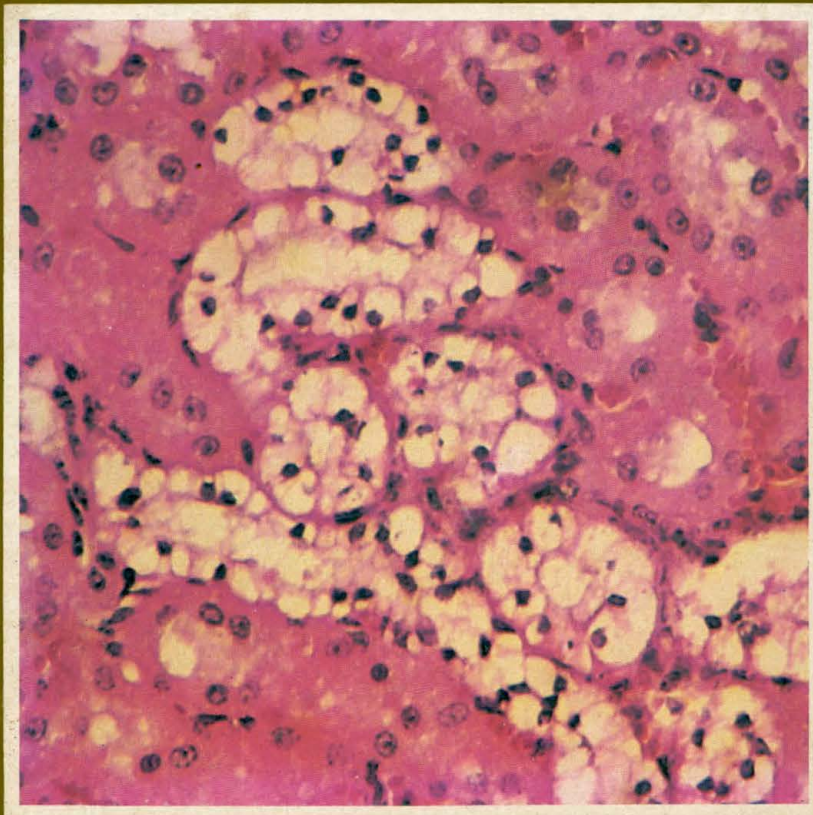


ISSN 0100-736X

Volume 10 Números 1/2  
Jan/Jun 1990

# PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

**Brazilian Journal of Veterinary Research**



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

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

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

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

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

a) o *Título* do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;

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

c) a *Sinopse* deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, *Sinopse* e *Abstract* trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último número da revista);

d) a *Introdução* deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

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

f) em *Resultados* deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;

g) na *Discussão* os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

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

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

j) a lista de *Referências*, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as instruções de "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 corridamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo offício, 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 corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

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

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

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita 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 datilogradas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

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

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

*List of Contents*

Vol. 10, Nos. 1/2, Jan./Jun. 1990

- Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brasil.** [Plantas tóxicas afetando a função cardíaca de bovinos no Brasil.] *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner* . . . . . 1-10
- Reprodução experimental da colibacilose suína em leitões.** [Experimental reproduction of colibacillosis in piglets.] *A.F.P. Castro, I.A. Piffer, M.B. Serafim, D.S. Leite & I.A.G. Colli* . . . 11-18
- Susceptibilidade de *Haemonchus* spp. em bovinos ao tratamento anti-helmíntico com albendazole e oxfendazole.** [Susceptibility of *Haemonchus* spp. in cattle to anthelmintic treatment with Albendazole and Oxfendazole.] *A.C. Pinheiro & F.A.M. Echevarria* . . . . . 19-21
- Prevalência de rinite atrófica e de pneumonia em granjas associadas a sistemas de integração de suínos, no Estado de Santa Catarina.** [Prevalence of atrophic rhinitis and pneumonia in farms associated to swine integration systems in the State of Santa Catarina.] *J. Sobestiansky, I.A. Piffer & A.R. Freitas* . . . . . 23-26
- Efeito de espiramicina na profilaxia da “cara inchada” dos bovinos.** [Effect of spiramycin in the prophylaxis of “cara inchada” of cattle.] *J. Döbereiner, I.V. Rosa, I.S. Dutra, A.R. Pereira & H. Blobel* . . . . . 27-29
- Prevalência do vírus da doença de Newcastle em uma comunidade de aves ornamentais.** [Prevalence of the Newcastle disease virus in an ornamental bird flock.] *J.N.S.S. Couceiro, R.D. Machado, E.S.S. Couceiro & M.C. Cabral* . . . . . 31-33
- Intoxicação experimental por *Senecio desiderabilis* (Compositae) em bovinos.** [Experimental poisoning of cattle by *Senecio desiderabilis* (Compositae).] *C.H. Tokarnia, A. Gava, P.V. Peixoto, L. Stolf, L.B. Consorte & J. Döbereiner* . . . . . 35-42
- Cetose em vacas de corte em gestação.** [Ketosis in pregnant beef cows.] *F. Riet-Correa, A.L. Schild & M.C. Méndez* . . . . . 43-45

Vol. 10, Nos. 3/4, Jul./Dez. 1990

- Intoxicação por *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) em bovinos.** [*Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) poisoning in cattle.] *C.S.L. Barros, C. Pilati, M.B. Andujar, D.L. Graça, L.F. Irigoyen, S.T. Lopes & C.F. Santos* . . . . . 47-58
- Avaliação do efeito imunoprotetor de diferentes vacinas contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos.** [Levels of immunoprotection induced in goats against *Corynebacterium pseudotuberculosis* using several types of vaccines.] *D.C. Carvalho, R. Schaer, C. Brodskyn, I.L.O. Nascimento, S. Freire & R. Meyer* . . . . . 59-62
- Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* em bovinos e aves.** [Experimental poisoning of cattle and chicks by five *Senecio* species.] *M.C. Méndez, F. Riet-Correa, A.L. Schild & W. Martz* . . . . . 63-69
- Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis* (Solanaceae) em bovinos, ovinos e caprinos.** [Experimental poisoning of bovines, ovines and goats by *Sessea brasiliensis* (Solanaceae).] *J.H.F. Chaulet, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia* . . . . . 71-84
- Influência do nível protéico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*.** [Effect of pigs diet protein level and/or acidification in the *Escherichia coli* post-weaning diarrhea.] *N. Mores, J.L.L. Marques, J. Sobestiansky, A. Oliveira & L.S.S. Coelho* . . . . . 85-88

ÍNDICE DOS AUTORES  
Author Index

Andujar M.B. 47  
Barros C.S.L. 47  
Blobel H. 27  
Brodskyn C. 59  
Cabral M.C. 31  
Carvalho D.C. 59  
Castro A.F.P. 11  
Chalet J.H.F. 71  
Coelho L.S.S. 85  
Colli I.A.G. 11  
Couceiro E.S.S. 31  
Couceiro J.N.S.S. 31  
Consorte L.B. 35  
Döbereiner J. 1, 27, 35  
Dutra I.S. 27

Echevarria F.A.M. 19  
Freire S. 59  
Freitas A.R. 23  
Gava A. 35  
Graça D.L. 47  
Irigoyen L.F. 47  
Leite D.S. 11  
Lopes S.T. 47  
Machado R.D. 31  
Marques J.L.L. 85  
Martz W. 63  
Méndez M.C. 43, 63  
Meyer R. 59  
Mores N. 85  
Nascimento I.L.O. 59

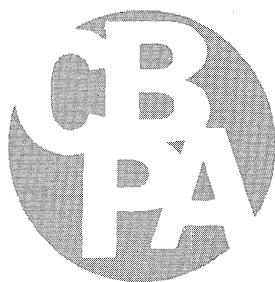
Oliveira A. 85  
Peixoto P.V. 1, 35, 71  
Pereira A.R. 27  
Piffer I.A. 11, 23  
Pilati C. 47  
Pinheiro A.C. 19  
Riet-Correa F. 43, 63  
Rosa I.V. 27  
Santos C.F. 47  
Schaer R. 59  
Schild A.L. 43, 63  
Serafim M.B. 11  
Sobestiansky J. 23, 85  
Stolf L. 35  
Tokarnia C.H. 1, 35, 71

ISSN 0100-736X

# PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

**Brazilian Journal of Veterinary Research**

VOLUME 10, 1990



**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, *Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 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 UFRJ

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, Adayr Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

#### *Assessoria Científica (Advisory Board)*

Carlos Cypriano P. Arteche, 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, Embrapa - NPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851 (Brasil); tel. (021) 682-1081 e 682-1082; telex (21) 32723 EBPA BR.

#### PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS



A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

Este fascículo foi composto, em parte,  
com recursos concedidos pela Fundação de Amparo à  
Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ

Figura da capa: Degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais na intoxicação por *Palicourea marcgravii* St.Hil. (fam. Rubiaceae) no bovino. (Tokarnia et al., p. 1)

*Cover illustration: Hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules in the kidney, in poisoning of cattle, by Palicourea marcgravii St.Hil. (Rubiaceae). (Tokarnia et al., p. 1)*

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)

# 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 10

Janeiro/Junho 1990

Números 1/2

## SUMÁRIO

Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil (Plantas tóxicas afetando a função cardíaca de bovinos no Brasil). <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto &amp; J. Döbereiner</i> .....	1-10
Reprodução experimental da colibacilose suína em leitões. <i>A.F.P. Castro, I.A. Piffer, M.B. Serafim, D.S. Leite &amp; I.A.G. Colli</i> .....	11-18
Susceptibilidade de <i>Haemonchus</i> spp. em bovinos ao tratamento anti-helmíntico com albendazole e oxfendazole. <i>A.C. Pinheiro &amp; F.A.M. Echevarria</i> .....	19-21
Prevalência de rinite atrófica e de pneumonia em granjas associadas a sistemas de integração de suínos, no Estado de Santa Catarina. <i>J. Sobestiansky, I.A. Piffer &amp; A.R. Freitas</i> .....	23-26
Efeito de espiramicina na profilaxia da “cara inchada” dos bovinos. <i>J. Döbereiner, I.V. Rosa, I.S. Dutra, A.R. Pereira &amp; H. Blobel</i> .....	27-29
Prevalência do vírus da doença de Newcastle em uma comunidade de aves ornamentais. <i>J.N.S.S. Couceiro, R.D. Machado, E.S.S. Couceiro &amp; M.C. Cabral</i> ..	31-33
Intoxicação experimental por <i>Senecio desiderabilis</i> (Compositae) em bovinos. <i>C.H. Tokarnia, A. Gava, P.V. Peixoto, L. Stolf, L.B. Consorte &amp; J. Döbereiner</i> .....	35-42
Cetose em vacas de corte em gestação. <i>F. Riet-Correa, A.L. Schild &amp; M.C. Méndez</i> ..	43-45
Tópico: Aborto causado por leptospirosas – Diagnóstico e medidas de controle da leptospirose em bovinos	v-vi

## CONTENTS

Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto &amp; J. Döbereiner</i> .....	1-10
Experimental reproduction of colibacillosis in piglets. <i>A.F.P. Castro, I.A. Piffer, M.B. Serafim, D.S. Leite &amp; I.A.G. Colli</i> .....	11-18
Susceptibility of <i>Haemonchus</i> spp. in cattle to anthelmintic treatment with Albendazole and Oxfendazole. <i>A.C. Pinheiro &amp; F.A.M. Echevarria</i> .....	19-21
Prevalence of atrophic rhinitis and pneumonia in farms associated to swine integration systems in the State of Santa Catarina. <i>J. Sobestiansky, I.A. Piffer &amp; A.R. Freitas</i> ..	23-26
Effect of spiramycin in the prophylaxis of “Cara inchada” of cattle. <i>J. Döbereiner, I.V. Rosa, I.S. Dutra, A.R. Pereira &amp; H. Blobel</i> .....	27-29
Prevalence of the Newcastle disease virus in an ornamental bird flock. <i>J.N.S.S. Couceiro, R.D. Machado, E.S.S. Couceiro &amp; M.C. Cabral</i> .....	31-33
Experimental poisoning of cattle by <i>Senecio desiderabilis</i> (Compositae). <i>C.H. Tokarnia, A. Gava, P.V. Peixoto, L. Stolf, L.B. Consorte &amp; J. Döbereiner</i> .....	35-42
Ketosis in pregnant beef cows. <i>F. Riet-Correa, A.L. Schild &amp; M.C. Méndez</i> .....	43-45

## EDITORIAL

O Colégio Brasileiro de Patologia Animal, através de sua revista "Pesquisa Veterinária Brasileira", vem testemunhando o progresso tecnológico desenvolvido pelos pesquisadores do País na área da Saúde Animal, com a publicação dos resultados nestes 10 últimos anos. A análise criteriosa desses trabalhos mostra que existe um potencial técnico de elevado nível em várias equipes que poderiam orientar e coordenar ações no diagnóstico e combate de doenças que limitam a exploração pecuária em vários sentidos. Poderiam ser mencionados, como exemplos, a tuberculose, a brucelose e a mastite bovina, para cujo controle existem tecnologia e equipes preparadas, faltando porém um elemento catalizador para mobilizar ações. Os recursos aparecem quando há vontade política e determinação.

JÜRGEN DÖBEREINER  
Editor

42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Porto Alegre, RS, 8-13.7.1990

(Informações: SBPC, Av. Pedroso de Moraes 1512, Caixa Postal 11008 05499, São Paulo, SP 05420; Tel. (011) 211-0495, 212-0740, Telex 11-81681 SBCH)

First Brazilian Symposium on "New Biotechniques applied to Domestic Animals", Belo Horizonte, MG, 10-14.7.1990

(Informações: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Av. Raja Gabaglia 245, Belo Horizonte, MG 30380; Tel. (031) 335-9759, Telex 1059 MA)

XII Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, La Habana, Cuba, 30.7.-4.8.1990  
(Comité Organizador XII Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, Paseo 604 e/25 y 27, Habana 4, Cuba; Tel.  
30-8064 y 30-8076, Telex 051-1333)

XVI Congresso Mundial de Buiatria e VI Congresso Latino-Americano de Buiatria, Salvador, Bahia,  
13-17.8.1990

(Inscrições: INTERLINK Consultoria & Eventos Ltd., Av. Centenário 2883, Ed. Victória Center, s. 209, Salvador,  
40160; Tel. (071) 247-2727, Fax (071) 245-5633)

First World Congress on Laboratory Animal Science e II Congresso Brasileiro de Animais de Laboratório,  
Caxambu, MG, 9-14.9.1990

(Inscrições: Coordenação do Congresso, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde,  
Av. Brasil 4365, Caixa Postal 926, Rio de Janeiro, RJ 21040; Tel. (021) 270-1072, Telex (21) 36851, Fax 005521-5909741)

## ABORTO CAUSADO POR LEPTOSPIRAS – DIAGNÓSTICO E MEDIDAS DE CONTROLE DA LEPTOSPIROSE EM BOVINOS

Vários agentes infecciosos são responsáveis por sérios problemas na reprodução e que podem culminar com surtos de abortos e conseqüente infertilidade em rebanhos. A elucidação da etiologia dos abortos não tem sido possível em um número elevado de casos, mesmo em laboratórios bem equipados.

A aparente falha do diagnóstico laboratorial deve-se ao seguinte:

- a) Muitos abortos não são causados por agentes infecciosos;
- b) O material para exame é impróprio por falha na coleta ou remessa ao laboratório;
- c) Outras vezes são utilizados procedimentos incorretos de diagnóstico laboratorial por falta de anamnese; pois muito importante para o êxito do diagnóstico são os dados anamnéticos envolvendo o histórico da doença, o manejo dos animais e os achados clínicos e anátomo patológicos que orientam e simplificam o trabalho.

