986, Tokarnia et al. 1986). Faz exceção um animal (Capr. 4892) no qual havia moderada a acentuada necrose no miocárdio, fígado e rim. Na intoxicação por plantas que causam “morte súbita”, somente tem-se verificado marcada necrose no coração e rim de ovinos e no fígado de um bovino intoxicados com doses repetidas de *P. marcgravii*. O caprino em questão, como todos os caprinos no presente estudo, recebeu a planta somente uma única vez, porém se destaca por ter tido, junto com outro caprino (Capr. 4883), a evolução mais longa (2 dias). Em relação à lesão do mi-

⁵ Independentemente dos experimentos do presente trabalho, fugindo da metodologia adotada, 2 animais adicionais que receberam 1 g/kg (Capr. 4891) e 2 g/kg (Capr. 4896) da planta, não foram exercitados. O Caprino 4891 não mostrou quaisquer sintomas de intoxicação; no entanto, o Caprino 4896, a partir de aproximadamente 12 horas após a administração da planta, sempre ficava em decúbito esternal e na tentativa de levantar, apresentou tremores musculares generalizados. Após 7h 30 min. começou a balir e em 15 minutos estava morto. A necropsia não revelou lesões dignas de nota e os exames histológicos revelaram discreto edema intracelular de fibras cardíacas, fígado com moderada vacuolização de hepatócitos na zona intermediária do lóbulo hepático e rim com moderada a acentuada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais.

Levando em consideração a influência do exercício sobre a precipitação ou provocação dos sintomas e morte dos animais na intoxicação por *Palicourea marcgravii*, este experimento indica que se o animal não for movimentado, uma dose maior seria necessária para causar a sua morte.

cárdio, este caso do Caprino 4892 lembra um caso de intoxicação experimental pelas folhas de *Palicourea juruana* em bovino (administração única), no qual foram verificadas áreas de necrose bem manifestas nesse órgão (Bov. 4452, SAP 22335-37); este também foi um caso de evolução excepcionalmente longa (72 horas) (Tokarnia et al. 1989). Em bovinos, nos experimentos de administrações repetidas com as diversas plantas que causam "morte súbita", a necrose assinalada sempre foi focal e leve, com exceção de casos de intoxicação por *Mascagnia* aff. *rigida*, em que houve necrose extensa, porém, o que é importante ressaltar, restrita ao músculo pilar (Tokarnia et al. 1989).

Desta maneira, pode-se concluir que em relação à dose letal, à influência do exercício, à sintomatologia, aos achados de necropsia e à histopatologia, o caprino apresenta um comportamento semelhante ao bovino e ao ovinos. Deve-se observar que a evolução clínica, período em que o animal mostra nítidos sintomas de intoxicação, tende ser mais longa no caprino.

Agradecimentos.- Agradecemos ao laboratorista do NPSA da Embrapa, Sr. João Luiz Bastos, pelos serviços prestados na coleta da planta no campo, sua administração aos caprinos e na execução das necropsias.

REFERÊNCIAS

- Costa M.V., Nascimento E.F., Pessoa J.M. & Costa W.R. 1984. Lesões em bovinos intoxicados pela *Palicourea marcgravii* St. Hil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 36(5):571-580.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1959. Intoxicação de bovinos pela "erva de rato" (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. Arqs Inst. Biol. Anim., Rio de J., 2:83-91.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. 1. Intoxicação dos animais pela "herva de rato da mata" *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.). Revta Soc. Paulista Med. Vet. 2(2-3):23-46.
- Peixoto P.V., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto C.S. 1987. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 7(4):117-129.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 6(3): 73-92.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 6(4):121-131.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1989. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. Pesq. Vet. Bras. 9(1/2):1-10.

INTOXICAÇÃO POR *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA¹

ALDO GAVA², LUIZ STOLF², CELSO PILATI³, DALMO DA SILVA NEVES² e LEUNIRA VIGANÓ³

ABSTRACT.- Gava A., Stolf L., Pilati C., Neves D.S. & Viganó L. 1991. [Poisoning of cattle by *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) in Santa Catarina.] Intoxicação por *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):71-74. Centro de Ciências Agro Veterinárias, Cx. Postal D-29, Lages, Santa Catarina 88500, Brazil.

A disease of cattle characterized by acute hepatic insufficiency was studied in the state of Santa Catarina. Clinical manifestations were anorexia, apathy, rumen atony, dark and mucous feces, salivation, sunken eyes and muscular tremors. The animals kept their head down or against an obstacle and showed instability of gait. Death occurred 8 to 12 hours after the first symptoms. Post-mortem findings in 4 animals were a slightly pale liver, its cut-surface had a nutmeg appearance, and circular hemorrhages of 0.5 to 2 mm in diameter were seen below the capsule. There were also hemorrhages of the serosa of the rumen, omasum, intestine and of the heart, especially at the coronary sulcus and in the endocardium of the left ventricle. In omasum, colon and rectum dried contents were observed in all cases. Histological examination showed coagulation necrosis of the hepatic parenchyma associated with congestion and hemorrhages and steatosis.

The disease was experimentally reproduced by oral administration of fresh leaves of *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* to 11 bovines. With a single dose of 39 and 35 g/kg or repeated doses of 2.5 and 5 g/kg during 14 to 23 days an acute disease developed and the animals died with clinical signs and macro and microscopic lesions similar to those found in the natural cases. With single doses of 30 g/kg the animals became ill but recovered and with 20 g/kg only one out of 2 animals showed clinical signs. The administration of 0.623 and 1.25 g/kg to 2 calves during 95 days caused no clinical symptoms nor gross or microscopic lesions.

The results of this study showed that *C. corymbosum* var. *hirsutum* is the cause of the disease which occurs on the Planalto Catarinense and in the Alto Vale do Itajai, characterized by acute hepatic insufficiency. The ingestion of the plant is related to hunger, since the mortalities occur with more frequency in the periods of lack of pasture. There appears to be a cumulative effect of the plant poison.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*, Solanaceae, plant poisoning, bovine, pathology.

SINOPSE.- Uma doença com quadro clínico-patológico de insuficiência hepática aguda foi estudada em bovinos, no estado de Santa Catarina. O quadro clínico manifestado pelos animais doentes caracterizava-se principalmente por anorexia, apatia, atonia de rume, fezes pastosas e escuras, salivação, globo ocular retraído, tremores musculares. Os animais mantinham a cabeça baixa ou apoiada em obstáculos e mostravam andar cambaleante. A morte ocorria entre 8 à 12 horas após o início dos sintomas. À necropsia de 4 bovinos, o fígado estava levemente amarelado, ao corte observava-se aspecto de nos-moscada e havia hemorragias circulares de 0,5 à 2 mm de diâmetro sob a cápsula. Também chamavam atenção hemorragias nas serosas do rume, omaso, intestino e hemorragias no coração, principalmente no sulco coronário e no endocárdio esquerdo. Ressecamento do conteúdo do

omaso, cólon e reto foi observado em todos os casos. Os exames histológicos mostraram necrose de coagulação do parênquima hepático associada à congestão e hemorragias centrolobulares, e esteatose.