Dentre as doenças que causam abortos destaca-se também a leptospirose, cuja importância tende a crescer na exploração pecuária à medida que se intensifica a prática da criação ou manutenção de animais em confinamento.

Os microrganismos do gênero *Leptospira* apresentam largo espectro de patogenicidade. Em várias espécies animais produzem infecções clínicas ou subclínicas e muitos destes se tornam portadores assintomáticos em que as leptospirosas persistem alojadas nos rins, durante períodos variáveis e constante ou intermitentemente são eliminados pela urina. Estes animais se tornam fontes de contágio para outros se condições de higiene e ecológicas forem favoráveis.

Mas a pesquisa de aglutininas no soro-sanguíneo tem valor diagnóstico relativo pois os anticorpos, após infecções por leptospirosas, persistem por longo tempo no sangue. Assim com um único exame não se pode saber se um determinado título é resíduo de uma infecção antiga ou o resultado de uma infecção recente. Por isto, em rebanhos expostos convem fazer anualmente um levantamento sorológico para acompanhar a dinâmica do nível dos anticorpos anti-leptospira e detectar a presença de novas infecções por outros sorovares. No caso de abortos, o diagnóstico da leptospirose é confirmado por exames pareados de soros colhidos com intervalos de 15 a 20 dias após o aborto. Nos animais recém-infectados o título aglutinante mostra uma alta significativa no 2º exame.

A identificação dos tipos de leptospira prevalente no rebanho e também na região serve para a composição de vacina a ser utilizada, pois não ocorre imunidade cruzada segura entre vários sorovares.

O controle da leptospirose num rebanho bovino exposto requer a adoção simultânea de medidas terapêuticas e profiláticas:

a) *Tratamento terapêutico dos animais clinicamente doentes.* A medicação mais indicada é pela dehidroestreptomicina na dose de 25 mg/kg de peso vivo, injetado por via i.m. O antibiótico tem maior eficácia se os animais forem medicados o mais precocemente possível. Em um foco de leptospirose, a detecção de infecções recentes deve ser feito por duas termometrias diárias dos bovinos expostos.

b) *Deteção e tratamento dos animais portadores assintomáticos da leptospirose.* Entre os bovinos reagentes, mormente entre aqueles mais recentemente infectados, encontram-se animais que, constante ou intermitentemente, eliminam leptospirosas pela urina, tornando-se assim fontes de contágio. Se as condições do meio e do manejo forem favoráveis para a disseminação da infecção, convem medicar todos os bovinos reagentes com uma aplicação de dehidroestreptomicina. Caso contrário, serão indicados os animais com títulos maiores. O monitoramento sorológico semestral ou anual mostrará a eficiência das medidas adotadas.

No bovino a leptospirose se manifesta através de abortos, natimortos, crias fracas com ou sem retenção de placenta; também podem ocorrer mastite e morte do animal. No entanto, nem sempre a infecção evolue necessariamente para este quadro clínico, dependendo principalmente do período de gestação e idade dos animais. Se a infecção ocorrer na segunda metade da gestação, a leptospira penetra mais facilmente através da placenta, induzindo a leptospirose fetal com a morte e o aborto ou parto a termo de crias fracas e pouco desenvolvidas. Summers et al. (1974) observaram também mortes fetais e abortos no 1º e último trimestre da gestação.

Os fetos abortados demonstram ter morrido na cavidade uterina entre 24-48 horas antes da expulsão, apresentando assim nos mais retardados, evidentes sinais de autólise. As principais alterações anátomo-patológicas dos fetos são os edemas subcutâneos e a presença de líquido hemorrágico nas cavidades torácica e abdominal. As membranas fetais também apresentam edemas. Nos casos em que há acentuada autólise, os órgãos parenquimatosos estão mais pálidos e com perda de brilho.

O diagnóstico laboratorial pode ser feito através do isolamento da leptospira diretamente do conteúdo estomacal ou dos órgãos parenquimatosos do feto abortado. A autólise fetal difi-

culta o isolamento do agente etiológico. Nestes casos a presença de leptospirosas pode ser demonstrada através da imunofluorescência direta ou pela coloração com sais de prata em cortes do rim ou de cotilédones da placenta.

Mais freqüentemente o diagnóstico da leptospirose é feito através da soro-aglutinação microscópica do soro da vaca que abortou, empregando-se como antígenos culturas dos sorotipos de leptospirosas que mais freqüentemente ocorrem na região ou no País. Em nosso meio são recomendados para o diagnóstico culturas de *Leptospira interrogans*, os sorovares *pomona*, *hardjo*, *wolfi*, *gripothyphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *canicola*, por serem os mais freqüentemente encontrados (Moreira et al. 1979).

c) *Imunoprofilaxia em rebanhos continuamente expostos à leptospirose.* Conhecendo-se o(s) sorovar(es) causador(es) dos abortos e/ou outros achados clínicos, recorre-se à imunização anual do rebanho com vacina que contem o(s) sorovar(es) em causa. As bacterinas provocam o aparecimento de anticorpos circulantes, cujos títulos declinam rapidamente após algumas semanas, mas protegem contra novas infecções por um período de cerca de 12 meses.

d) *Saneamento do meio ambiente em que as leptospirosas podem sobreviver.* Outros animais domésticos e silvestres podem ser portadores assintomáticos de leptospirosas e constituir-se em fontes de contágio para o bovino. Entre estes são exemplos o suíno,

o cão e o rato. No saneamento de um foco de leptospirose em bovinos torna-se necessário evitar a promiscuidade com estes e outros animais. O combate do rato é de extrema importância porque ele, através da urina, contamina alimentos e água dos bovinos. Como as leptospirosas podem sobreviver e mesmo multiplicar-se na água, deve-se evitar que a urina dos animais portadores chegue aos mananciais de água utilizados pelos bovinos. Pastagens muito úmidas com água empoçada podem ser reservatórios de leptospirosas. Aguadas muito sombreadas facilitam também a sua sobrevivência.

#### REFERÊNCIAS

- Moreira E.C., Silva J.A., Viana F.C., Santos W.L.M, Anselmo F.P & Leite R.C. 1979. Leptospirose bovina. I. Aglutininas anti-leptospira em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 31:375-388.
- Summers P.M., Campbell R.S.F. & Dennett D.P. 1974. Herds studies on genital pathology of infertile beef cows. Aust. Vet. J. 50:150-154.

JEROME LANGENEGGER

Embrapa-NPSA, Km 47  
23851 Seropédica, Rio de Janeiro

## POISONOUS PLANTS AFFECTING HEART FUNCTION OF CATTLE IN BRAZIL<sup>1</sup>

CARLOS HUBINGER TOKARNIA<sup>2</sup>, PAULO VARGAS PEIXOTO<sup>2</sup> and JÜRGEN DÖBEREINER<sup>3</sup>

**SINOPSE.**- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1990. [Plantas tóxicas que afetam o funcionamento do coração em bovinos no Brasil.] Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):1-10. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brasil.

1.0. São apresentados alguns aspectos da intoxicação por plantas que afetam o funcionamento do coração. Estas plantas podem ser agrupadas da seguinte maneira:

1.1. *Plantas que causam "morte súbita"*, uma intoxicação superaguda sem alterações significativas do coração. Esse é o grupo de plantas tóxicas mais importantes e mais numeroso no Brasil. Das aproximadamente 60 plantas tóxicas de interesse pecuário conhecidas no Brasil, 11 pertencem a este grupo. As plantas deste grupo são, estimativamente responsáveis por 60% das mortes em bovinos causadas por plantas tóxicas no Brasil. Sob condições naturais são afetados principalmente bovinos. As plantas deste grupo causam uma intoxicação que pode ser reproduzida pela administração de doses únicas pequenas (0,6 a 2 g/kg) ou médias (5 a 20 g/kg) e que se caracteriza por evolução superaguda. Os animais aparentemente sadios subitamente caem ao chão, especialmente quando movimentados, morrendo em questão de minutos. Os achados de necropsia são praticamente negativos. Os exames histopatológicos revelam lesões agudas sob forma de alterações regressivas e circulatórias não muito constantes no coração e fígado e uma alteração regressiva mais constante no rim na forma de degeneração hidropico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais. O quadro clínico-patológico sugere que essas plantas têm princípios tóxicos que interferem no funcionamento do coração; os animais morrem aparentemente de uma insuficiência cardíaca aguda. Só em relação a uma dessas plantas, *Palicourea marcgravii* (fam. Rubiaceae) sabemos que o princípio tóxico é o ácido monofluoroacético. É a planta tóxica mais importante deste grupo. Sabe-se que o ácido monofluoroacético interfere no ciclo energético das células, tendo efeito marcado no funcionamento do coração e no sistema nervoso central. Nos bovinos o efeito tóxico é predominantemente sobre o coração. As plantas deste grupo pertencem a 3 famílias botânicas diferentes - 4 pertencem à família das rubiáceas, 3 à das bignoniáceas e 4 à das malpighiáceas.

1.2. *Plantas que causam uma intoxicação subaguda a crônica com severa necrose de fibras cardíacas e fibrose do miocárdio.* No Brasil conhecemos somente duas plantas com capacidade de provocar esse tipo de intoxicação. São *Tetrapteryx acutifolia* Cav. e *Tetrapteryx multiglandulosa* ADR. Juss. (fam. Malpighiaceae), plantas tóxicas importantes em algumas áreas da Região Sudeste. A ação dessas plantas é bem diferente das plantas que causam "morte súbita". Em bovinos elas geralmente causam, ingeridas durante períodos prolongados em doses médias (5 g/kg/dia durante 60 dias) uma intoxicação de evolução subaguda a crônica, com sintomatologia cardíaca bastante característica: veia jugular engurgitada, pulsando e edema da região esternal; à necropsia, encontram-se sobretudo lesões cardíacas bem visíveis sob forma de áreas e feixes esbranquiçados ocupando boa parte da superfície de corte do miocárdio. Frequentemente o fígado apresenta aspecto de nozmoscada e há edemas generalizados, inclusive ascite e hidrotórax. Histologicamente, estas lesões caracterizam-se por necrose severa das fibras cardíacas e fibrose do miocárdio. Pelo exercício só raramente pode se provocar a morte dos animais, quando a doença já está muito adiantada. O princípio tóxico destas plantas ainda não é conhecido. Históricos e dados patológicos sugerem fortemente de que *Tetrapteryx* spp. também sejam responsáveis por abortos em bovinos.

2.0. É feita uma comparação das plantas tóxicas brasileiras que afetam o funcionamento do coração com plantas de ação semelhante de outras partes do mundo, isto é África e Austrália.

3.0. Compara-se os quadros clínico-patológicos da intoxicação por *Palicourea marcgravii* e por ácido monofluoroacético.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Intoxicação por planta, plantas cardiotoxícas, bovinos, patologia, "morte súbita", necrose e fibrose cardíacas.

<sup>1</sup> Presented during the 3rd International Symposium on Poisonous Plants, Logan, Utah, July 23-29, 1989.

<sup>2</sup> Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do

Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851; bolsista do CNPq (305010/76-VT-07).

<sup>3</sup> Embrapa-Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851; bolsista do CNPq (305294/88-1/VT/FV).

**ABSTRACT.**- An analysis of important aspects of poisoning by plants affecting heart function of cattle in Brazil is presented (1.0). These plants can be grouped in the following way :(1.1) Plants causing "sudden death", a peracute poisoning without significant heart lesions, and (1.2) plants causing a subacute to chronic poisoning with necrosis of heart fibres and fibrosis of the myocardium. Moreover (2.0) a comparison of the action of these plants with plants of similar action from Africa and Australia is made, and also (3.0) the clinical-pathological pictures of poisoning by *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) and monofluoroacetic acid are compared.

**INDEX TERMS:** Plant poisoning, cardiotoxic plants, cattle, pathology, "sudden death", necrosis and fibrosis of the heart muscle.

## 1.0. POISONING BY PLANTS AFFECTING HEART FUNCTION OF CATTLE IN BRAZIL

### 1.1. *Plants causing "sudden death"*

#### *General considerations*

The most important and numerous group of poisonous plants in Brazil is the one which causes "sudden death" in cattle. Of the 60 poisonous plant species of interest to animal husbandry known in this country, 11 belong to this group. These plants causing "sudden death" are estimated to be responsible for about 60% of the losses due to toxic plants in Brazil. Under natural conditions mainly cattle are affected.

The plant poisoning resulting in "sudden death" can be reproduced by administration of single small (0.6 to 2 g/kg) or medium (5 to 20 g/kg) doses and mostly has a peracute course. The animals, generally without previous symptoms, suddenly fall to the ground, especially when moved, and die within a few minutes. There are practically no post-mortem findings. Histopathological changes sometimes consist of slight regressive and circulatory alterations in heart and liver, and a frequent quite characteristic regressive lesion in the kidney in the form of a hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules.

The clinical-pathological picture suggests that these plants have toxic principles which interfere with heart function; the animals apparently die of acute heart insufficiency. Only the poisonous principle of *Palicourea marcgravii* (fam. Rubiaceae) is known, and is monofluoroacetic acid (Oliveira 1963, Hall 1972). It is the most important plant of this group. It is well known that monofluoroacetic acid interferes with the energetic cycle of the cells, with severe effect on cardiac function and the central nervous system, causing ventricular fibrillation and tetanic convulsions (Hall 1972). In bovines the toxic effect involves mainly the heart (Allcroft & Jones 1969).

The plants of this group, in Brazil, belong to 3 different botanic families; they are:

Rubiaceae: *Palicourea marcgravii* St. Hil.,  
*Palicourea aeneofusca* (M. Arg.) Standl.,  
*Palicourea juruana* Krause,  
*Palicourea grandiflora* (H.B.K.) Standl.;

Bignoniaceae: *Arrabidaea bilabiata* (Sprague) Sandw.,  
*Arrabidaea japurensis* (DC.) Bur. & K. Schum.,  
*Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl.;  
 Malpighiaceae: *Mascagnia rigida* (Juss.) Griseb.,  
*Mascagnia elegans* Griseb.,  
*Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb.,  
*Mascagnia* aff. *rigida* (Juss.) Griseb.

*Palicourea marcgravii* is the most important poisonous plant in Brazil; it occurs all over Brazil with exception of the South of the country and Mato Grosso do Sul (Pacheco & Carneiro 1932, Döbereiner & Tokarnia 1959, Tokarnia & Döbereiner 1986). *Palicourea aeneofusca* has its distribution limited to the "zona da mata" of Pernambuco where it is the most important poisonous plant (Tokarnia et al. 1983). *Palicourea juruana* and *Palicourea grandiflora* are less important poisonous plants of the Amazon Region (Tokarnia et al. 1981, Tokarnia et al. 1982).

*Arrabidaea bilabiata* is the second most important poisonous plant of the Amazon Region; whilst *Palicourea marcgravii* occurs only on "terra firme", never flooded areas, *Arrabidaea bilabiata* grows only in temporarily flooded areas (Döbereiner et al. 1983). *Arrabidaea japurensis* is the most important poisonous plant of the State of Roraima and is also a plant of temporarily flooded areas (Tokarnia & Döbereiner 1981). *Pseudocalymma elegans* is a poisonous plant of low importance because of its limited distribution to slopes in hills in the State of Rio de Janeiro (Mello & Fernandes 1941, Tokarnia et al. 1969).