Esta doença foi reproduzida experimentalmente através da administração a 11 bovinos de folhas verdes de *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* coletadas na região da ocorrência. Com doses únicas de 39 e 35 g/kg ou doses repetidas de 2,5 e 5 g/kg durante 14 a 23 dias, os animais adoeceram de forma aguda e morreram com sinais clínicos e lesões macro e microscópicas semelhantes às observadas nos casos naturais. Em doses únicas de 30 g/kg ocorreram sintomas clínicos com recuperação posterior, e de 20 g/kg apenas um dos dois bovinos adoeceu. A administração de 0,625 e 1,25 g/kg em dois bezerros durante 95 dias não produziu alterações clínicas e nem lesões macro e microscópicas.

Conclui-se que a ingestão de *C. corymbosum* var. *hirsutum* é a causa da doença de bovinos que ocorre no Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai, caracterizada por insuficiência hepática aguda. Presume-se que a ingestão da planta está relacionada à

¹ Aceito para publicação em 26 de abril de 1991.

² Centro de Ciências Agro Veterinárias (CAV), Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88500.

³ Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária, CAV.

fome, já que as mortes ocorrem mais no período de escassez de pasto e a doença pode se manifestar tanto em animais que ingeriram doses únicas superiores a 20 g/kg ou naqueles que passam a consumir doses menores até no mínimo 2,5 g/kg, por vários dias (efeito acumulativo).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*, Solanaceae, intoxicação por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Informações obtidas de criadores da região leste do Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai se referem a uma doença de caráter agudo que acomete bovinos, principalmente durante os períodos de escassez alimentar. Enquanto no planalto, as mortes ocorrem mais frequentemente nos meses de maio/junho, no Vale do Itajai, elas são mais frequentes durante os meses de agosto/setembro, período em que geralmente os bovinos são postos a pastorear em capoeiras. Vários animais doentes foram acompanhados através de exames clínicos e necropsias, que juntamente com os exames histológicos demonstraram que a doença se caracterizava por produzir um quadro de insuficiência hepática aguda. Com base nestas informações e no quadro clínico patológico, suspeitou-se que a doença seria causada pela ingestão de planta de ação hepatotóxica. Porém nas observações dos campos da região, não foi encontrada nenhuma planta hepatotóxica conhecida. Este fato motivou a experimentação em bovinos com um arbusto de alta incidência tanto no Planalto leste como no Alto Vale do Itajai, que frequentemente mostrava sinais de ser consumido. Esta planta foi identificada posteriormente como *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*.

Na literatura não encontramos nenhuma citação sobre a toxicidade desta planta para os animais domésticos. No Brasil Döbereiner et al. (1969), referem-se à intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht, como planta responsável por mortandades em bovinos no Estao do Rio de Janeiro. Esta planta quando ingerida pelos bovinos em doses de 10 a 50 g/kg produz um quadro clínico-patológico de insuficiência hepática aguda, caracterizada por anorexia, tremores musculares, excitação, agressividade, andar cambaleante e morte. Através da necropsia, os autores observaram aspecto de noz-moscada no fígado e ressecamento do conteúdo do omaso e do intestino grosso. Pelo exame histológico verificaram no fígado, necrose centrolobular acompanhada de congestão, hemorragia e esteatose na periferia dos lóbulos. Outra planta do mesmo gênero, *Cestrum parqui*, é descrita como responsável por mortes em bovinos no Rio Grande do Sul. Riet-Correa et al. (1986) experimentalmente reproduziram a intoxicação letal com 10 e 20 g/kg e descreveram o quadro clínico-patológico por ela reproduzido, caracterizado por anorexia, agressividade, paresia do trem posterior e morte em 24 horas. À necropsia observaram no fígado aumento de volume e presença de áreas vermelho-escuras intercaladas por áreas claras, edema da parede da vesícula biliar, ressecamento do conteúdo retal e hemorragia na mucosa intestinal. Pelo exame histológico constataram no fígado

necrose centrolobular e da zona intermediária, associada à congestão e hemorragia.

MATERIAL E MÉTODOS

1) *Estudo da doença espontânea.* – Após a caracterização das lesões histológicas em fragmentos de fígado de bovinos recebidos no Setor de Patologia Animal do Centro de Ciências AgroVeterinárias de Lages, foi efetuado levantamento de históricos junto as propriedades de origem das amostras. Posteriormente, os estudos foram ampliados à outras propriedades localizadas ao leste do Planalto Catarinense e Alto Vale do Itajai, com acompanhamentos de animais doentes.

2) *Estudo experimental.* – As folhas de *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum* (Fig. 1) foram coletadas no município de Lages, SC, durante o ano de 1987, em diferentes períodos e administra-



Fig. 1. *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*, Município de Lages, Santa Catarina.

das ainda verdes a 11 bovinos com idade variando entre 18 meses e 3 anos. Inicialmente foram administradas a 4 bovinos doses únicas de 20, 30, e 39 g/kg. Posteriormente 5 animais receberam doses repetidas diárias de 0,625, 1,25, e 5,0 g/kg. Os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Setor de Anatomia Patológica do Centro de Ciências AgroVeterinárias de Lages, SC.

Os bovinos submetidos ao experimento e os que manifestaram a doença espontânea, foram acompanhados clinicamente e os que morreram foram necropsiados, coletando-se fragmentos de órgãos para estudos histológicos. O material coletado foi fixado em formol a 10%, incluído em parafina, cortado em seções de 5 micra e corado com hematoxilina e eosina. Para observação de gordura nos hepatócitos foi usada a técnica de SUDAN III.

RESULTADOS

Doença espontânea

Através do acompanhamento clínico de 4 bovinos (3 no município de Lages e 1 no município de Salete), constataram-se, como sintomas predominantes, anorexia, parada da ruminação, pêlo arrepiado, apatia, fezes pastosas e escuras, andar cambaleante, salivação, cabeça baixa, tremores musculares, decúbito esternal ou lateral, ranger de dentes e movimentos de pedalagem. Um bovino

apresentou agressividade. Dois animais (SAP 2140 e 2523) morreram entre 8 e 12 horas após apresentarem os primeiros sintomas e duas vacas foram sacrificadas (SAP 2222 e 2635) por solicitação dos proprietários, uma quando já se encontrava em decúbito e outra com sinais clínicos bem manifestados, mas ainda de pé. À necropsia constatou-se, nos animais que morreram naturalmente, lesões no fígado que se apresentava de coloração levemente amarelada, com hemorragias circulares de 0,5 a 2 mm de diâmetro sob a capsula. Ao corte, o fígado mostrava além da coloração levemente amarelada, um aspecto de noz-moscada em grau moderado. Grandes áreas de hemorragias foram vistas na serosa do omaso e do intestino, bem como no sulco coronário e no endocárdio esquerdo. O conteúdo do omaso, colon e reto era seco. Nos animais sacrificados havia sufusões na mucosa do ceco, colon e reto e o conteúdo era envolto por muco e, às vezes, por sangue. Os exames histológicos dos 4 bovinos mostraram necrose hepática caracterizada por intensa eosinofilia do citoplasma dos hepatócitos acompanhada por picnose e cariorrexia, associada à congestão e hemorragias. Em dois animais (SAP 2140 e 2523) a necrose se concentrava na região centro-lobular e zona intermediária, enquanto que, nos outros dois (SAP 2222 e 2635), a necrose se estendia por todo o lóbulo hepático. Congestão centrolobular foi observada em 3 bovinos (SAP 2140, 2523 e 2635), difusa no quarto (SAP 2222); ela foi acentuada em 2 animais (SAP 2523 e 2635) e leve em outros dois (SAP 2140 e 2222). Em um bovino (SAP 2635) havia esteatose moderada, difundida por todo o lóbulo hepático.

Intoxicação experimental

Experimentalmente a doença foi reproduzida em bezerros, através da administração de folhas verdes de *Cestrum corymbosum* Sch. var. *hirsutum*. A dosagem utilizada, o número de administrações, bem como o peso dos animais, tempo de início dos sintomas e o tempo de óbito após o início das manifestações clínicas constam no Quadro 1.

Dois animais que receberam doses de 39 e 35 g/kg (07

e 13) manifestaram alterações clínicas muito graves, ocorrendo a morte em 10 horas e 30 minutos e 9 horas e 20 minutos respectivamente, após o início dos sintomas. Com dose única de 30 g/kg produziram-se sinais clínicos de intensidade moderada em um bezerro (nº 14) e acentuados em outro (nº 12). Estes dois animais foram considerados clinicamente recuperados em 75 e 26 horas respectivamente, após o início dos sintomas. Doses únicas de 20 g/kg administradas a dois animais, produziram alterações clínicas de intensidade moderada apenas em um (nº 11). Doses diárias de 2,5 g/kg (nº 18) e 5 g/kg (nº 15 e 17) produziram sintomas clínicos graves e a morte ocorreu após 23 e 14/19 administrações respectivamente. Doses repetidas de 1,25 g/kg (nº 19) e 0,625 g/kg (nº 20) durante 95 dias não causaram o aparecimento de sinais clínicos da doença. Estes sinais foram idênticos em todos os animais, variando apenas na intensidade, incluindo os que morreram após receberem doses diárias de 2,5 e 5,0 g/kg. Os sintomas se caracterizaram por anorexia, congestão de esclera e conjuntiva, atonia de rume, dificuldade de locomoção, salivação, globo ocular retraído, cabeça baixa ou apoiada em obstáculos, decúbito com a cabeça voltada para o flanco ou estendida sobre o solo, tremores musculares, fezes pastosas e escuras ou em forma de síbalas com muco e sangue, orelhas caídas, gemidos e ranger de dentes. Os bezerros que foram ao óbito apresentaram ainda opistótono e movimentos de pedalagem. A necropsia dos 5 bovinos que morreram após fortes manifestações clínicas apresentaram significativas lesões no fígado caracterizadas por coloração levemente amarelada, evidenciando-se hemorragias circulares subcapsulares de 0,5 a 2 mm de diâmetro e aspecto de noz-moscada, moderado, mais evidente na superfície de corte. Na maioria dos casos foram observados edema da parede da vesícula biliar e sufusões na serosa do rume, do omaso e do intestino, bem como equimoses no sulco coronário, nas fâscias intermusculares e hemorragias difusas no endocárdio do ventrículo esquerdo. Ressecamento do conteúdo do omaso, do colon e do reto foi encontrado em todos os animais necropsiados, sendo que no cólon e reto o conteúdo era envolto por muco e, às vezes, por sangue, enquanto que

Quadro 1. Intoxicação experimental por *C. corymbosum* var. *hirsutum* em bovinos

Bovino		Planta administrada			Sintomas	
Nº	Peso (kg)	Quantidade (g/kg)	Dose total (kg)	Nº de administrações	Início após a administração da planta	Evolução após o início dos sintomas
7	180	39,0	7,0	1	14 h	10 h 30 min., morreu
13	73	35,0	2,55	1	7 h 15 min.	9 h 20 min., morreu
12	92	30,0	2,76	1	14 h	26 h, recuperou-se
14	105	30,0	3,15	1	20 h	75 h, recuperou-se
11	70	20,0	1,4	1	21 h	41 h, recuperou-se
16	301	20,0	6,02	1	Ausência de sintomas	—
15	72	5,0	5,04	14	14 dias	5 h, morreu
17	155	5,0	14,72	7+12 ^a	7 a 12 dias	96 e 21 h, morreu
18	155	2,5	8,91	23	23 dias	11 h, morreu
19	162	1,25	19,23	95	Ausência de sintomas	Sacrificado
20	175	0,625	10,39	95	Ausência de sintomas	Sacrificado

^a Interrupção da administração por um período de 8 dias em decorrência da manifestação dos sintomas e posterior recuperação.

na mucosa destes, e principalmente no ceco, sufusões eram evidentes.

Os exames histológicos mostraram necrose das células hepáticas, caracterizada pela intensa eosinofilia do citoplasma dos hepatócitos, os quais na sua maioria mostravam picnose ou cariorexia (Fig.2). Essa necrose afetava todo o lóbulo hepático em 4 animais (n^{os} 13, 15, 17 e 18); em um bovino (n^o 07) a área necrótica afetava somente as regiões centrolobular e intermediária e esteatose de intensidade leve foi observada nessas regiões e moderada nos hepatócitos da periferia do lóbulo. Observaram-se ainda na região centrolobular congetão e hemorragias de intensidade acentuada em 3 animais (n^{os} 15, 17 e 18), moderada em um (n^o 07) e leve em outro (n^o 13). Nos dois bovinos que receberam diariamente 0,625 e 1,25 g/kg durante 95 dias e que foram sacrificados no final do experimento, não foram observadas lesões macro e microscópicas.