*Mascagnia rigida* is the most important poisonous plant of the large dry Northeastern Region of Brazil (Tokarnia et al. 1961), and occurs also in the northeast of Minas Gerais and the north of Espírito Santo. *Mascagnia elegans* is of little importance because of its limited distribution in the dry areas of Pernambuco (Couceiro et al. 1976). *Mascagnia pubiflora* is the most important poisonous plant of Mato Grosso do Sul; it occurs also in nearby areas in the States of São Paulo, Goiás and Minas Gerais (Fernandes & Macruz 1964, Tokarnia & Döbereiner 1973). *Mascagnia* aff. *rigida* is a poisonous plant of some importance in the north of the State of Espírito Santo (Tokarnia et al. 1985)

#### *Distinguishing features*

Although this group of plants has this common characteristic of causing "sudden death", there are many distinguishing features within the group. Some of these will be discussed below.

**Toxic doses.** Experiments showed that single doses of these plants are sufficient to cause death, but vary somewhat. In regard to the Rubiaceae, these doses are always small, and are for cattle between 0,6 and 2 g/kg (Tokarnia & Döbereiner 1982, 1986, Tokarnia et al. 1981, 1983).

In regard to the Bignoniaceae, similar doses sometimes have been sufficient to cause death in cattle, but there is

a great variation, up to 10 fold in the toxicity of the plants. In the case of *Pseudocalymma elegans*, experimentation in bovines showed that the younger the leaves, the more toxic is the plant (Tokarnia et al. 1969). For *Arrabidaea bilabiata* it was not possible, by experimentation in cattle, to elucidate the cause of the variation of its toxicity (Döbereiner et al. 1983); but through experiments made in rabbits (Döbereiner et al. 1984), where there occurred also a great variation in the toxicity of the plant, there were indications that the young leaves are more toxic, and that the origin of the plant material may have an influence.

Regarding *Arrabidaea japurensis*, in spite of all experiments with the fresh plant being made with young leaves, there was also a great variation in toxicity (Tokarnia & Döbereiner 1981). In experiments with the dried plant, also in bovines, in which young and mature leaves were used, the mature leaves had half the toxicity. In experiments on rabbits (Döbereiner & Tokarnia 1983), all performed with the dried young leaves, there was no significant variation in toxicity. Thus, regarding *A. japurensis*, it was not possible to obtain any indication of the cause of the variation of its toxicity.

Regarding the Malpighiaceae, there were great differences in the toxicity among the different plant species. *Mascagnia* aff. *rigida* can be compared to the Rubiaceae; there was little variation in its toxicity to bovines (0.625 to 2.5 g/kg) (Tokarnia et al. 1985). *Mascagnia pubiflora*, in spite of being less toxic, can be compared, regarding the variation of its toxicity due to its growing stage, with *Pseudocalymma elegans* of the Bignoniaceae family; the lethal dose of the young leaves is 5 g/kg and of the mature leaves 20 g/kg (Tokarnia & Döbereiner 1973).

*Mascagnia rigida* showed a very large variation in its toxicity in the experiments made in bovines; according to field observations (Tokarnia et al. 1961), it is possible that the deaths caused by this plant are more frequent after repeated ingestions. Experimentally fatal poisoning was observed after single and repeated administrations of the plant (Tokarnia et al. 1961, Tokarnia & Figueiredo 1979, Tokarnia et al. 1982, Santos 1975), but there was a very great variation of the doses needed to poison animals. Due to the fact that in these experiments no data were registered on the growing stage of the plant, and also due to its different origin, it is not possible to come to conclusions regarding the cause of the great variation in the toxicity of *M. rigida*. In experiments with rabbits (Tokarnia et al. 1987), the plant, which was collected from only one location, showed a constant toxicity; the rabbits died after receiving a single dose of 4 g/kg of the dried plant. Regarding *Mascagnia elegans* only 2 experiments consisting in repeated administrations of the plant to bovines were performed (Couceiro et al. 1976); no efforts were made to establish the lethal dose of the plant.

*Cumulative effect.* Through experiments it was shown

that some of the plants of this group have a cumulative effect. *Palicourea marcgravii* has a cumulative effect when given in daily doses of 1/5 to 1/10 of the lethal dose (Tokarnia & Döbereiner 1986). With *Palicourea grandiflora* a similar cumulative effect was observed (Tokarnia et al. 1981). *Mascagnia* aff. *rigida* has only a slight cumulative effect (Tokarnia et al. 1985). Regarding the other plants of this group, the existence of a cumulative effect in cattle has not yet been sufficiently studied.

*Exercise.* This is an important factor in the poisoning by the plants of this group. However the importance of exercise varies according to the plant species and the amount eaten. Thus, with *P. marcgravii*, in spite of the fact that death of the animals can be caused or precipitated by exercise, the majority of the experimental bovines died without exercise (Tokarnia & Döbereiner 1986). But regarding *Mascagnia* aff. *rigida* it was seen, that - with the exception of the bovine, which received the largest dose (10 g/kg of the fresh plant), all other experimental animals which received smaller lethal doses, showed symptoms only during or soon after the animals had been exercised; thus, in these animals, death was caused or precipitated by exercise (Tokarnia et al. 1985). Also with *Palicourea grandiflora* and *Arrabidaea japurensis* a similar effect was observed. The 3 bovines which received the larger doses of *P. grandiflora* died without exercise, the other 3 bovines which received smaller doses died after exercise (Tokarnia et al. 1981). With *Arrabidaea japurensis*, 2 of the 4 bovines which ingested 10 g/kg or more, died without exercise, the other 2 animals and those which received less than 10 g/kg, died after exercise (Tokarnia & Döbereiner 1981). With the data obtained on the other plants of this group, no precise interpretation of the influence of exercise can yet be made.

*Histological alterations.* In Table 1, 2 and 3 the incidence of the main microscopic alterations seen in the experimental poisoning by the plants which cause "sudden death" in Brazil, is given.

Experiments with fresh leaves given in a single dose (Table 1): In the *heart*, only slight, not very frequent, regressive alterations, in the form of intracellular edema and increase in the eosinophilia of the cytoplasm without or with picnosis of the nuclei of heart muscle fibers, always in focal distribution, occurred in poisoning by the plants of the 3 families. Only in the single experiment, with the fresh leaves with *Palicourea juruana*, well established areas of necrosis were observed in the heart; this was an exceptional case of long duration (72 hours).

In the *liver*, cloudy swelling and vacuolization of the hepatocytes was sometimes seen. *Mascagnia* aff. *rigida* caused an especially high incidence of vacuolization of the cytoplasm in the hepatocytes, in 83.3% of the animals. Necrosis of hepatocytes was seen only in poisoning by *Arrabidaea bilabiata* and *A. japurensis*. Congestion, dissociation of the hepatic cords and edema

Table 1. Incidence of histologic changes in experimental poisoning of cattle by the fresh leaves of plants causing "sudden death" (Single doses)

Plant	Heart			Liver			Kidney			Number of animals studied histologically				
	Intra-vascular edema	Increase of eosinophilic philia without pycnosis (focal)	Increase of eosinophilic philia with pycnosis (focal)	Area of necrosis	Mononuclear infiltration	Proliferation of fibroblasts and/or fibrosis	Swelling of liver cells	Vacuolization of liver cells	Control of necrosis		Congestion	Dissociation of hepatic cords	Edema of Disse's space	Hydropic-vacuolar degeneration
<i>Palicourea marcgravii</i>	5/25 20%	3/25 12%	2/25 8%	0/25 0%	9/25 36%	0/25 0%	12/26 46,1%	12/26 46,1%	0/26 0%	10/26 38,4%	6/26 23%	11/26 42,3%	18/27 66,6%	0/27 0%
<i>Palicourea aeneofusca</i>	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	1/2 50%	1/2 50%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	1/2 50%	1/2 50%	0/2 0%
<i>Palicourea juruana</i>	0/1 0%	1/1 100%	1/1 100%	1/1 100%	0/1 0%	0/1 0%	1/1 100%	1/1 100%	1/1 <sup>c</sup> 100%	0/1 0%	0/1 0%	0/1 0%	0/1 0%	0/1 0%
<i>Palicourea grandiflora</i>	0/6 0%	0/6 0%	1/6 16,6%	0/6 0%	1/6 16,6%	0/6 0%	2/6 33,3%	2/6 33,3%	0/6 0%	3/6 50%	1/6 16,6%	3/6 50%	4/6 66,6%	0/6 0%
<i>Arrabidaea bilabata</i>	1/9 11,1%	0/9 0%	0/9 0%	0/9 0%	2/9 22,2%	0/9 0%	1/9 11,1%	1/9 11,1%	1/9 11,1%	3/9 33,3%	2/9 22,2%	7/9 77,7%	4/9 44,4%	1/9 11,1%
<i>Arrabidaea japurensis</i>	0/8 0%	0/8 0%	0/8 0%	0/8 0%	5/8 62,5%	0/8 0%	2/8 25%	2/8 25%	0/8 0%	0/8 0%	0/8 0%	5/8 62,5%	7/8 87,5%	0/8 0%
<i>Pseudocalymma elegans</i>	2/8 25%	0/8 0%	0/8 0%	0/8 0%	2/8 25%	0/8 0%	1/8 12,5%	1/8 12,5%	0/8 0%	4/8 50%	1/8 12,5%	4/8 50%	3/8 37,5%	0/8 0%
<i>Mascagnia rigida</i>	2/7 28,5%	0/7 0%	1/7 14,2%	0/7 0%	0/7 0%	0/7 0%	3/7 42,8%	3/7 42,8%	0/7 0%	1/7 14,2%	0/7 0%	2/7 28,5%	3/7 42,8%	0/7 0%
<i>Mascagnia pubiflora</i>	6/15 40%	0/15 0%	0/15 0%	0/15 0%	1/15 6,6%	0/15 0%	8/15 53,3%	4/15 26,6%	0/15 0%	2/15 13,3%	2/15 13,3%	4/15 26,6%	10/15 66,6%	4/15 26,6%
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	1/6 16,6%	0/6 0%	1/6 16,6%	0/6 0%	2/6 33,3%	0/6 0%	2/6 33,3%	2/6 33,3%	0/6 0%	0/6 0%	0/6 0%	4/6 66,6%	3/6 50%	1/6 16,6%

a Dissociation of hepatic cords means separation of the tubules due to dilation of the sinusoids;

b The heart of 2 animals and the liver of 1 were not examined histologically. The percentage was calculated always over the organs which were examined;

c There is also some necrosis of the intermedium zone.

of Disse's space were also seen, with very variable frequency for the plants of the 3 families. The kidney showed the most characteristic histological lesion caused by all plants of this group, in the form of a hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules (Fig. 1). The degeneration is severe with nuclear picnosis and disappearance of the cytoplasm. It is not known how this lesion is related to the clinical picture, but it is possible that it occurs through the elimination of the toxin or its

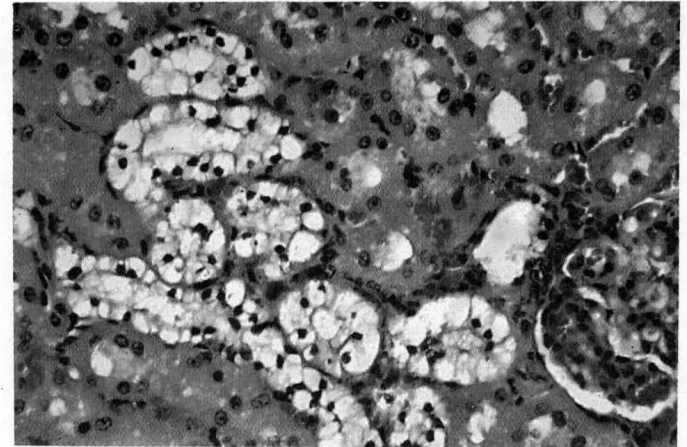


Fig. 1. Hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules in the kidney, in experimental poisoning by *P. marcgravii*. The degeneration is severe, as can be seen by the nuclear picnosis and disappearance of the cytoplasm (Bov. 956, SAP 15286). HE. obj. 25.

metabolites by the kidney. The lesion is not seen in all cases, which would help even more in the diagnosis of the poisoning. The lesion is seen in about 50% of the cases of poisoning by the fresh leaves of the plants which cause "sudden death". In poisoning by *Arrabidaea japurensis* the occurrence of this lesion is exceptionally high (87.5%).

Experiments with the dried leaves given in a single dose (Table 2): In the experiments with 6 plants of the group, slight regressive alterations in the heart were occasionally observed. Necrosis of hepatocytes was not observed. There was no hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted kidney tubules due to the administration of the Rubiaceae and the one Bignoniaceae tested, but it was present in the poisoning by the 2 Malpighiaceae used.

Experiments with the dried leaves given in repeated

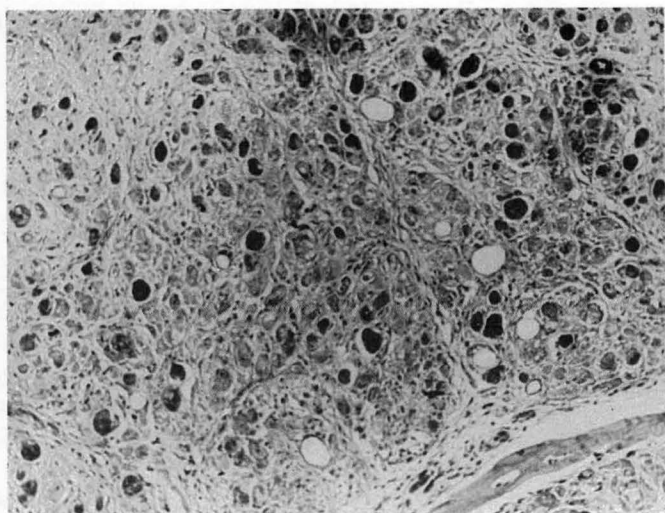


Fig. 2. Sharp whitish areas due to fibrosis of the myocardium in experimental poisoning by *T. multiglandulosa*; the animal had received 2,5 g/kg/day of the fresh sprouts during 125 days (Bov. 4837).