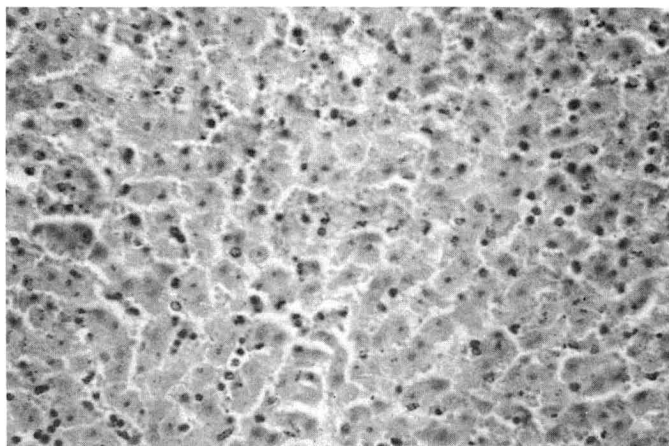


Fig. 2. Necrose das células hepáticas na intoxicação natural por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (Bov. 2222).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O quadro clínico-patológico de insuficiência hepática aguda, observado em bovinos no leste do Planalto Serrano e Alto Vale do Itajai, Estado de Santa Catarina, foi atribuído à ingestão de *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*. Os sinais clínicos manifestados pelos bovinos, tanto na doença natural, como na intoxicação experimental, foram principalmente anorexia, atonia de rume, salivação, cabeça baixa, fezes geralmente pastosas e de cor escura, tremores musculares, olhos fundos, ranger de dentes, gemidos, movimentos de pedalagem e morte. Estas alterações são semelhantes às citadas na intoxicação por *Cestrum laevigatum* (Döbereiner et al. 1968) e *Cestrum parqui* (Riet-Correa et al. 1986).

Através da necropsia, tanto nos casos naturais como nos animais submetidos à experimentação, as lesões mais significativas foram a coloração levemente amarelada do fígado, acompanhada de hemorragias subcapsulares e, ao corte, por aspecto de noz moscada. Hemorragias na serosa do rume, do omaso e do intestino, no sulco coronário e endocárdio do ventrículo esquerdo, bem como ressecamento do conteúdo do omaso, colon e reto, estavam presentes em todos os casos.

Nos bovinos mortos pela ação de *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum*, observou-se necrose nos hepatócitos da região centrolobular e da zona intermediária ou mais comumente atingindo todo o lóbulo hepático. Esta lesão diferencia-se da necrose produzida na intoxicação por *C. laevigatum* e *C. parqui*, pois nessas plantas a lesão é comumente vista nos hepatócitos da região centrolobular. Quanto à localização, diferencia-se também a esteatose, que na intoxicação por *C. corymbosum* var. *hirsutum* geralmente se difunde pelo lóbulo, enquanto na intoxicação por *C. laevigatum* quando ocorre, tem localização periférica.

A dose letal de *C. corymbosum* var. *hirsutum* para bovinos, quando ingerida em dose única, está em torno de 35 g/kg. Em doses diárias de 2,5 e 5 g/kg durante vários dias a doença também pode ser reproduzida. Mediante estas últimas características, a planta evidenciou ter efeito acumulativo em bovinos, quando ingerida em doses menores que a dose letal única, produzindo um quadro clínico patológico agudo, idêntico ao produzido pela ingestão da dose letal única. Como a doença foi reproduzida tanto com dose única e 35 e 39 g/kg como com doses de 2,5 e 5 g/kg durante vários dias, acredita-se que, sob condições naturais, este quadro poderá ocorrer tanto com a ingestão de dose letal única, ou com doses menores por vários dias consecutivos.

No entanto, doses diárias de 0,625 e 1,25 g/kg durante 95 dias, não produziram alterações clínico-patológicas. Através desses dados pode-se afirmar que esta planta não é capaz de provocar cirrose hepática em bovinos, como ocorre com *C. laevigatum*, que, quando ingerido pelos bovinos em subdoses, pode produzir lesões hepáticas de caráter crônico (Döbereiner et al. 1969).

Agradecimentos. - Agradecemos à Dra. Lúcia Freire de Carvalho, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação do material botânico, ao Dr. Carlos H. Tokarnia, UFRRJ e ao Dr. Paulo Vargas Peixoto, UFSM, pela revisão do trabalho e ao CNPq, pela ajuda financeira.

REFERÊNCIAS

- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Canella C.F.C. 1969. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht., a causa de mortandades em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 4:165-193.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Pinheiro M.H. 1986. Intoxicação por *Cestrum parqui* (Solanaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 6(4):111-115.

NÍVEIS DE COBRE EM FÍGADOS DE BOVINOS NO SUL DO RIO GRANDE DO SUL¹

EDUARDO FERNANDES BONDAN², FRANKLIN RIET-CORREA^{2,4}, SERGIO M. GIESTA³

ABSTRACT.- Bondan E.F., Riet-Correa F. & Giesta S.M. 1991. [Copper levels in bovine livers in southern Rio Grande do Sul, Brazil.] Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):75-80. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, UFPel, Pelotas, RS 96100, Brazil.

The levels of copper of 365 bovine livers were determined by atomic absorption spectrophotometry. Two hundred and sixty-six samples were obtained at slaughter-houses and the other 99 from necropsies. All the samples were collected from animals raised in southern Rio Grande do Sul. The area studied was divided in four zones: Litoral, Encosta do Sudeste, Serra do Sudeste and Campanha. Copper concentrations of <25 ppm (dry basis) were detected in 31.34% and 31.16% of slaughtered cows and bullocks, respectively, and in 36.36% of necropsy materials, showing marked depletion of this element. Nine samples from necropsies had levels lower than 5 ppm (d.b.); eight were from animals that died suddenly, suggesting an association between the death and low levels of copper. Livers obtained from necropsies and slaughtered cows, which came from Litoral and Encosta do Sudeste, both localized near the Lagoa dos Patos and Lagoa Mirim, had mean copper concentrations significantly lower than those from Serra do Sudeste.

INDEX TERMS: Copper, liver copper levels, hypocuprosis, mineral deficiencies, bovines.

SINOPSE.- Trezentas e sessenta e cinco amostras de fígado bovino, provenientes de animais da área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico, da Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, tiveram seus níveis de cobre determinados por espectrofotometria de absorção atômica em chama de acetileno. Desse total, 266 amostras, incluindo vacas e novilhos, foram coletadas de abatedouros e 99 eram materiais de necropsia, estocados nos anos de 1986, 1987 e primeiro semestre de 1988. A área estudada foi dividida para a realização da amostragem e análise dos resultados em 4 zonas, incluindo Litoral, Encosta do Sudeste, Serra do Sudeste e Campanha. Concentrações iguais ou inferiores a 25 partes por milhão (base seca) foram encontradas em 31,34% e 31,16% dos fígados de vacas e novilhos de abate, respectivamente, e em 36,36% de materiais de necropsia, evidenciando uma marcada depleção dos níveis hepáticos do elemento. De 9 fígados de animais necropsiados que tiveram níveis inferiores a 5 ppm (b.s.), 8 foram provenientes de bovinos que apresentaram morte súbita, sugerindo que o quadro clínico seja devido à carência de cobre. Esse fato evidencia que os baixos níveis do elemento observados na área podem resultar em estados carências, com presença de sinais clínicos e/ou perda na produção.