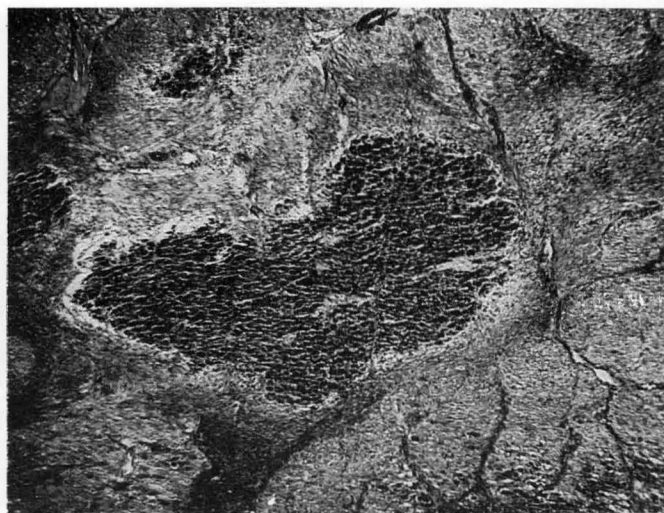
Table 2. Incidence of histologic changes in experimental poisoning of cattle by the dried leaves of plants causing "sudden death" (Single doses)

Plant	Heart						Liver						Kidney		Number of animals studied histologically	
	Intra-cellular edema	Increase of eosinophilia without picnosis (focal)	Increase of eosinophilia with picnosis (focal)	Areas of necrosis	Mononuclear infiltration	Proliferation of fibroblasts and/or fibrosis	Swelling of liver cells	Vacuolization of liver cells	Centriolular necrosis	Congestion	Dissociation of hepatic cords <sup>a</sup>	Edema of Disse's space	Hydropic-vacuolar degeneration			Albuminous granular degeneration in the cortex
													Of distal convoluted tubules	In the medullary zone		
<i>Palicourea marcgravii</i>	2/3 66,6%	0/3 0%	0/3 0%	0/3 0%	1/3 33,3%	0/3 0%	2/3 66,6%	2/3 66,6%	0/3 0%	0/3 0%	1/3 33,3%	2/3 66,6%	0/4 0%	0/4 0%	0/4 0%	4 <sup>a</sup>
<i>Palicourea juruana</i>	1/3 33,3%	1/3 33,3%	1/3 33,3%	0/3 0%	2/3 66,6%	0/3 0%	0/3 0%	3/3 100%	0/3 0%	0/3 0%	0/3 0%	2/3 66,6%	0/3 0%	0/3 0%	0/3 0%	3
<i>Palicourea grandiflora</i>	1/2 50%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	2/2 100%	0/2 0%	1/2 50%	2/2 100%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	1/2 50%	0/2 0%	0/2 0%	0/2 0%	2
<i>Arrabidaea japurensis</i>	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%	1/5 20%	0/5 0%	1/5 20%	3/5 60%	0/5 0%	3/5 60%	3/5 60%	4/5 80%	0/5 0%	0/5 0%	0/5 0%	5
<i>Mascagnia pubiflora</i>	1/4 25%	0/4 0%	0/4 0%	0/4 0%	0/4 0%	0/4 0%	1/4 25%	2/4 50%	0/4 0%	1/4 25%	1/4 25%	1/4 25%	2/4 50%	0/4 0%	1/4 25%	4
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	1/3 33,3%	0/3 0%	1/3 33,3%	0/3 0%	1/3 33,3%	0/3 0%	2/3 66,6%	3/3 100%	0/3 0%	0/3 0%	1/3 33,3	2/3 66,6%	1/3 33,3%	0/3 0%	0/3 0%	3

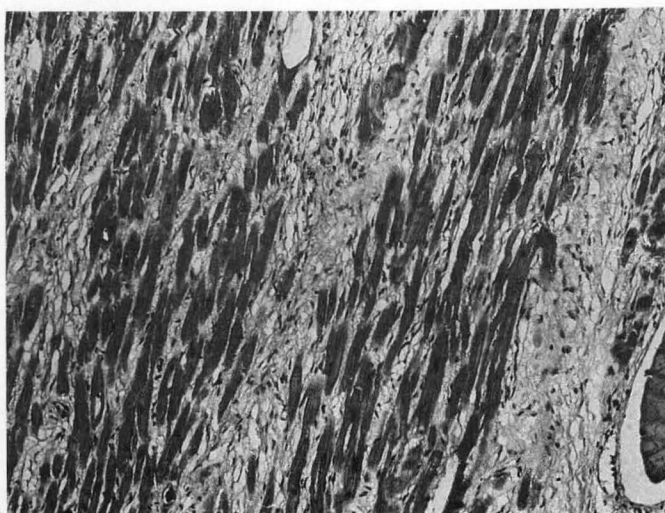
<sup>a</sup> The heart and the liver of 1 animal were not examined histologically. The percentage was calculated always over the organs which were examined.



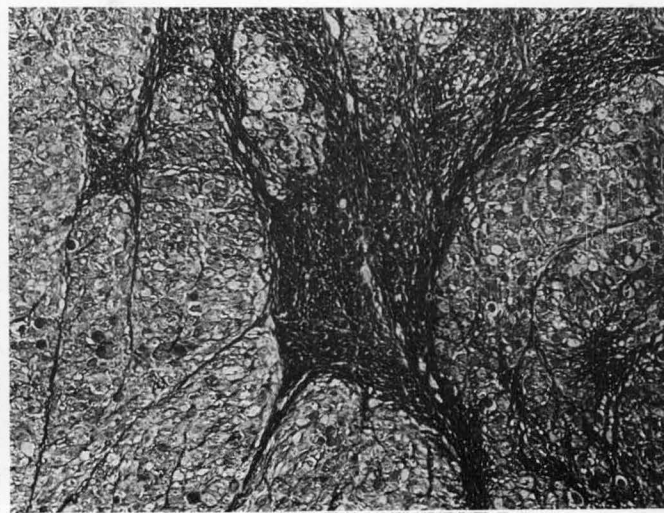
3



4



5



6

Fig. 3. Great number of cardiac fibres with apoptosis in an area of atrophy and fibrosis; vacuolization of some fibres. Natural poisoning by *T. multiglandulosa* (Bov. 7373, SAP 23695).

Fig. 4. Area of massive necrosis of heart fibres surrounded by fibrous connective tissue, in natural poisoning by *T. multiglandulosa* (Bov. 351/71, SAP 20472). Masson, obj. 2,5.

Fig. 5. Interstitial fibrosis in the myocardium with slight extracellular edema, in natural poisoning by *T. acutifolia* (Bov. 4773, SAP 23695). HE, obj. 6,3.

Fig. 6. Large area of fibrosis in the myocardium in natural poisoning by *T. multiglandulosa* (Bov. 351/71, SAP 20472). Masson, obj. 6,3.

Table 3. Incidence of histologic changes in experimental poisoning of cattle by the dried leaves of plants causing "sudden death" (Repeated small doses)

Plant	Heart						Liver						Kidney			Number of animals studied histologically
	Intra-cellular edema	Increase of eosinophilia without picnosis (focal)	Increase of eosinophilia with picnosis (focal)	Areas of necrosis	Mono-nuclear infiltration	Proliferation of fibroblasts and/or fibrosis	Swelling of liver cells	Vacuolization of liver cells	Centro-lobular necrosis	Congestion	Dissociation of hepatic cords <sup>a</sup>	Edema of Disse's space	Hydropic-vacuolar degeneration		Albuminous granular degeneration in the cortex	
													Of distal convoluted tubules	In the medullary zone		
<i>Palicourea marcgravii</i>	2/3 66,6%	0/3 0%	0/3 0%	0/3 0%	1/3 33,3%	0/3 0%	3/3 100%	3/3 100%	1/3 33,3%	2/3 66,6%	3/3 100%	3/3 100%	3/3 100%	1/3 33,3%	2/3 66,6%	3
<i>Palicourea grandiflora</i>	2/3 66,6%	0/3 0%	1/3 33,3%	0/3 0%	2/3 66,6%	0/3 0%	0/4 0%	2/4 50%	0/4 0%	3/4 75%	2/4 50%	2/4 50%	2/5 40%	1/5 20%	0/5 0%	5 <sup>a</sup>
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	3/4 75%	0/4 0%	2/4 50%	2/4 50%	3/4 75%	4/4 100%	1/4 25%	3/4 75%	0/4 0%	0/4 0%	0/4 0%	3/4 75%	1/4 25%	0/4 0%	1/4 25%	4

<sup>a</sup> The heart of 2 animals and the liver of one were not examined histologically. The percentage was calculated always over the organs which were examined.

small doses (Table 3): Such experiments were made with only 3 plants. Of interest is that in the experiments with *Mascagnia aff. rigida* well established areas of necrosis were observed in the heart restricted to the pillar muscle of 2 animals, and fibrosis at the same site in all 4 animals to which repeated small doses were given. In the liver *P. marcgravii* caused regressive and circulatory changes more frequently than when leaves were given in single doses. In the kidney the incidence of hydropic-vacuolar degeneration was about the same as in the experiments with single doses of the fresh leaves.

### 1.2. Plants causing a subacute to chronic poisoning with necrosis of heart fibres and fibrosis of the myocardium

In Brazil only 2 plants which cause this type of lesion are known. These are *Tetrapteryx acutifolia* Cav. and *Tetrapteryx multiglandulosa* Adr. Juss. (fam. Malpighiaceae), important poisonous plants in some areas of the Southeastern Region of Brazil. The action of these two plants is very different from those which cause "sudden death". In cattle these plants, eaten over long periods in medium doses (5 g/kg during 60 days), generally cause a subacute or chronic poisoning, with quite characteristic symptomatology: a pulsing prominent jugular vein and edema of the brisket. The main post-mortem findings are well seen cardiac lesions, in the form of sharp whitish areas and streaks across most of the cut surface of the myocardium (Fig. 2) which may be harder than normal. Nut-meg appearance of the liver and internal edemas are frequently found. Histological examination of the heart reveals severe necrosis of heart fibres (Fig. 3, 4) and fibrosis of the myocardium (Fig. 5, 6). Exercise only exceptionally causes the death of the animal when the disease is in its advanced stage. The toxic principle is not known yet. (Tokarnia et al. 1989)

Informations collected from farms and the pathological data suggest strongly that *Tetrapteryx* spp. are also the cause of abortion in cattle.

## 2.0. COMPARISON OF THE BRAZILIAN POISONOUS PLANTS AFFECTING HEART FUNCTION WITH PLANTS OF SIMILAR ACTION FROM AFRICA AND AUSTRALIA (TABLE 4)

In Africa and Australia there are toxic plants which can be compared with the plants affecting heart function in

Brazil. These are plants that cause an acute to peracute poisoning; symptoms and death can be precipitated by exercise. They can be divided into two groups.

The first one is that of plants which do not cause significant heart lesions. They need to be ingested only once. In Africa these plants are *Dichapetalum* spp., of the Dichapetalaceae family (Steyn 1928, 1934, Marais 1944, Vickery & Vickery 1973, Nwude et al. 1977, Kamau et al. 1978), and in Australia, *Gastrolobium* spp. (Gardner & Bennetts 1956, McEwan 1964, Eversit 1974) and *Oxylobium* spp. (Gardner & Bennetts 1956, Everist 1974), both of the Leg. Papilionaceae family. The toxic principle of these plants is monofluoroacetic acid.

A second group of plants in Africa and Australia cause severe cardiac lesions of regressive and inflammatory-proliferative nature. These have to be eaten by cattle in large amounts during long periods. In Africa, where this kind of poisoning is called "gousiekte" (quick disease), these plants are: *Pachystigma (Vangueria) pygmaeum* (Theiler et al. 1923, Pretorius & Terblanche 1967, Prozesky et al. 1988), *Pachystigma (Vangueria) thamnus* (Adelaar & Terblanche 1967), *Pavetta harborii* (Uys & Adelaar 1957, Pretorius & Terblanche 1967), *Pavetta schumaniana* (Naudé 1966) and *Fadogia monticola* (Hurter et al. 1972), all of the Rubiaceae family. In Australia only one plant which belongs to this second group has been described, *Acacia georginae* (Bell et al. 1955, Barnes 1958, Whitem & Murray 1963, Oelrichs & McEwan 1962), of the Fabaceae family. The poisonous principle of *Acacia georginae* is also monofluoroacetic acid (Oelrichs & McEwan 1962); the poisonous principle of the "gousiekte" producing plants has not been described yet.

Considering the heart lesions, which are certainly the most important aspect, the Brazilian plants causing "sudden death" can be compared with the plants of the 1st African-Australian group (*Dichapetalum* spp., *Gastrolobium* spp and *Oxylobium* spp.), whilst *Tetrapteryx* spp can be compared with the plants of the 2nd group, that is *Acacia georginae* and the plants which cause "gousiekte"

But regarding the course of the disease and the influence of exercise, *Tetrapteryx* spp. is different to the plants of the 2nd group, because the poisoning by them has a subacute or chronic course, and there is no

Table 4. Comparison of the Brazilian poisonous plants affecting heart function with plants of similar action from Africa and Australia

Plants	Heart lesions			Doses	Course	Influence of exercise	Poisonous principle
	Regr. changes	Round cell infiltr.	Fibrosis				
<i>Plants of Brazil</i>							
1. Without significant heart lesions (Plants causing "sudden death") <i>Palicourea marcgravii</i> <i>Palicourea aeneofusca</i> <i>Palicourea juruana</i> <i>Palicourea grandiflora</i> <i>Arrabidaea bilabiata</i> <i>Arrabidaea japurensis</i> <i>Pseudocalymma elegans</i> <i>Mascagnia rigida</i> <i>Mascagnia elegans</i> <i>Mascagnia pubiflora</i> <i>Mascagnia aff. rigida</i>	(+) <sup>a</sup>	-	-	Single	Peracute	+++	In <i>P. marcgravii</i> mono-fluoroacetic acid (MFAA), in the others not known
2. With severe heart lesions  <i>Tetrapteryx acutifolia</i> <i>Tetrapteryx multiglandulosa</i>	+++	(+)	+ to +++	Repeated	Subacute to chronic	(+)	Not known
<i>The lesions are focal, but affect large areas of the miocardium</i>							
<i>Plants of Africa and Australia<sup>b</sup></i>							
1. Without significant heart lesions  <i>Dichapetalum</i> spp. <i>Gastrolobium</i> spp. <i>Oxylobium</i> spp.	(+)	(+)	(+)	Single	Peracute to acute	+++	In all plants of this group MFAA
<i>Lesions are multifocal in nature</i>							
2. With severe heart lesions  <i>Pachystigma (Vangueria) pygmaeum</i> <i>Pachystigma (Vangueria) thamnus</i> <i>Pavetta harborii</i> <i>Pavetta schumaniana</i> <i>Fagodia monticola</i> <i>Acacia georginae</i>	++	++	++	Repeated	peracute	+++	In <i>Acacia georginae</i> MFAA, in the others not known
<i>Lesions tend to be more diffuse</i>							
<i>Lesions tend to be multifocal in nature</i>							

<sup>a</sup> (+) discrete, + slight, ++ moderate, +++ severe or intense;

<sup>b</sup> The data on the histological lesions of the African and Australian plants were taken from the papers by Theiler et al. (1923), Hurter et al. (1972), Whitem & Murray (1963), Newsholme & Coetzer (1984) and Schultz et al. (1982).

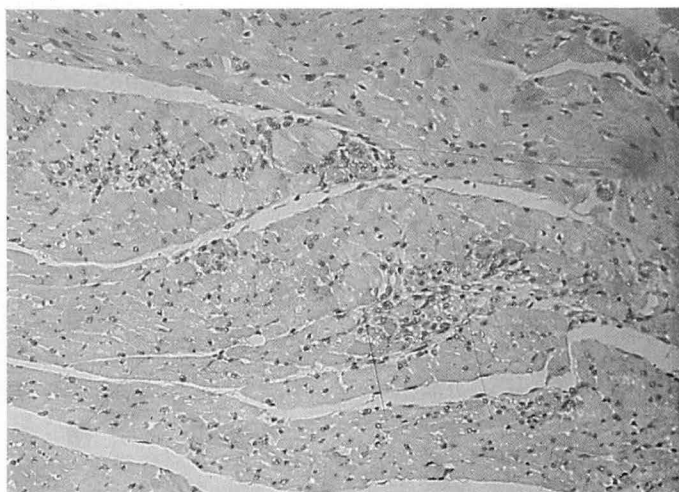


Fig. 7. Proliferation of fibroblasts and necrosis of heart fibres in experimental poisoning (with repeated small doses) by *P. marcgravii* (Ovine 4483, SAP 23228). HE, obj. 10.