Os fígados de bovinos necropsiados e de vacas de abate, provenientes do Litoral e da Encosta do Sudeste, zonas essas localizadas próximas às Lagoas Mirim e dos Patos, apresentaram concentrações médias de cobre significativamente mais baixas que na Serra do Sudeste.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Cobre, níveis hepáticos de cobre, hipocuprose, deficiências minerais, bovinos.

INTRODUÇÃO

Cobre é um dos elementos-traço reconhecidos como essenciais aos organismos animais e vegetais. O reconhecimento da indispensabilidade desse mineral baseia-se na observação de sua ocorrência universal em materiais biológicos, na identificação de processos metabólicos dos quais participa diretamente ou sobre os quais exerce influência e na descrição e demonstração experimental do fato de a deficiência de cobre produzir em plantas e animais manifestações características que podem, por sua vez, ser aliviadas ou prevenidas com a suplementação do elemento (Cunningham 1946).

A deficiência de cobre, também denominada hipocuprose, cursa nos animais com uma ampla variedade de manifestações, as quais variam de acordo com a idade, o sexo, a espécie animal, a severidade e a duração desse estado.

Em ruminantes, diversas doenças endêmicas atribuídas à deficiência de cobre são descritas nas mais diversas partes do mundo, recebendo denominações locais e causando graves prejuízos. Mesmo quando a deficiência é

¹ Aceito para publicação em 24 de maio de 1991.

Financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Baseado na tese de mestrado, apresentada pelo primeiro autor, do Curso de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

² Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, Univ. Fed. Pelotas, Pelotas, RS 96100.

³ Faculdade de Engenharia Química, Fundação Univ. Rio Grande, RS 96200.

⁴ Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

mais branda ela pode causar igualmente sérias perdas econômicas, a partir do momento que reduz a produtividade dos animais, o que pode, com frequência, passar despercebido, e produz sintomas inespecíficos, como crescimento retardado, perda de peso corporal, redução da produção leiteira e baixa fertilidade (Blood & Radostits 1989).

As concentrações hepáticas de cobre constituem índices sensíveis a baixos aportes do elemento e fornecem valioso auxílio no diagnóstico de hipocupose (Underwood 1977).

No Brasil, severa deficiência de cobre foi identificada no delta do Rio Parnaíba, nos Estados do Piauí e Maranhão; em bovinos é responsabilizada de estar envolvida na etiologia de diversos quadros clínicos, entre eles uma doença conhecida como "ronca", caracterizada por respiração ruidosa; em ovinos afeta cordeiros recém-nascidos ou jovens, causando uma doença, similar a ataxia enzoótica, conhecida popularmente como "escancho" (Tokarnia et al. 1966, 1968, Tokarnia & Döbereiner 1973). Enfermidade idêntica à "ronca" foi descrita na região do litoral norte do Estado do Rio de Janeiro com o nome vulgar de "mal da ronqueira" ou "mal do roncado", em bovinos apresentando respiração ruidosa e emagrecimento progressivo até a morte (Tokarnia et al. 1971, Tokarnia & Döbereiner 1973).

Níveis hepáticos deficientes e/ou marginais do elemento, considerados como tais, respectivamente, níveis de 0 a 50 e de 50 a 100 ppm (b.s.), foram observados em toda a região entre a Serra do Mar e o Oceano Atlântico, no Estado de Santa Catarina; no Sul do Estado do Rio de Janeiro; no Município de Jaciara, no Estado do Mato Grosso; no interior do Estado do Piauí; na Ilha de Marajó, no Pará, e na região de mata do Município de Macapá, no Território do Amapá (Tokarnia et al. 1968, 1971, Tokarnia & Döbereiner 1973).

No Rio Grande do Sul, amostras de fígado de seis bovinos do Município de Santa Vitória do Palmar apresentaram níveis de 44,3; 55,1; 58,7; 72,7; 113,3; e 115,8 ppm (b.s.), a partir de um estudo realizado para identificação de uma doença de etiologia desconhecida, responsável por grande mortalidade na região (Bauer et al. 1964), possivelmente botulismo de acordo com a descrição fornecida, em virtude da concomitante ocorrência de severa deficiência de fósforo na região (Tokarnia & Döbereiner 1973).

O presente trabalho pretende, através da determinação dos níveis desse mineral em fígados de bovinos, avaliar a situação dos rebanhos quanto às reservas de cobre na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (L.R.D.), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), investigando a possibilidade da ocorrência de estados de depleção do elemento, o que poderia estar, de alguma forma, relacionado com os problemas de baixa produtividade da pecuária nessa área, com o fim de se poder indicar medidas profiláticas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram determinados os níveis de cobre de 365 amostras de fígado bovino. Desse total, 99 pertenciam a materiais de necropsias de rotina, de animais que morreram das mais diversas causas, realizadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), estocados em formol a 10%, durante os anos de 1986, 1987 e primeiro semestre de 1988.

As 266 amostras restantes foram obtidas em abatedouros da região ao longo de aproximadamente 16 meses, de abril de 1987 a julho de 1988, sendo 199 provenientes de novilhos e 67, de vacas.

De cada fígado coletado ao abate, um pedaço de cerca de 100 g do tecido, obtido do lobo caudado, foi posto em saco plástico individual, sendo as amostras, posteriormente, congeladas.

Para a amostragem dividiu-se a área de influência do LRD em 4 zonas:

- Litoral, compreendendo os municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar;
- Encosta do Sudeste, compreendendo os municípios de Tapera, Camaquã, São Lourenço do Sul, Pelotas, Capão do Leão, Jaguarão e Arroio Grande;
- Serra do Sudeste, compreendendo os municípios de Canguçu, Pedro Osório, Pinheiro Machado, Piratini e Herval;
- Campanha, compreendendo os municípios de Bagé e Dom Pedrito.

A distribuição e delimitação das zonas utilizadas no trabalho podem ser vistas na Fig. 1.

O número total de amostras obtidas é apresentado no Quadro 1, junto com os materiais provenientes de necropsia.

As amostras coletadas ao abate foram distribuídas da forma mais equitativa possível entre seus municípios componentes e tomando-se não mais que dois animais de um mesmo estabelecimento.

Porção de cada amostra de fígado obtida foi cortada em pequenos pedaços, que foram secados a 120°C por 24 horas, e triturados digerindo-se 1 g do pó seco resultante com 6 ml de HNO₃ conc.⁵ e 1 ml de HC10₄ conc.⁶ em recipiente de teflon (3,5 x 5 cm) com tampa, sobre placa aquecedora a 130°C por, aproximadamente, 6 horas.

Transferiu-se o produto da digestão a balão volumétrico de 25 ml e completou-se o volume com HNO₃ 1%.

A cada 20 amostras preparadas usou-se um controle externo, mediante digestão nitroperclórica de 0,5 g do padrão de fígado bovino⁷, seguindo-se idêntico procedimento ao descrito anteriormente.

A determinação dos níveis de cobre nas amostras e controles externos foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica⁸ em chama de ar-acetileno, usando-se padrões de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 ppm, preparados, por sua vez, a partir de solução-padrão de estoque de 1000 ppm de cobre⁹.

Os resultados dos níveis hepáticos de cobre em materiais de necropsia, em vacas e em novilhos de abate, provenientes das di-

⁵ Ácido nítrico mfn. 65%, P.A., Merck. Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ.

⁶ Ácido perclórico 70%, A.C.S., Carlo Erba. Carlo Erba Divisione Chimica, Milão, Itália.

⁷ Standard Reference Material (SRM 1577a). Bovine Liver (158 ± 7 µg Cu/g). U.S. Department of Commerce, National Bureau of Standard, Washington, D.C. 20234.

⁸ Espectrofotômetro de absorção atômica Varian modelo AA-175, com lâmpada de cátodo oco de cobre.

⁹ Cobre solução-padrão, Tritisol (1,000 g ± 0,002g Cu). Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ.

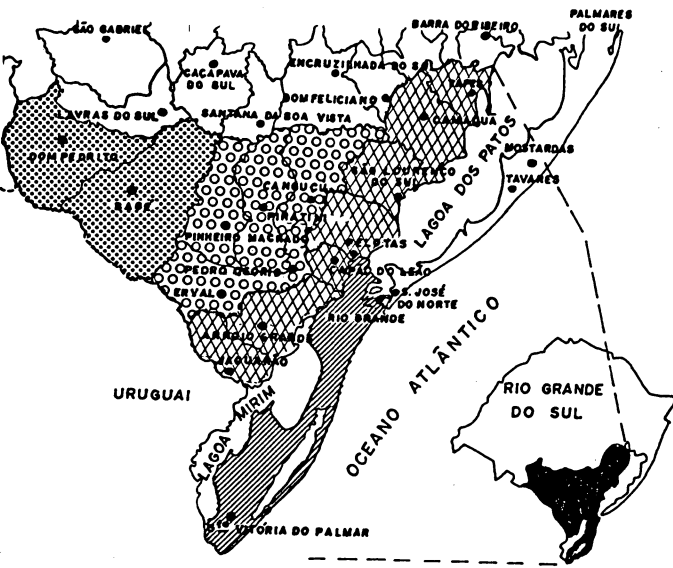


Fig. 1. Região sul do Rio Grande do Sul e zonas de amostragem de fígados de bovinos.

Quadro 1. Número de amostras de fígado bovino obtidas ao abate (novilhos e vacas) e por necropsia, em relação às 4 zonas da área de influência do LRD

Animais	Número de amostras de fígado obtidas				Total
	Litoral	Encosta do Sudeste	Serra do Sudeste	Campanha	
Novilhos abatidos	42	51	58	48	199
Vacas abatidas	14	17	22	14	67
Bovinos necropsiados	18	67	10	4	99
Total	74	135	90	66	365

ferentes zonas da área de influência do LRD, foram avaliados por análise de variância e comparados pelo teste de Tukey.

Amostras com níveis de cobre até 25 ppm (b.s.) foram consideradas como deficientes; de 26 a 99 ppm (b.s.), como marginais; e de 100 a 400 ppm (b.s.), como normais. Avaliou-se pelo teste de X² as diferenças quanto à frequência de níveis de cobre hepático identificados como deficientes, marginais e normais nas distintas zonas.

Amostras que apresentaram concentrações de cobre maiores que 400 ppm (b.s.) foram desconsideradas para o cálculo da média e do desvio-padrão, bem como para o desenvolvimento da análise de variância, do teste de Tukey e do teste de X².

Nos materiais de necropsia, a análise de variância, o teste de Tukey e o teste de X², foram realizados em relação apenas a três zonas (Litoral, Encosta do Sudeste e Serra do Sudeste), uma vez que o número de amostras provenientes da Campanha foi bastante reduzido.

RESULTADOS

Os níveis hepáticos de cobre encontrados nas 4 zonas estudadas em bovinos necropsiados e vacas e novilhos de abate se apresentam no Quadro 2.

Os níveis hepáticos de cobre em novilhos e vacas de abate são mostrados no Quadro 3.

Quadro 2. Níveis médios de cobre (ppm) em fígados de bovinos de diferentes categorias

Região	Bovinos necropsiados $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Categorias	
		Vacas de abate $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Novilhos de abate $\bar{X} \pm S\bar{X}$
Litoral	50 ± 16,1a ^a	52 ± 20,4a	74 ± 10,5a
Encosta do Sudeste	60 ± 7,8a	53 ± 12,2a	86 ± 12,4a
Serra do Sudeste	137 ± 36,9b	145 ± 17,3b	92 ± 9,3a
Campanha	208 ± 71,6 ^b	94 ± 19,7ab	73 ± 8,1a

^a Letras diferentes indicam que as médias diferem significativamente entre si (P < 0,01) pelo teste de Tukey.

^b A zona da Campanha não teve sua média comparada com as demais em razão do pequeno número de amostras da mesma.

Quadro 3. Concentrações de cobre (em p.p.m. - base seca) em fígados de vacas e novilhos de abate^a

Categoria	Cobre	
	$\bar{X} \pm s$	n
Vacas	93,4 ± 83,2	67
Novilhos	81,8 ± 70,2	188

^a Os resultados de vacas e novilhos não diferem significativamente pelo teste F (P < 0,05).

No Quadro 4, é apresentada a distribuição dos resultados da determinação dos níveis de cobre nos materiais de necropsia e nas amostras de vacas e novilhos obtidos ao abate nas 4 classes consideradas.

Na Fig. 2 é mostrada a distribuição dos resultados das análises de cobre hepático nas zonas da área de influência do LRD, considerando-se 4 classes, relativas a níveis deficientes (0-25 ppm - b.s.), marginais (26-99 ppm - b.s.), normais (100-400 ppm - b.s.) e excedentes (> 400 ppm - b.s.).

As frequências de níveis deficientes, marginais e normais por zonas foram significativamente diferentes (P = 0,0068) no caso dos resultados de vacas de abate, não se observando, porém, diferenças significativas nos materiais de necropsia (P = 0,0664) e nos novilhos provenientes de abatedouros (P = 0,3963).