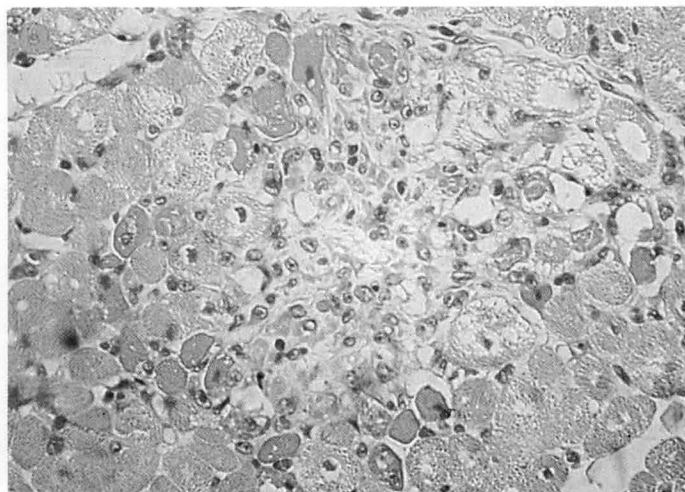


Fig. 8. Same lesion as shown in Fig. 7. HE, obj. 25.

Table 5. Comparison of the clinical-pathological pictures of poisoning by *Palicourea marcgravii* and monofluoroacetic acid

Poisoning	Animal species	Heart lesions (always focal)			Course	Influence of exercise
		Regr. changes	Round cell infiltr.	Fibroplasia/fibrosis		
<i>Palicourea marcgravii</i>						
(a) Single doses:	cattle (1) <sup>a</sup>	(+) <sup>b</sup>	-	-	Peracute (1-10 min.), in few cases 19-85 min.	Most animals died without exercise, but exercise caused/precipitated death
	sheep (2)	(+)	-	-	Peracute (3-8 min.)	Most animals, dying or not, showed symptoms only with exercise
	rabbits (3)	(+)	-	-	Peracute (1-5 min.), in few cases up to 3h 45min.	The animals never were exercised
(b) Repeated sublethal doses:	cattle (1)	(+)	-	-	Peracute (1 min.) to acute (12h, 55h)	In not fatal cases symptoms only were seen when animals were exercised; in fatal cases the animals died without exercise
	sheep (2)	+	+	+	Peracute (5-7 min., 49 min.), once acute (9h)	The animals died only when exercised; in not fatal cases symptoms only were seen when animals were exercised
(c) Repeated sublethal and finally lethal doses:	sheep (2)	+	+	+	Peracute (up to 59 min.) and acute (7 h)	Death occurred with or without exercise
<i>Monofluoroacetic acid or fluoroacetate</i>						
(a) Single doses:	cattle (4)	?	?	?	Peracute (3-20 min.)	The animals never were exercised
	sheep (5)	-	-	-	Peracute (15 min. to 1h 45min.)	The animals never were exercised
	sheep (6)	+	-	-	Acute (hours)	The animals never were exercised
(b) Repeated doses:	sheep (6)	+(+)	+	+	Subacute and chronic	Symptoms only were seen when the animals were driven; finally they were killed

<sup>a</sup> (1) Tokarnia & Döbereiner 1986, (2) Tokarnia et al. 1986, (3) Peixoto et al. 1987, (4) Robison 1970, (5) Jensen et al. 1948, (6) Schultz et al. 1982;

<sup>b</sup> (+) discrete, + slight, +(+) slight to moderate, ++ moderate, +++ severe lesions.

necessity for exercise to cause death, although occasionally exercise will precipitate death.

It is interesting to report that of the Brazilian plants causing "sudden death", when experimentally given in daily repeated small doses, i.e. *Mascagnia aff. rigida* to cattle (Tokarnia et al. 1985) and *Palicourea marcgravii* to sheep (Tokarnia et al. (1986) (Fig. 7,8), cause more pronounced histological lesions in the myocardium including inflammatory and proliferative alterations than when eaten only once and when only slight regressive heart lesions are observed. Even in these cases the histological alterations in the heart can not be compared to those seen in the poisoning by *Tetrapteryx* spp.

It is also necessary to report here that in the spontaneous poisoning of cattle by *Mascagnia rigida* (Tokarnia et al. 1961) slightly more pronounced inflammatory changes in the heart were found than usually seen in spontaneous and experimental poisoning by the plants causing "sudden death". However it was not possible to reproduce these changes by single or repeated administrations of the plant to bovines. Hurter et al. (1972) suggest that a detailed comparison between "gousiekte" of Africa and the poisoning by *Mascagnia rigida* in Brazil should be very interesting. But the data available on the poisoning by *M. rigida* indicate that this plant probably belongs to the Brazilian plants which cause "sudden death" comparable to that of the African

and Australian plants of the 1st group (*Dichapetalum* spp., *Gastrolobium* spp. and *Oxylobium* spp.).

### 3.0. COMPARISON OF THE CLINICAL-PATHOLOGICAL PICTURES OF POISONING BY *PALICOUREA MARCGRAVII* AND MONOFLUOROACETIC ACID (TABLE 5)

The clinical picture and the course of the experimental poisoning with single doses of *P. marcgravii* observed in bovines (Tokarnia & Döbereiner 1986), ovines (Tokarnia et al. 1986) and rabbits (Peixoto et al. 1987) are very similar to those described in the experimental poisoning by single doses of sodium monofluoroacetate in bovines, performed by Robison (1970). Unfortunately this author did not perform post-mortem and histological examinations.

In the same way, the clinical picture of poisoning by *P. marcgravii* is very similar to that described by Jensen et al. (1948) in the experimental poisoning with single doses of sodium fluoroacetate in sheep. In the experiments by Jensen et al. (1948), the course was slightly longer (it varied from 15 min. to 1h 45min.) than in the experiments in which single doses of *P. marcgravii* (references as above) were given to bovines (a course of generally 1 to 10 min., rising in a few cases to between 19 and 85 min., mostly without exercise), ovines (a course of 3 to 8 min., mostly only after exercise), and rabbits (course of generally 1 to 5 min.,

exceptionally up to 3h 45min., with no exercise). Jensen et al. (1948) also found no important lesions at post-mortem examination and no constant histological alterations.

Schultz et al. (1982) performed experiments with fluoroacetate in sheep. They concluded to have produced acute, subacute and chronic poisoning; the acute poisoning by the administration of single and the latter by giving repeated small doses. The authors conclude that the fluoroacetate did not act as cumulative poison.

The clinical picture in the experiments of single and repeated administrations of fluoroacetate by Schultz et al. (1982) is similar to that observed in the experiments with *P. marcgravii* (references as above) in bovines (single and repeated administrations), ovines (single and repeated administrations) and rabbits (single administrations). But there are small differences in the course and outcome of the poisoning. In the experiments with single administrations of fluoroacetate (Schultz et al. 1982), death occurred after hours, whilst only minutes were usually required with single doses of *P. marcgravii* in bovines, ovines and rabbits. In these experiments the bovines died without exercise, but exercise precipitated death; most of the ovines, showed symptoms or died only after exercise; the rabbits were not exercised. In the experiments with single doses of monofluoroacetate (Schultz et al. 1982) the animals were not exercised. In the experiments with repeated small doses (Schultz et al. 1982), the animals showed symptoms only when driven; finally they were killed. In the experiments with repeated small doses of *P. marcgravii* (references as above) in bovines, the animals that did not die only showed symptoms when exercised. In the 3 fatal cases, symptoms and death occurred without exercise after 1 minute, 12 hours and 55 hours. Sheep which received repeated small doses, only showed symptoms after being exercised briefly for a few minutes; in the 6 fatal cases, death of 4 animals occurred after 5 to 7 minutes, and the other two after 49 min. and 9 hours. Of the 5 sheep which had received repeated small doses and survived, 3 died later without and 2 with exercise, after a lethal dose. Signs of poisoning lasted for 38 min., 59 min. and 7 hours in the 3 sheep in which symptoms could be observed.

Post-mortem findings in the experiments with fluoroacetate in sheep performed by Schultz et al. (1982) were rare and similar to those described in *P. marcgravii* poisoning in cattle, sheep and rabbits. They described histological alterations mainly in the heart. In the acute cases, lesions varied from slight regressive alterations with cloudy swelling, hydropic degeneration and steatosis, to more severe lesions with Zenker degeneration and necrosis; in the cases classified as subacute and chronic, necrotic areas infiltrated by lymphocytes, macrophages and small number of neutrophils, and sometimes fibroplasia with proliferation of cells from the sarcolemma, were observed.

Regressive lesions in the heart similar to these were

also found, but in a much milder form, in the experiments with single administrations of *P. marcgravii* in bovines, ovines and rabbits (references as above). On the other hand, additionally to more severe regressive alterations, focal proliferative lesions were found in the experiments with repeated administrations of small doses of *P. marcgravii* in sheep (Figs. 7, 8); however these alterations were not found in the few experiments with repeated small doses of *P. marcgravii* in cattle (Tokarnia & Döbereiner 1986).

*Cumulative effect:* Unlike Schultz et al. (1982), Annison et al. (1960) had previously concluded that sodium fluoroacetate showed a cumulative effect in their experiments with ovines. Rowley (1963) came to similar conclusion after showing that repeated sublethal doses of sodium fluoroacetate can accumulate and cause the death of rabbits. McEwan (1978) affirmed that monofluoroacetate has a cumulative effect when administered in repeated small doses over a short period.

Vickery & Vickery (1973), on the other hand, concluded that little has been done to determine if sublethal doses of monofluoroacetic acid have either a cumulative effect or confer tolerance to a higher dose which would otherwise be lethal.

In their experiments with *Palicourea marcgravii* in cattle, Tokarnia & Döbereiner (1986) concluded that the plant had a cumulative effect when administered daily, and that this effect was strong with doses of 1/5 of the lethal dose, and still could be shown with doses of 1/10 of the lethal dose. However, doses of 1/5 of the lethal dose, when given weekly, or smaller doses (1/20 of the lethal dose) given daily, did not cause symptoms. Costa et al. (1984) also observed a cumulative effect with *P. marcgravii*. Two bovines which received daily doses of 0.1 g/kg of the fresh plant, died on the 12th and 22nd day of the experiment.

In their experiments in sheep, Tokarnia et al. (1986) concluded that *P. marcgravii* had a cumulative effect, which in one of the experimental series was weak, but in the second one was similar to that observed in cattle. They also concluded that the plant did not induce tolerance, nor did the animals become more sensitive to the toxic properties of the plant.

## REFERENCES

- Adelaar T.F. & Terblanche M. 1967. A note on the toxicity of the plant *Pachystigma thamnus*, Robyns. J.S. Afr. Vet. Med. Assoc. 38(1):25-26.
- Allcroft R. & Jones J.S.L. 1969. Fluoroacetamide poisoning. Vet. Rec. 84:399-402.
- Annison E.F., Hill K.J., Lindsay D.B. & Peters R.A. 1960. Fluoroacetate poisoning in sheep. J. Comp. Pathol. 70:145-155.
- Barnes J.E. 1958. Georgina poisoning of cattle in the Northern Territory. Aust. Vet. J. 34:281-290.
- Bell A.T., Newton L.G., Everist S.L. & Legg J. 1955. *Acacia georginae* poisoning of cattle and sheep. Aust. Vet. J. 31:249-257.
- 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.
- Couceiro J.E.M., Silva A.C.C. & Silva J.A. 1976. Observações e ensaios

- sobre a alegada intoxicação de bovinos por plantas, no Estado de Pernambuco. Anais XV Congr. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, p. 45-46. (Resumo)
- Döbereiner J., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1984. Intoxicação experimental por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 4(3):89-96.
- 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. Animal, Rio de J., 2:83-91.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1983. Intoxicação experimental por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 3(3):95-97.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Silva M.F. 1983. Intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em bovinos na região amazônica do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 3(1):17-24.
- Everist S.L. 1974. Poisonous Plants of Australia. Angus and Robertson Publ., Sidney.
- Fernandes N.S. & Macruz R. 1964. Toxicidade da "corona", *Mascagnia pubiflora* (Juss.) Griseb. (Malpighiaceae). Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 31:1-4.
- Gardner C.A. & Bennetts H.W. 1956. The Toxic Plants of Western Australia. Western Australian Newspapers, Perth.
- Hall R.J. 1972. The distribution of organic fluorine in some toxic tropical plants. New Phytol. 71:855-871.
- Hurter L.R., Naudé T.W., Adelaar T.F., Smit J.D. & Codd L.E. 1972. Ingestion of the plant *Fadogia monticola* Robyns as an additional cause of gousiekte in ruminants. Onderstepoort J. Vet. Res. 39(1):71-82.
- Jensen R.J., Tobiska J.W. & Ward J.C. 1948. Sodium fluoroacetate (compound 1080) poisoning in sheep. J. Vet. Res. 9:370-372.
- Kamau J.A., Gachuhi D.M., Gyrd-Hansen N. & Gathuma J.M. 1978. A study of the toxicity of *Dichapetalum ruhlandii* (Ludi). Indian Vet. J. 55:626-630.
- Marais J.S.C. 1944. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hook) Engl. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind. 20(1):67-73.
- McEwan T. 1964. Isolation and identification of the toxic principle of *Gastrobium grandiflorum*. Queensl. J. Agric. Sci. 21(2):1-14.
- McEwan T. 1978. Organo-fluorine compounds in plants, p. 147-158. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants on Livestock. Academic Press, New York.
- Mello E.M.M. & Fernandes J.S. 1941. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. Serv. Inf. Agrícola, Min. Agricultura, Rio de Janeiro, 106 p.
- Naudé T.W. 1966. Unpublished data. (Cit. Pretorius & Terblanche 1967)
- Newsholme S.J. & Coetzer J.A.W. 1984. Myocardial pathology of domestic ruminants in Southern Africa. J. South African Vet. Assoc. 55:89-96.
- Nwude N., Parsons L.E. & Adaudi A.O. 1977. Acute toxicity of the leaves and extracts of *Dichapetalum barkeri* (Engl.) in mice, rabbits and goats. Toxicology 7:23-29.
- Oelrichs P.B. & McEwan T. 1962. The toxic principle of *Acacia Georgiana*. Queensl. J. Agric. Sci. 19:1-16.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii* St. Hil. Experientia 19:586.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. I. 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 por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelho. Pesq. Vet. Bras. 7(4):117-129.
- Pretorius P.J. & Terblanche M. 1967. A preliminary study on the symptomatology and cardiodynamics of gousiekte in sheep and goats. J. S. Afr. Vet. Med. Assoc. 38(1):29-53.
- Prozesky L., Fourie N., Naser J.A. & Nel P.W. 1988. A field outbreak in Ile-de-France sheep of a cardiotoxicosis caused by the plant *Pachystigma pygmaeum* (Schltr.) Robyns (Rubiaceae). Onderstepoort J. Vet. Res. 55:193-196.
- Robison W.H. 1970. Acute toxicity of sodium monofluoroacetate to cattle. J. Wildl. Manage. 34(3):647-648.
- Rowley I. 1963. The effect on rabbits of repeated sublethal doses of sodium fluoroacetate. CSIRO Wildl. Res. 8(1):52-55.
- Santos H.L. 1975. Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos, na intoxicação experimental de bovinos pela *Mascagnia rigida* (Juss.) Gr. Tese, Belo Horizonte. 36p. (Resumo em Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 27(3):398-399, 1975)
- Schultz R.A., Coetzer J.A.W., Kellerman T.S. & Naudé T.W. 1982. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoroacetate in sheep. Onderstepoort J. Vet. Res. 49:237-245.
- Steyn D.G. 1928. Gifblaar poisoning. A summary of our present knowledge in respect of poisoning by *Dichapetalum cymosum*. 13th and 14th Rep. Dir. Vet. Education and Research, Pretoria, S. Afr.:187-194.
- Steyn D.G. 1934. The Toxicology of Plants in South Africa. Central News Agency, South Africa.
- Theiler A., Du Toit P.J. & Mitchell D.T. 1923. Gousiekte in sheep. 9th and 10th Rep. Dir. Vet. Education and Research, Pretoria, S. Afr.:9-105, 4 p. figs.
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1961. Intoxicação por um "tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no nordeste do Brasil. Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J., 4:203-215.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1973. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado de Mato Grosso. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 8:61-68.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1981. Intoxicação por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em bovinos em Roraima. Pesq. Vet. Bras. 1(1):7-17.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação experimental por *Palicourea juruana* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos. Pesq. Vet. Bras. 2(1):17-26.
- 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., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1987. Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 7(1):11-16.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães D.J. 1969. Intoxicação experimental por *Pseudocalymna elegans* (Vell.) Kuhl. em bovinos. Pesq. Agropec. Bras. 4:195-204.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1982. Plantas tóxicas para bovinos na zona do agreste de Pernambuco. 1º Congr. Pernambucano Med. Vet., Recife, 8-11 set.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1983. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), a causa de "mortes súbitas" em bovinos na zona da mata de Pernambuco. Pesq. Vet. Bras. 3(3):75-79.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 1985. Intoxicação por *Mascagnia* aff. *rigida* (Malpighiaceae) em bovinos no norte do Espírito Santo. Pesq. Vet. Bras. 5(3):77-91.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Silva M.F. 1981. Intoxicação por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em bovinos no Território de Rondônia. Pesq. Vet. Bras. 1(3):85-94.
- Tokarnia C.H. & Figueiredo L. 1979. Relatório de viagem de estudo ao Estado da Bahia no período de 10 jan. a 2 fev. 1979. 5 p. e 2 quadros.
- 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., Consorte L.B. & Gava A. 1989. *Tetrapterys* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. Pesq. Vet. Bras. 9(1/2):23-44.
- Uys P.L. & Adelaar T.F. 1957. A new poisonous plant. J. S. Afr. Vet. Med. Assoc. 28(1):5-8.
- Vickery B. & Vickery M.L. 1973. Toxicity for livestock of organofluorine compounds present in *Dichapetalum* plant species. Vet. Bull. 43(10):537-542.
- Whittem J.H. & Murray L.R. 1963. The chemistry and pathology of Georgina river poisoning. Aust. Vet. J. 39:168-173.

## REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL DA COLIBACILOSE SUÍNA EM LEITÕES<sup>1</sup>

ANTONIO F. PESTANA DE CASTRO<sup>2</sup>, ITAMAR A. PIFFER<sup>3</sup>, MARLENE B. SERAFIM<sup>2</sup>,  
DOMINGOS S. LEITE<sup>2</sup> e IZILDINHA A. G. COLLI<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Castro A.F.P., Piffer I.A., Serafim M.B., Leite D.S. & Colli, I.A.G. 1990. [Experimental reproduction of colibacillosis in piglets.] Reprodução experimental da colibacilose em leitões. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):11-18. Depto Microbiol. Imunol. Unicamp, Campinas, SP 13081, and Embrapa-CNPISA, Cx.Postal D-3, Concórdia, SC 89000, Brazil.

Experimental neonatal colibacillosis, in newborn piglets was attempted using 4 groups of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains, as follows: 1) Two strains from serogroup 0149:K91, both producing thermolabile enterotoxin (LT) and K88 colonization factor; 2) Two strains from serogroup 0101:K30, producing thermostable enterotoxin (STa) and K99 colonization factor; 3) One strain from serogroup 0157:K?, producing thermostable enterotoxin of the STb type and K88 antigen, and 4) One strain from serogroup 08:K?, producing STa enterotoxin and a new colonization factor, named F42. All fourteen piglets inoculated orally with these strains of ETEC developed clinical disease and died up to 42 hours after inoculation, being possible to visualize, by indirect fluorescent antibody technique, in all of them, that colonization of small intestine by the inoculated ETEC had occurred. The production of STa "in vivo", into the gut, by strains from group 2 and 4 was an important factor to prove that experimental colibacillosis did occur. In fact, coprocultures either from the diarrheic stools or from the gut contents revealed a high rate of LT<sup>+</sup>-K88<sup>+</sup> and STa<sup>+</sup>-K99<sup>+</sup> colonies recovery. Though some quantitative differences among the examined materials have been observed, the recovery of STa<sup>+</sup>-F42<sup>+</sup> colonies was lower than in the former groups of ETEC strains. However clinical symptoms, production of STa "in vivo" and colonization of the gut of inoculated piglets proved that F42 antigen is undoubtedly a new colonization factor among ETEC involved in porcine colibacillosis.

**INDEX TERMS:** Porcine colibacillosis, experimental reproduction, virulence factors LT, STa, K88, K99 and F42.

**SINOPSE.**- Foi tentada a reprodução experimental da colibacilose suína neonatal, em leitões recém-nascidos, usando-se para tal 4 grupos de amostras de *Escherichia coli* enterotoxigênicas (ETEC), a saber: 1) Duas amostras do sorogrupo 0149:K81, produtoras da enterotoxina termolábil (LT) e do fator de colonização K88; 2) Duas amostras do sorogrupo 0101:K30, produtoras da enterotoxina termoestável (STa) e do fator de colonização K99; 3) Uma amostra do sorogrupo 0157:K?, produtora da enterotoxina termoestável do tipo STb e do fator de colonização K88, e 4) Uma amostra do sorogrupo 08:K?, produtora da enterotoxina termoestável (STa) e de um novo fator de colonização, denominado F42. Todos os 14 leitões inoculados por via oral com estas amostras de ETEC desenvolveram doença clínica com morte até 42 horas após a inoculação, tendo sido possível detectar em todos eles a colonização do intestino delgado pelas amostras de ETEC inoculadas, através da técnica de imunofluorescência indireta. A produção de STa "in vivo", por amostras dos grupos 2 e 4 foi um fator importante na comprovação de que a reprodução experi-

mental da doença por estas amostras realmente ocorreu. De fato, a coprocultura, quer das fezes diarréicas, quer do conteúdo intestinal dos animais, revelou um alto índice de recuperação de colônias LT<sup>+</sup>-K88<sup>+</sup> e STa<sup>+</sup>-K99<sup>+</sup>. Embora tenham ocorrido entre os diversos materiais examinados algumas diferenças quantitativas, a recuperação de colônias STa<sup>+</sup>-F42<sup>+</sup> foi menor do que nos casos anteriores, porém os achados referentes a doença clínica, produção de STa "in vivo" e colonização do intestino delgado dos leitões inoculados, comprovaram que o antígeno F42 é, sem dúvida, um novo fator de colonização em amostras de ETEC envolvidas na colibacilose suína.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Colibacilose suína, reprodução experimental, fatores de virulência LT, STa, K88, K99 e F42.

### INTRODUÇÃO

Na etiologia da colibacilose suína, em especial na diarréia neonatal, estão envolvidos vários sorogrupos de *Escherichia coli* (Ørskow et al. 1961, Söderlind & Möllby 1979, De Boy III et al. 1980, Gatti et al. 1985). Independentemente do sorogrupo a ser considerado, dois fatores de virulência são fundamentais: a produção de enteroto-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 1 de julho de 1988.

<sup>2</sup> Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, Campinas, SP 13081.

<sup>3</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

xinas e a presença nestas amostras dos chamados fatores de colonização, ou antígenos de aderência, também designados de adesinas (Guineé & Jansen 1979, Gaastra & De Graaf 1982). Entre as enterotoxinas temos a enterotoxina termolábil clássica ou LT-I (Gyles 1971, Clements & Finkelstein 1979) e a LT-II (Guth et al. 1986a, 1986b). Enquanto a primeira, muito semelhante a toxina colérica, está relacionada à patogenia da doença (Gyles 1974, Clements & Finkelstein 1978), o papel da LT-II, imunologicamente distinta da toxina colérica e recentemente descrita, carece de investigações adicionais (Guth et al. 1986b). No outro gupo de enterotoxinas, ditas termoestáveis, estão descritos dois sub-tipos: STa, detectável pelo teste do camundongo recém-nascido e STb, ativa biologicamente apenas no teste de alça ligada de leitão de 5-7 semanas (Gyles 1971, Moon et al. 1980, Castro et al. 1984). A enterotoxina STa está sem dúvida relacionada com a enfermidade ao passo que a STb, embora experimentalmente seja ativa em leitões, precisa ser melhor investigada quando a uma correlação com a colibacilose suína (Whipp et al. 1981).

Entre os fatores de colonização são mais conhecidos não só pela prevalência mas pela incontestável importância os antígenos K88 (F4), K99(F5) e 987P(F6) (Jones & Rutter 1972, Nagy et al. 1976, Nagy et al. 1977, Moon et al. 1977). Recentemente outros fatores de virulência tem sido descritos como ocorrendo em suínos, tais como o F41 (De Graaf & Roorda 1982), F165 (Fairbrother et al. 1986), um fator descrito por Aning et al. (1983) e finalmente o antígeno F42 relatado em nosso meio (Yano et al. 1986), em amostras produtoras da enterotoxina STa.

Em outros países, a reprodução experimental em leitões da forma diarréica da colibacilose neonatal, principalmente com amostras dos sorogrupos envolvidos na mesma, tem sido relatada com certa frequência. No Brasil, tanto quanto saibamos, experimentos desta natureza não tem sido levados a efeito e algumas poucas tentativas foram infrutíferas (Itamar Piffer, comunicação pessoal). Portanto, além da reprodução experimental da colibacilose neonatal suína, com amostras de *E. coli* enterotoxigênicas e portadoras dos fatores de colonização K88 e K99, já relatados como ocorrendo em nosso meio (Gatti et al. 1985), o presente trabalho teve como objetivo importante verificar se uma amostra de *E. coli*, produtora do antígeno F42 e da enterotoxina STa, seria capaz de causar doença diarréica semelhante em leitões recém-nascidos, experimentalmente inoculados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram selecionadas 6 amostras enterotoxigênicas de *E. coli*, cujas características quanto aos respectivos fatores de virulência e sorogrupos estão discriminados no Quadro 1. Como controle negativo dos experimentos biológicos e testes laboratoriais foi utilizada a amostra de *E. coli* K12 (711 nal). Durante toda a realização dos experimentos as amostras em questão foram mantidas a -70°C, em meio de BHI, contendo 15% de glicerol.

### Animais

Foram utilizados leitões da raça Landrace, com 24 a 48 horas de idade, impedidos de mamar o colostro, porém mantidos com uma mistura de leite em pó (180 g), óleo de soja (20 ml); óleo de milho (20 ml); emulsão de óleo de fígado de bacalhau (2 ml) e água (1000 ml), administrada "ad libitum". O número de animais recém-nascidos inoculados com as amostras de *E. coli* estudadas se encontra também no Quadro 1.

### Inóculo

Para todas as amostras estudadas utilizou-se como inóculo, para cada animal, 20 ml de cultivo em meio de "Trypticase Soy Broth" (TSB) (Difco Lab.), incubado a 37°C por 18 h, correspondendo, aproximadamente a  $2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC) por ml.

Todas as amostras de *E. coli* utilizadas foram previamente investigadas quanto às suas características toxigênicas e produção dos respectivos fatores de colonização, conforme mencionado no Quadro 1, através de técnicas descritas a seguir.

### Preparação de enterotoxinas

Para a detecção de enterotoxinas, as amostras de *E. coli* foram cultivadas em meio de "Casamino Acids-Yeast Extract" (CA-YE) (Evans et al. 1973) distribuído em erlenmeyers de 125 ml, contendo 10 ml do meio acima. Os frascos foram incubados em uma estufa de agitação (New Brunswick, U.S.A.) (150 rpm), a 37°C, por 18 h. Em seguida, 1,0 ml de solução de polimixina, contendo aproximadamente 2,2 mg/ml foi adicionado cada frasco. Após agitação adicional por 15 min as culturas foram centrifugadas a 8000 x g por 30 min e os sobrenadantes obtidos (extratos) foram pesquisados quanto a produção das enterotoxinas LT, STa e STb, conforme descrito abaixo.

### Pesquisa da enterotoxina LT

Foi feita através do teste de imunohemólise passiva (IHP), modificado. O procedimento para a realização desta prova foi semelhante ao descrito anteriormente (Serafim et al. 1979), exceto que tampão fosfato foi substituído por tampão veronal em solução fisiológica, com íons cálcio e magnésio (VBS) (Castro et al. 1980). Resumidamente, hemácias de carneiro (HC), mantidas a 4°C em solução de Alsever, foram lavadas três vezes com 8 volumes de solução salina tamponada (PBS), com fosfato 0,04 M, e, depois suspensas em VBS. As HC foram então padronizadas de modo tal que parte da suspensão quando lisada com água destilada na diluição de 1:20, dava uma liberação de hemoglobina correspondente a uma absorbância de 0,42 a 550 nm ou aproximadamente  $2.10^9$  HC/ml (Serafim et al. 1979). Para a reação de IHP propriamente dita, tubos 10 x 100, em duplicata, recebiam 50 µl de cada preparação de extrato e 100 µl da suspensão de HC padronizadas. Em seguida, 100 µl de antitoxina colérica, diluída 1:80, eram adicionados aos tubos que eram incubados a 37°C por 30 min., a fim de permitir a reação do anticorpo (antitoxina colérica) com os complexos HC-LT. Posteriormente, em cada tubo, foram adicionados 100 µl de complemento de cobaia (diluído 1:10 em VBS), procedendo-se nova incubação a 37°C por 60 min. A hemólise resultante, quando presente, foi então quantificada adicionando-se ao volume dos tubos reação 3,6 ml de VBS, sendo estes então centrifugados a 2000 x g por 5 min para sedimentar as HC não hemolisadas. A concentração de hemoglobina nos sobrenadantes era então lida espectrofotometricamente a 420 nm. Qualquer resultado com leitura de  $A_{420} =$

0,17 ou mais era considerado como positivo para a produção de LT (Serafim et al. 1979).

#### *Pesquisa da enterotoxina STa*

Camundongos albinos, recém-nascidos (2-4 dias de idade), foram separados de suas mães imediatamente antes de serem usados, sendo então divididos em grupos de 4 animais. Os procedimentos para o ensaio da enterotoxina STa pelo teste do camundongo recém-nascido (CRN) foram semelhantes aqueles relatados anteriormente (Dean et al. 1973). Aliquotas de 0,1 ml de cada extrato, ao qual 0,1% de uma solução de azul de Evans (2%) tinha sido adicionado, foram inoculadas em cada camundongo por via intragástrica. Os camundongos eram então sacrificados por inalação com éter. Foi então calculada a relação do peso dos intestinos/peso das carcaças para cada lote de camundongos. Resultados cuja relação foi igual ou superior a 0,085 foram considerados como positivos para a produção de enterotoxina STa.

#### *Pesquisa da enterotoxina STb*

Foi feita através do teste de alça ligada (AL) de leitões de 6 semanas (Castro et al. 1984). Extratos preparados a partir da amostra V17 (STb<sup>+</sup>K88<sup>+</sup>) foram testados em dois animais que foram mantidos em jejum 24 h antes do teste, porém com água fornecida "ad libitum". A laparotomia dos leitões foi feita sob anestesia geral, por inalação com éter, preparando-se 5 alças ligadas no intestino delgado anterior, compreendendo o jejum distal. Duas alças foram inoculadas com 2ml de sobrenadante da cultura em teste, sendo as demais inoculadas com igual volume de controle negativos, representados pelo meio de CAYE, solução fisiológica estéril e extrato da amostra de *E.coli* K12 (711 nal). Dezesesseis horas após a inoculação os animais foram sacrificados, necropsiados e as alças examinadas para a presença de dilatação. Calculou-se em seguida, para cada alça, a relação do volume de líquido acumulado/comprimento da alça. Resultados iguais ou superiores a 0,7 foram considerados positivos (Castro et al. 1984).