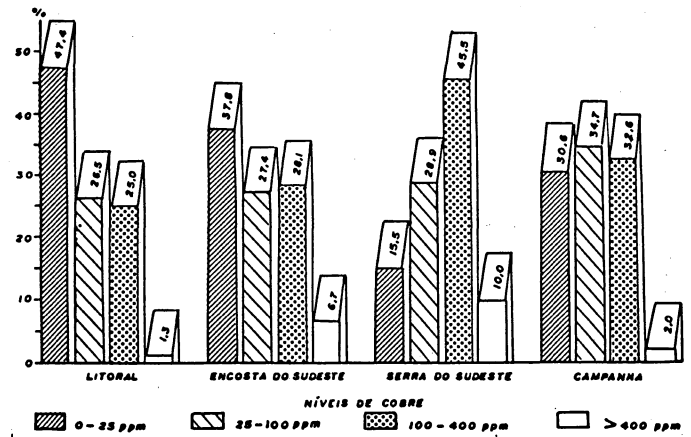


Fig. 2. Distribuição dos diferentes níveis de cobre hepático em bovinos das 4 regiões estudadas.

Quadro 4. Distribuição dos resultados da determinação dos níveis de cobre hepático por categoria estudada

Categoria	Níveis de Cu (em p.p.m - b.s.)				Total				
	0-25		26-99			100-400		> 400	
	n ^a	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)
Bovinos necropsiados	36	(36,36%)	27	(27,27%)	27	(27,27%)	9	(9,09%)	99
Vacas de abate	21	(31,34%)	20	(29,85%)	26	(38,81%)	0	(0%)	67
Novilhos de abate	62	(31,16%)	57	(28,64%)	69	(34,67%)	11	(5,53%)	199
Total	119	(32,60%)	104	(28,49%)	122	(33,43%)	20	(5,48%)	365

^a Número de amostras incluídas na classe considerada.

De 9 amostras de bovinos necropsiados que tiveram níveis inferiores a 5 ppm (b.s.), 8 (4 de Rio Grande, 3 de Arroio Grande e 1 de Tapes) eram pertencentes a animais com quadro de morte súbita, caracterizado por ocorrer quando os animais eram movimentados, caindo repentinamente e apresentando tremores musculares e morte após alguns segundos ou minutos (Riet-Correa et al. 1988).

Nas amostras de fígado coletadas em abatedouros, níveis hepáticos de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.), foram detectados em 2 vacas provenientes do Município de Santa Vitória do Palmar e em 1 novilho de Arroio Grande.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no trabalho mostram que 32,6% do total das amostras de fígado analisadas apresentaram níveis de cobre iguais ou inferiores a 25 ppm (b.s.). Apesar da inexistência de um acordo entre diversos autores com relação aos níveis que indicam seguramente estados carenciais do elemento em bovinos, os valores considerados no presente trabalho como sugestivos de deficiência são mencionados por Hill et al. (1962) e Ammerman (1970). Uma vez que Corrêa (1955), Tokarnia et al. (1959), Ammerman (1970) e Underwood (1977) estabelecem como normais concentrações marcadamente superiores, entre 100 a 400 ppm (b.s.), considerou-se como marginais níveis de 26 a 99 ppm.

Langlands et al. (1987), em trabalho similar a este, adotaram como indicativos de carência de cobre níveis inferiores a 7,2 ppm (b.s.), enquanto que Smith & Coup (1973) observaram que, em rebanhos leiteiros, animais com níveis hepáticos situados entre 5 e 10 ppm (b.s.) não apresentavam sinais clínicos de hipocuprose. Esses eram freqüentemente evidenciados quando as concentrações eram inferiores a 5 ppm.

Suttle (1986) ressalta o fato de que os níveis hepáticos de cobre constituem um critério de armazenamento, indicando, quando baixos, mais um estado de depleção do que de carência. Assim, as baixas concentrações encontradas em algumas amostras deste trabalho mostram inicialmente a existência de um estado de depleção das reservas do mineral do fígado, órgão que constitui o sítio mais importante de armazenamento do elemento no organismo animal, observando-se também que valores baixos foram identificados tanto em materiais provenientes de

bovinos necropsiados quanto em amostras de fígado obtidas em abatedouros e pertencentes a animais sadios e em bom estado de manutenção.

Como níveis hepáticos de cobre indicativos da ocorrência de hipocuprose clínica ou subclínica ainda não foram estabelecidos com precisão e clareza, a carência será demonstrada somente nos casos em que as baixas concentrações estejam associadas à observação de doenças comprovadamente causadas pela deficiência do mineral ou a uma melhoria da produção como resposta à suplementação com o elemento.

Nesse sentido, trabalhos recentes de suplementação parenteral com cobre, realizados em um estabelecimento do Município de Rio Grande, evidenciaram um ganho de peso significativamente maior ($P < 0,05$) em vaquilha suplementadas (85,8kg de ganho) em relação aos animais testemunhas (80,6 kg de ganho) no período de outubro de 1987 a abril de 1988 (Riet-Correa et al. 1988, dados não publicados), o que comprova que no Estado do Rio Grande do Sul existem áreas onde os baixos níveis de cobre determinam perdas na produção.

Além disso, observou-se que, dentre as determinações realizadas em materiais de bovinos necropsiados, níveis de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.) foram encontrados em fígados de 8 animais, provenientes de 3 estabelecimentos localizados no Litoral e Encosta do Sudeste e que apresentaram um quadro de morte súbita, sugerindo que essas mortes possam estar associadas à carência de cobre (Riet-Correa et al. 1988). Nesses casos não foi possível estudar as lesões macroscópicas e histológicas em virtude de as carcaças não estarem mais em condições apropriadas em consequência da autólise pós-morte. O quadro clínico observado é similar ao de uma doença endêmica descrita na Austrália em vacas leiteiras e conhecida como "falling disease", a qual se caracteriza por morte súbita, sendo considerada como manifestação terminal de severa deficiência primária de cobre (Bennetts et al. 1948).

O presente trabalho não permite determinar se os baixos níveis de cobre hepático são devidos a uma carência do mineral nas pastagens, o que caracteriza uma deficiência primária do elemento, ou à presença de algum antagonista do cobre na dieta, notadamente molibdênio, capaz de afetar sua absorção e utilização pelo animal, constituindo a chamada deficiência secundária ou condicionada.

Em levantamento da composição mineral das pastagens

nativas do Estado do Rio Grande do Sul, Gavillon & Quadros (1970) não encontraram valores tóxicos de molibdênio, observando até mesmo baixos níveis nos municípios de Arroio Grande e Bagé. Por sua vez, valores de cobre inferiores a 5 ppm (b.s.) foram obtidos no verão em amostras de pastagens nativas dos municípios de Rio Grande, Bagé e Dom Pedrito, evidenciando a possibilidade de que as baixas concentrações hepáticas do elemento encontradas nos bovinos da área de influência do LRD, sejam devidas a deficiência do elemento no pasto.