#### *Provas de microhemaglutinação manose-resistente (MHMR), para a detecção presuntiva dos fatores de colonização*

Em relação ao antígeno K88 as amostras de *E.coli* foram cultivadas em ágar glicosado com fosfato (Jones & Rutter 1974). As culturas a serem examinadas quanto a possível presença do antígeno K99 foram semeadas em meio de Minca (Guinée et al. 1977) e aquelas a serem testadas para o antígeno F42 em meio mínimo sólido, com 0,5% de glicose (Yano et al. 1986). A prova de MHMR foi realizada conforme preconizado anteriormente (Jones & Rutter 1974), utilizando-se suspensões bacterianas devidamente padronizadas, que foram diluídas em razão de 2 diretamente em placas de microtítulo, usando-se como diluente PBS 0,01 M, pH 7,2, contendo 1% de D-manose. Após as diluições adicionou-se o mesmo volume (100 µl) de hemácias padronizadas (1%), empregando-se para a detecção dos antígenos K88, K99 e F42 respectivamente hemácias de cobaia, cavalo e galinha. A reação foi feita em banho de gelo e lida após 2 h. Consideraram-se como positivas as reações que dessem um título hemaglutinante igual ou superior a 1:4. Como todos os testes realizados foram apenas qualitativos não houve interesse em se averiguar a ocorrência de títulos superiores a 1:32.

#### *Preparo dos antissoros anti-K88, anti-K99 e anti-F42*

Os antígenos K88 e K99 purificados foram gentilmente cedidos por R.E. Isaacson (Pfizer Co., U.S.A.). O antígeno F42 foi

purificado conforme descrito previamente (Leite D.S. et al., manuscrito submetido a publicação). Resumidamente, a amostra 56717 (STa<sup>+</sup>-F42<sup>+</sup>) foi cultivada sob agitação, num fermentador de bancada com capacidade para 14 l (New Brunswick), contendo 3 l de meio mínimo líquido, adicionado de 0,5% de glicose (Yano et al. 1986). Após incubação sob agitação (15 psi) a 37°C por 18 h, a cultura foi centrifugada e o sedimento ressuspense em PBS 0,05M, contendo NaCL 1M. Esta suspensão foi aquecida a 60°C por 30 min, com agitação intermitente de acordo com o preconizado originalmente (Stirm et al. 1967). A preparação foi novamente centrifugada, nas mesmas condições, sendo o sobrenadante precipitado com 45% de saturação com sulfato de amônio. O precipitado foi ressuspense em PBS 0,05M, pH 7,4 e dialisado exaustivamente contra o mesmo tampão. Esta preparação bruta do antígeno F42 foi então tratada com 0,5% de desoxicolato de sódio (DOC), por 72 h a 4°C. O material solúvel em DOC foi dialisado no tampão acima e então submetido a cromatografia em gel de Sepharose 4B (coluna 2 x 95 cm) equilibrado com PBS 0,05M, pH 7,4, contendo uréia 2M. Resultados da dupla difusão em gel e da eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) revelaram que a preparação purificada do antígeno F42 correspondia às frações 20-25 do material eluído em Sepharose 4B.

Para a preparação dos antissoros foram usados coelhos albinos adultos. Cada antígeno purificado, em alíquotas de 1,0 ml (100 µg/ml) foi emulsionado em igual volume de adjuvante completo de Freund (Difco Lab.). Com este inóculo cada coelho foi injetado subcutaneamente, utilizando-se 2 animais para cada antígeno. Uma dose de reforço idêntica foi dada 21 dias depois, sendo os animais sangrados a branco após 15 dias, se uma sangria de prova, realizada na véspera, fornecesse um título na reação homóloga de aglutinação em lâmina, igual ou superior a 1:20.

#### *Reações de soroaglutinação em lâmina para a detecção dos antígenos K88, K99 e F42*

Para tal foram utilizados cultivos feitos nos meios específicos para a produção dos fatores de colonização K88, K99 e F42, conforme descrito acima. As reações foram feitas em lâminas de microscópio, utilizando-se diluições apropriadas dos antissoros específicos, previamente determinadas com as culturas das amostras padrão (Quadro 1). A 0,02 ml de cada antissoro colocado sobre as lâminas emulsionou-se pequena quantidade das culturas a serem examinadas, observando-se a ocorrência ou não de aglutinação, em tempo não superior a 2 min.

#### *Coleta de materiais dos leitões inoculados e exames realizados*

Todos os animais, após a inoculação, foram observados diariamente quanto a presença de diarreia e sua respectiva evolução. Das fezes de cada animal foi feita o exame bacteriológico, utilizando-se técnicas convencionais (Edwards & Ewing 1972) de semeadura em meio de Mac Conkey e identificação bioquímica de 5 colônias lactones positivas de cada material, para exames posteriores.

Quando aplicável, de cada animal inoculado com amostras STa<sup>+</sup>, coletou-se ainda cerca de 5 ml de fezes diarréicas com a finalidade específica de se detectar a produção desta enterotoxina "in vivo". Para tal, sobrenadantes destes materiais foram examinados pelo teste do CRN, conforme descrito anteriormente.

Dos leitões mortos procedeu-se a necropsia, registrando-se os achados macroscópicos principais a nível intestinal. Igualmente, quando possível, foi coletado conteúdo fecal, jejuno e fêco, para exames bacteriológicos, isolando-se também 5 colônias lactose

positivas. Culturas das colônias isoladas das fezes e do conteúdo fecal dos animais necropsiados foram então examinados quanto a pesquisa dos fatores de virulência, através da metodologia descrita nos itens anteriores. Na detecção dos diferentes fatores de virulência levou-se sempre em conta a origem das amostras e suas características quanto a tais fatores, conforme mencionado no Quadro 1. Apenas, a detecção da produção da enterotoxina STb não pode ser realizada, em relação a estas culturas, pela indisponibilidade de se conseguir um número adequado de leitões.

Quadro 1. Amostras enterotoxigênicas de *Escherichia coli*, seus respectivos fatores de virulência e identificação dos leitões inoculados, Concórdia, SC, Brasil, 1986

Amostras de <i>E. coli</i>	Sorogruppo	Fatores de virulência			Leitões inoculados	
33	0149:K91	LT <sup>+</sup>	STa <sup>-</sup>	STb <sup>-</sup>	K88 <sup>+</sup>	33-1 33-2
15	0149:K91	LT <sup>+</sup>	STa <sup>-</sup>	STb <sup>-</sup>	K88 <sup>+</sup>	15-1 15-2
3728	0101:K30	LT <sup>-</sup>	Sta <sup>+</sup>	STb <sup>-</sup>	K99 <sup>+</sup>	3728-1 3728-2 3728-3
3730	0101:K30	LT <sup>-</sup>	Sta <sup>+</sup>	STb <sup>-</sup>	K99 <sup>+</sup>	3730-1 3730-2 3730-3
V17	0157:K?	LT <sup>-</sup>	Sta <sup>-</sup>	STb <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>	V17-1 V17-2
56717	08:K?	LT <sup>-</sup>	Sta <sup>+</sup>	STb <sup>(?)</sup> (a)	F42	56717 (1-1) 56717 (1-2) 56717 (2-1) 56717 (2-2) 711-1
711 nal ( <i>E. coli</i> K12)	-	-	Controle negativo			711-2

(a) Não foi realizado o teste de alça ligada em leitão de 6 semanas, para detecção de STb.

Finalmente, ainda por ocasião da necrópsia, foram retirados fragmentos do jejuno para a preparação de cortes a serem examinados pela técnica de imunofluorescência indireta (Awad-Masalmeh et al. 1982) com algumas modificações.

Resumidamente, pequenos fragmentos do jejuno foram submetidos a cortes histológicos em criostato a -20°C, colocados sobre lâminas de microscopia e fixados com metanol. Diluições dos

antissoros anti-K88, anti-K99 e anti-F42 foram feitas em PBS 0,05M pH 7,2, dos quais 20 µl foram aplicados sobre os cortes e incubados por 60 minutos em câmara úmida à 37°C. Ao término deste, as lâminas eram lavadas exaustivamente com PBS, quando então 20 µl do soro de cabra anti-IgG de coelho marcado com fluoresceína diluído em PBS contendo 0,002% de Azul de Evans eram aplicados sobre os cortes e novamente incubados à 37°C em câmara úmida por 1 hora. Após seguidas lavagens com PBS, os cortes eram cobertos com glicerina tamponada pH 8,6 e lamínulas, sendo então observados em microscópio de fluorescência com aumento de 400x. Reações positivas foram fotografadas, utilizando-se filme branco e preto de alto contraste (400 ASA), com tempo de exposição variando de 1 a 2 minutos.

## RESULTADOS

Os resultados dos quatro leitões inoculados com as amostras de *E. coli* 15 e 33, do sorogruppo 0149:K91, ambas produtoras dos fatores de virulência LT e K88, se encontram no Quadro 2.

Com exceção do leitão 15-2, os demais morreram 18 h após a inoculação, apresentando à necrópsia, em todos os casos, diarreia, intestino congesto, gases no estômago bem como líquido sanguinolento na cavidade torácica. No animal 15-2, que morreu após 42 h, pôde-se observar um grau de desidratação mais pronunciado que nos demais (dados não apresentados).

Os resultados dos exames bacteriológicos realizados a fim de se detectar, no conteúdo intestinal (jejuno e íleo) e nas fezes dos leitões inoculados, a presença de colônias produtoras dos fatores de virulência LT e K88, originalmente presentes nas amostras usadas para o preparo do inóculo, também se encontram no Quadro 2. Pode-se observar que, no computo geral, com exceção de algumas poucas variações, como por exemplo, no número de colônias K88<sup>+</sup> do leitão 15-2 ou na presença de colônias LT<sup>+</sup> nas fezes diarreicas do leitão 33-2, houve uma boa

Quadro 2. Reprodução experimental da colibacilose em leitões recém-nascidos com amostras de *E. coli* do sorogruppo 0149:K91 (LT<sup>+</sup>, K88<sup>+</sup>), Concórdia, SC, Brasil, 1986

Leitão n°	Evolução (horas)		Nº de colônias positivas para os fatores de virulência LT e K88/nº de colônias examinados										Imunofluorescência
			Jejuno		Íleo		Fezes diarreicas(g)		Totais (%)				
			LT <sup>+</sup> (e)	K88 <sup>+</sup> (f)	LT <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>	LT <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>	LT <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>			
15-1	M <sup>(a)</sup>	-	-	-	5/5	4/5	5/5	3/5	5/5	3/5	15/15 <sup>(100)</sup>	10/15 <sup>(66,6)</sup>	
15-2	dd <sup>(b)</sup>	dd	M	-	5/5	3/5	5/5	2/5	5/5	3/5	15/15 <sup>(100)</sup>	8/15 <sup>(53,3)</sup>	+
33-1	M	-	-	-	5/5	4/5	4/5	4/5	3/5	3/5	12/15 <sup>(80)</sup>	14/15 <sup>(93,3)</sup>	+
33-2	M	-	-	-	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5	4/5	12/15 <sup>(80)</sup>	14/15 <sup>(93,3)</sup>	+
711-1(c)	N <sup>(d)</sup>	N	N	N	NR <sup>(h)</sup>	NR	NR	NR	0/5	0/5	2/5 <sup>(0)</sup>	0/5 <sup>(0)</sup>	+
711-2(c)	N	N	N	N	NR	NR	NR	NR	0/5	0/5	2/5 <sup>(0)</sup>	0/5 <sup>(0)</sup>	NR

(a) Morte;

(b) Diarreia e desidratação;

(c) Controles negativos;

(d) Normal;

(e) Detectada pelo teste de imunohemólise passiva;

(f) Detectado pelo teste de microhemaglutinação manose-resistente com hemácias de cobaia e soroaglutinação em lâmina com soro anti-K88;

(g) Fezes coletadas quando do aparecimento do quadro diarreico (Suabe retal);

(h) Exame não realizado.

Quadro 3. Reprodução experimental da colibacilose em leitões recém-nascidos com amostras de *E. coli* do sorogrupo 0101:K30 (STa<sup>+</sup>, K99<sup>+</sup>), Concórdia, SC, Brasil, 1986

Leitão nº	Evolução (horas)				Nº de colônias positivas para os fatores de virulência Sta e K99/nº de colônias examinadas								Imunofluorescência
					Jejuno		Íleo		Fezes diarréicas(g)		Totais (%)		
	18	25	42	72	STa <sup>+</sup> (e)	K99 <sup>+</sup> (f)	STa <sup>+</sup>	K99 <sup>+</sup>	STa <sup>+</sup>	K99 <sup>+</sup>	STa <sup>+</sup>	K99 <sup>+</sup>	
3728-1	M(a)	-	-	-	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5*(i)	5/5	14/15(93,3)	15/15(100)	+
3728-2	dd(b)	dd	M	-	3/5	3/5	5/5	5/5	4/4*	4/4	12/15(80)	13/15(86,6)	+
3728-3	dd	M	-	-	5/5	3/5	4/5	5/5	NR	NR	9/10(90)	8/10(80)	+
3730-1	M	-	-	-	3/5	5/5	5/5	4/5	5/5*	5/5	13/15(86,6)	14/15(93,3)	+
3730-2	dd	dd	M	-	5/5	2/5	5/5	5/5	4/5*	5/5	14/15(93,3)	12/15(80)	+
3730-3	dd	dd	M	-	4/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	14/15(93,3)	14/15(93,3)	+
711-1(c)	N(d)	N	N	N	NR(h)	NR	NR	NR	0/5	0/5	0/5(0)	0/5(0)	NR
711-2(c)	N	N	N	N	NR	NR	NR	NR	0/5	0/5	0/5(0)	0/5(0)	NR

- (a) Morte;
- (b) Diarréia e desidratação;
- (c) Controles negativos;
- (d) Normal;
- (e) Detectada pelo teste do camundongo;
- (f) Detectado pelo teste de microhemaglutinação manose-resistente com hemácias de cobaia e soroaglutinação em lâmina com soro anti-K99;
- (g) Fezes coletadas quando do aparecimento do quadro diarréico (suabe retal);
- (h) Exame não realizado.
- (i) Animais positivos para a produção STa "in vivo".

porcentagens de recuperação variaram de 80% a 100% para LT e de 53,3% a 93,3% para K88. Estes dados sugerem que todos os leitões foram eficientemente colonizados pelas amostras 15 e 33, o que foi aliás demonstrado também pelo teste de imunofluorescência indireta realizada com o antissoro K88 (Quadro 2).

Os leitões 711-1 e 711-2, inoculados com a amostra de *E. coli* K12, 711 nal, incluídos como controles negativos em todos os experimentos, dentro do período de observação, não apresentaram sintomas dignos de nota, embora viessem posteriormente, depois de 42 h, evidenciar patologia respiratória e/ou sistêmica, não relacionada com os

experimentos da presente pesquisa. O exame das fezes destes animais, durante o período do experimento, não revelou amostras portadoras de quaisquer dos fatores de virulência estudados (Quadros 2, 3 e 4).