Sulfato, zinco, cádmio, cálcio, chumbo, mercúrio, prata, ácido ascórbico e ácido fólico são citados igualmente como elementos antagonistas ao cobre (Underwood 1977, Quiroga 1982). Dessa forma, a complexidade dos fatores que podem estar relacionados com a hipocuprose revela a necessidade de que sejam realizados estudos adicionais no sentido de se determinar a possível participação dos antagonistas citados anteriormente como responsáveis pelos baixos níveis de cobre encontrados.

A alta variabilidade individual encontrada neste trabalho está em conformidade com resultados obtidos por Cunningham (1946), Tokarnia et al. (1968, 1971) e Bellanger (1968), tendo sido igualmente considerada por Underwood (1977) e Suttle (1986).

Níveis altos de cobre, similares aqueles descritos como tóxicos, foram vistos em algumas amostras. Nos materiais de necropsia analisados, pode-se atribuir tal fato à possibilidade da ocorrência de certas condições patológicas caracterizadas justamente pelo acúmulo de quantidades anormais do elemento no fígado. No homem, tuberculose, cirrose, carcinomas e doenças crônicas severas acompanhadas de anemia são alguns exemplos (Underwood 1977).

Por outro lado, amostragem obtida em abatedouros pode não ser representativa da população de determinada área, embora o seja em relação aos animais abatidos (Langlands et al. 1987). Animais deficientes tendem a ter seu crescimento corporal prejudicado, não atingindo o peso requerido para abate. Dessa forma, as concentrações hepáticas de cobre obtidas neste trabalho, ainda que baixas em muitas amostras, podem não representar a real situação do rebanho quanto ao elemento investigado, existindo a possibilidade de que em animais a pastoreio essas concentrações sejam ainda menores.

A análise dos resultados nas quatro áreas estudadas mostra que tanto fígados provenientes de bovinos necropsiados como aqueles provenientes de vacas de abate apresentaram níveis médios de cobre significativamente diferentes ($P < 0,01$), observando-se valores mais baixos no Litoral e na Encosta do Sudeste e mais altos na Serra do Sudeste. Os resultados obtidos na Campanha são inconclusivos devido ao processamento de um número reduzido de fígados de vacas e de bovinos necropsiados dessa zona.

As diferenças encontradas, porém, mostram claramente que os municípios do Litoral e da Encosta do Sudeste, localizados às margens das Lagoas Mirim e dos Patos,

onde ocorreram também as mortes súbitas associadas a baixos níveis de cobre, constituem as áreas onde a ocorrência de problemas devido a hipocuprose se torna mais provável. Tais zonas são similares às áreas descritas como deficientes em microelementos, dentre os quais o cobre, e que incluem os solos arenosos de planícies costeiras e lacustres (Blood & Radostits 1989), tal como os encontrados no Litoral e na Encosta do Sudeste.

Os resultados, pois, evidenciados neste trabalho mostram a existência de baixos níveis hepáticos de cobre em bovinos de toda a área de influência do LRD, indicando um estado de depleção das reservas do elemento no organismo animal, o que pode resultar em sinais clínicos de hipocuprose ou perdas na produção. Essa ocorrência de hipocuprose clínica ou subclínica depende provavelmente do modo como fatores nutricionais, climáticos e de manejo atuam e interagem. Uma vez que a presença clínica ou subclínica de hipocuprose pode afetar a produção animal, prejudicando o ganho de peso e o desempenho reprodutivo (Hidiroglou 1979) e face aos baixos valores hepáticos obtidos nas análises efetuadas, recomendamos a suplementação com cobre para bovinos de pastejo, em toda região, principalmente no Litoral e Encosta do Sudeste, onde foram observadas as mortes súbitas e houve ganho de peso significativo nos animais suplementados.

REFERÊNCIAS

- Ammerman C.B. 1970. Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: a review. *J. Dairy Sci.* 53(8):1097-1107.
- Bauer A.G., Santos A.G. dos & Mancuso P.C. 1964. Algumas observações sobre uma doença de bovinos no município de Santa Vitória do Palmar. In: III Reunião da Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Anais SOVERGS, p. 153-161.
- Bellanger J. 1968. Relations entre les taux de cuivre sanguin, hépatique et pileaire chez 250 bovins d'abattoir. *Rech. Vétér.* (1):127-130.
- Bennetts H.W., Beck A.B. & Harley R. 1948. The pathogenesis of "falling disease". Studies on copper deficiency in cattle. *Aust. Vet. J.* 24:237-244.
- Blood D.C. & Radostits O.M. 1989. *Veterinary Medicine*. 6th ed. Baillière Tindall, London, p. 1464.
- Corrêa R. 1955. Carência de cobalto em bovinos no Estado de São Paulo. *Revta. Bras. Biol.* 15(3):309-313.
- Cunningham I.J. 1946. Copper deficiency in cattle and sheep on peatlands. *N.Z. J. Sci. Tech., Sect. A*, 27:381-396.
- Gavillon O. & Quadros A.T. 1970. Levantamento da composição mineral das pastagens nativas do Rio Grande do Sul. Depto Prod. Animal, Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 8.
- Hill R., Thambyah R., Wan S.P. & Shanta C.S. 1962. The copper status of cattle and buffalo in Malaya. *J. Agric. Sci.* 59:409-414.
- Hidiroglou M. 1979. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. *J. Dairy Sci.* 62:1195-1206.
- Langlands J.P., Donald G.E. & Smith A.J. 1987. Analysis of data collected in a residue survey: copper and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep and cattle. *Aust. J. Exp. Agric.* 27:485-491.
- Quiroga M.A. 1982. Deficiencia de cobre em bovinos - Actualización bibliográfica (1ª parte) *Gac. Vet.* 371:513-530.
- Riet-Correa F., Méndez M.C., Schild A.L., Brod C.S. & Bondan E.F. 1988. Mortes súbitas em bovinos associados à carência de cobre. In: *Laboratório Regional de Diagnóstico, doenças diagnosticadas no ano de 1987*, Editora e Gráfica Universitária, UFPel, Pelotas, p. 24-26.
- Smith B.P. & Coup M.R. 1973. Hypocuprosis: a clinical investigation of dairy herds in Northland. *N.Z. Vet. J.* 21:252-258.

- Suttle N.F. 1986. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet. Rec.* 119:148-152.
- Tokarnia C.H., Mitidieri E. & Affonso O.T. 1959. Dados analíticos sobre valores de cobre e ferro encontrados em fígados de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de Janeiro*, 2:33-37.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães J.A. 1966. Ataxia enzoótica em cordeiros na costa do Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:375-382.
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A. & Döbereiner J. 1968. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no Nordeste e Norte do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 3:351-360.
- Tokarnia C.H., Guimarães J.A., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1971. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 6:61-77.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1973. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil, a review. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 8(Supl.):1-6.
- Underwood E.J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 4th ed. Academic Press, New York, p. 545.