Os resultados dos experimentos feitos com 6 leitões inoculados com as amostras 3728 e 3730, do sorogrupo 0101:K30, ambas produtoras dos fatores de virulência STa e K99, se encontram na Tabela 3. Dois animais morreram 18 h após a inoculação, sendo que 3 outros vieram a falecer após 42 h. Nestes últimos se conseguiu observar um grau de desidratação pronunciado. Os achados necroscópicos foram semelhantes aos relatados para os ani-

Quadro 4. Reprodução experimental da colibacilose em leitões recém-nascidos com amostra de *E. coli* do sorogrupo 0157:K (STb<sup>+</sup>(a), K88<sup>+</sup>), Concórdia, SC, Brasil, 1986

Leitão no.	Evolução (horas)				Nº de colônias positivas para os fator de colonização K88/Nº de colonias examinadas				Totais (%)	Imunofluorescência
					Jejuno		Íleo			
	18	25	42	72	K88 <sup>+</sup> (f)	K88 <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>	K88 <sup>+</sup>		
V17-1	dd(b)	M(c)	-	-	2/5	2/5	2/5	6/15(40)	NR	
V17-2	dd	M	-	-	0/5	0/5	0/5	3/15(13,3)	NR	
711-1(d)	N(e)	N	N	N	NR(h)	NR	0/5	0/5(0)	NR	
711-2	N	N	N	N	NR	NR	0/5	0/5(0)	NR	

- (a) O teste de alça ligada para a detecção da enterotoxina STb não foi realizado com as coproculturas de jejuno, íleo e fezes diarréicas, pela falta de leitões disponíveis;
- (b) Diarréia e desidratação;
- (c) Morte;
- (d) Controles negativos;
- (e) Normal;
- (f) Detectado pelo teste de microhemaglutinação manose-resistente com hemácias de cobaia e soroaglutinação em lâmina com soro anti-K88;
- (g) Fezes coletadas quando do aparecimento do quadro diarréico (suabe retal);
- (h) Exame não realizado.

Quadro 5. Reprodução experimental da colibacilose em leitões recém-nascidos com amostras de *E. coli* do sorogrupo 08:K? (STa<sup>+</sup>, F42<sup>+</sup>), Concórdia, SC, Brasil, 1986

Leitão no.	Evolução (horas)				Nº de colônias positivas para os fatores de virulência STa e F42/nº de colônias examinados								Imunofluorescência
					Jejuno		Íleo		Fezes diarréicas(g)		Totais (%)		
					Sta <sup>+</sup> (e)	F42 <sup>+</sup> (f)	Sta <sup>+</sup>	F42 <sup>+</sup>	Sta <sup>+</sup>	F42 <sup>+</sup>	Sta <sup>+</sup>	F42 <sup>+</sup>	
567/71-1	dd <sup>(b)</sup>	dd	M <sup>a</sup>	—	3/5	3/5	4/5	4/5	2/5*(i)	3/5	9/15(60)	10/15(66,6)	+
567/71-2	dd	dd	M	—	0/5	2/5	0/5	1/5	3/5*	3/5	3/15(20)	8/15(53,3)	+
567/71-1	dd	dd	M	—	3/5	3/5	5/5	5/5	3/5*	2/5	11/15(73,3)	10/15(66,6)	+
567/71-2	dd	dd	M	—	5/5	5/5	5/5	2/5	3/5*	2/5	13/15(86,6)	9/15(60)	+
711-1(c)	N <sup>(d)</sup>	N	N	N	NR <sup>(h)</sup>	NR	NR	NR	0/5	0/5	0/5(0)	0/5(0)	NR
711-2	N	N	N	N	NR	NR	NR	NR	0/5	0/5	0/5(0)	0/5(0)	NR

(a) Morte;

(b) Diarréia e desidratação;

(c) Controles negativos;

(d) Normal;

(e) Detectada pelo teste do camundongo recém-nascido;

(f) Detectado pelo teste de microhemaglutinação *in nose*-resistente com hemácias de galinha e soroaglutinação em lâmina com soro anti-F42;

(g) Fezes coletadas quando do aparecimento do quadro diarréico (suabe retal);

(h) Exame não realizado;

(i) Animais positivos para a produção STa "in vivo".

mais inoculados com as amostras do sorogrupo 0149 (dados não apresentados). Os resultados dos exames bacteriológicos, para detectar colônias produtoras dos fatores de virulência STa e K99, se encontram no Quadro 3. Verifica-se que os resultados deste lote de experimentos foram bastante semelhantes ao anterior, inclusive no que concerne ao leitão 3730-2 que no exame do material de jejuno apresentou baixa recuperação de colônias K99<sup>+</sup>. Na média dos totais, entretanto, a recuperação de colônias STa<sup>+</sup>, nos 6 animais, variou de 80% a 93,3%, enquanto para o fator de colonização K99 esta variação se situou entre 80% a 100%. A colonização do intestino delgado dos animais experimentalmente inoculados com estas amostras, sugerida por estes achados, foi confirmada pelos resultados de imunofluorescência indireta, realizado com o antissoro K99 (Quadro 3). Nesta Tabela, pode-se verificar ainda que a produção de STa, "in vivo" foi detectada em 5 sobrenadantes de fezes, com exceção do material obtido do leitão 3728-3, que se apresentou impróprio para exame.

Os resultados dos experimentos com os leitões 17-1 e 17-2, inoculados com as amostras de *E. coli* V17, produtora de STb e K88, não foram muito elucidativos. Ambos animais morreram 25 h após a inoculação, mas na impossibilidade de se realizar o teste de STb, pela falta de leitões, utilizou-se como marcador da recuperação da amostra inoculada, a detecção de colônias K88<sup>+</sup>, nas culturas de fezes destes animais. Com relação ao leitão 17-1, das 15 colônias isoladas da coprocultura e do conteúdo do jejuno e íleo, apenas 6 (40%) apresentaram o antígeno K88. Em relação ao leitão 17-2 das 15 colônias de *E. coli* examinadas foram negativas as isoladas do conteúdo fecal, jejuno e íleo, fornecendo apenas 2 (13,3%) K88<sup>+</sup>, exatamente das fezes diarréicas. Infelizmente, os materiais para imunofluorescência, que poderiam ajudar esclarecer estes achados, se extraviaram durante a remessa de

Concórdia para Campinas. Os dados referentes à amostra V-17 se acham apresentados no Quadro 4.

Os resultados da inoculação experimental em 4 leitões com a amostra 567/7, produtora dos fatores de virulência STa e F42 se encontram no Quadro 5.

Todos os leitões morreram 42 h após a inoculação, tendo antes apresentado quadro pronunciado de desidratação e diarréia. Mais uma vez, os achados de necropsia não diferiram dos observados para os demais grupos, ressaltando-se apenas o encontro, em todos os leitões, de estômago bastante cheio de leite coagulado e gás (dados não apresentados).

Os exames bacteriológicos realizados para se detectar, no conteúdo intestinal dos animais mortos e nas fezes diarréicas, a ocorrência nos cultivos de colônias produtoras dos fatores de virulência STa e F42 também podem ser vistos no Quadro 5. Neste caso, em particular foi observada uma variação maior na recuperação de colônias STa<sup>+</sup> e F42<sup>+</sup>, tanto de animal para animal, como, por vezes, em relação a diferentes materiais coletados do mesmo leitão. A recuperação de colônias STa<sup>+</sup>, a partir das fezes de leitões inoculados, variou de 20% a 86,6%. Em relação ao antígeno F42 a variação situou-se entre 53,3% e 66,6%. Apesar destas cifras serem menos elevadas do que as encontradas para os dois sorogrupos citados acima, não houve dúvida que ocorreu a colonização do intestino delgado dos 4 leitões, uma vez que, o exame dos cortes histológicos, estudados pela técnica de imunofluorescência indireta, usando antissoro F42, foi positiva para os 4 animais. Por outro lado, a semelhança do que ocorreu com as amostras do sorogrupo 0101 foi possível se detectar a produção da enterotoxina STa "in vivo" nos leitões inoculados (Quadro 5).

## DISCUSSÃO

A reprodução experimental da colibacilose suína neona-

tal, em sua forma diarreica, tem sido realizada por diversos pesquisadores de outros países (Morgan et al. 1978, Nagy et al. 1978, Chidlow et al. 1979, Söderlind et al. 1982) utilizando para tal amostras de ETEC portadoras de fatores de colonização mais frequentes e já relatados há algum tempo, como por exemplo, K88 e K99. Quando de casos de diarreia em leitões, amostras de *E. coli*, produtoras de novos antígenos de aderência ou adesinas são descritas, tomando-se como base, para a caracterização destas adesinas, apenas provas indiretas tais como, hemaglutinação manose-resistente, adesão em células de linhagem contínua e a enterócitos (Moon et al. 1980, Gaastra & de Graaf 1982, Fairbrother et al. 1986), se torna necessário averiguar através da reprodução experimental da colibacilose em leitões, o verdadeiro papel desempenhado por estes novos antígenos de aderência, na etiologia e evolução desta enfermidade.

Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi a reprodução experimental da colibacilose em leitões, por amostras de ETEC portadoras do antígeno de aderência F42 (Yano et al. 1986), comparando-se estes resultados com aqueles obtidos, em experimentos semelhantes, com outras amostras de ETEC, portadoras dos fatores de colonização K88 e K99.

Os resultados obtidos com a amostra de ETEC STa<sup>+</sup> - F42<sup>+</sup> e com as amostras de ETEC LT<sup>+</sup> - K88<sup>+</sup> e STa<sup>+</sup> - K99<sup>+</sup> foram bastante semelhantes. Mesmo no caso das amostras K88<sup>+</sup>, apesar de estar descrito na literatura que a existência de receptores para este antígeno no intestino delgado de leitões é controlado geneticamente, podendo existir animais que não os produzam (Sellwood 1982), os quatro leitões utilizados demonstraram possuir tais receptores, uma vez que foram efetivamente colonizados pelas amostras de colibacilos K88<sup>+</sup>. Algumas diferenças mais evidentes foram observadas com o leitão 15-2, cujo exame bacteriológico das fezes apresentou uma recuperação média de colônias K88<sup>+</sup> de 53% (Quadro 2). Poder-se-ia sugerir que este animal teria ausência de receptores e que a cifra acima seria apenas ocasional, conseqüente a eliminação das bactérias inoculadas pelo peristaltismo intestinal. Todavia, o quadro clínico observado, os resultados dos testes de imunofluorescência e a produção de STa "in vivo" eliminam esta possibilidade, comprovando que o leitão em questão foi realmente infectado.

Os resultados obtidos com os quatro leitões inoculados com a amostra de *E. coli* 567/7, produtora de STa e do fator de colonização F42, foram extremamente interessantes. A evolução clínica da doença experimental pareceu ser menos aguda do que para as amostras dos sorogrupos 0149 e 0101, levando porém todos os animais a morte, com sinais de desidratação mais evidentes, provavelmente neste caso pela duração ligeiramente mais prolongada da enfermidade. A colonização do intestino delgado dos leitões, evidenciada através da imunofluorescência indireta, bem como também a detecção da produção de STa "in vivo", como no caso das amostras K99<sup>+</sup>, comprovam que a infecção experimental pela amostra

567/7 teve êxito e que o antígeno F42 é de fato um novo fator de colonização para amostras de *E. coli* de origem suína, produtoras da enterotoxina STa.

Em dados não publicados (Leite et al., comunicação pessoal) relatam para alguns municípios do Estado de São Paulo uma prevalência de 12% do antígeno F42, o que torna este fator de colonização tão importante quanto ao K99 e 987P (Nagy et al. 1977, Moon et al. 1980).

A porcentagem de recuperação de colônias STa<sup>+</sup> - F42<sup>+</sup> na coprocultura dos leitões infectados foi menor do que em relação às amostras STa<sup>+</sup> - K99<sup>+</sup>, observando-se em relação ao antígeno F42 frequências que variaram de 53,3% a 66%. Este aspecto demonstra que, pelo menos em relação a este antígeno, deva ocorrer uma maior segregação "in vivo", o que aliás aconteceu também com a enterotoxina STa, cuja recuperação variou entre 20% e 86,6%. Ainda que não tenha ocorrido uma correspondência absoluta entre a perda de F42 e STa, estes achados estariam de acordo com o relato sobre a codificação de STa e F42 por um mesmo plasmídeo de 21.1 Mdal (Silveira et al. 1987).

Entre as amostras de *E. coli* estudadas apenas em relação a V-17, produtora da enterotoxina STb e do fator de colonização K88, apesar da ocorrência de diarreia e morte dos animais inoculados, os achados não foram muito conclusivos, pela impossibilidade de se testar, em relação às colônias isoladas das fezes destes animais, a produção da enterotoxina Stb. Por outro lado, a pesquisa do antígeno K88, que poderia ser um parâmetro útil, mostrou uma cifra de recuperação bastante baixa (Quadro 4), que poderia muito bem ser resultado da eliminação da bactéria nas fezes, pelo peristaltismo intestinal. Como os materiais enviados para os testes de imunofluorescência se extraviaram durante a remessa, não seria confiável, basear-se apenas nos achados clínicos, para comprovar a infecção experimental por este colibacilo.

De modo geral, apesar destas diferenças quantitativas entre os leitões inoculados com as várias amostras de ETEC estudadas e produtoras de diferentes fatores de colonização, podemos concluir que, na presente pesquisa, o modelo usado para reprodução experimental da colibacilose suína foi altamente eficiente, possibilitando, em diversos aspectos, uma comparação da evolução da doença produzida por grupos de ETEC já comprovadamente envolvidos na mesma, com aquela causada por uma amostra de ETEC, produtora de um novo fator de colonização denominado F42 (Yano et al. 1986), recentemente descrito no Brasil.

*Agradecimentos.* - A presente pesquisa foi financiada com recursos do Centro Nacional de Pesquisas de Suínos e Aves (CNPISA-Embrapa) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

## REFERÊNCIAS

- Aning K.G. Thomlinson J.K. Wray C. & Sojka W.Y. 1983. Adhesion factor distinct from K88, K99, F41 CFA/I and CFA/II in porcine *Escherichia coli*. Vet. Rec. 112:251.
- Awad-Masalmeh M., Moon H.W., Runnels P.L. & Schneider R.A. 1982. Pilus production, hemagglutination and adhesion by porcine strains of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect. Immun. 35:305-313.

- Dean A.G., Ching Y.C., Williams R.G. & Harden L.B. 1973. Test for *Escherichia coli* enterotoxin of diarrhea in Honolulu. *J. Infect. Dis.* 125:407-411.
- De-Boy III J.M., Wachsmuth J.K. & Davis B.R. 1980. Serotypes of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated in the United States. *Infect. Immun.* 29:361-368.
- De-Graaf F.K. & Roorda I. 1982. Production, purification and characterization of the fimbrial adhesive antigen F41 isolated from the calf enteropathogenic *Escherichia coli* strain B41M. *Infect. Immun.* 36:751-753.
- Castro A.F.P., Serafim M.B., Gomes J.A. & Gatti M.S.V. 1980. Improvements in the passive immune haemolysis test for assaying enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 12:714-717.
- Castro A.F.P., Serafim M.B., Brito J.R.F., Barcellos D.E.S.N. & Colli I.A.G. 1984. Virulence factors present in cultures of *Escherichia coli* isolated from pigs in the region of Concordia, Santa Catarina, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 3:109-114.
- Chidlow J.W., Blades J.A. & Porter P. 1979. Sow vaccination by combined oral and intramuscular antigen: a field study of maternal protection against neonatal *Escherichia coli* enteritis. *Vet. Rec.* 105:437-440.
- Clements J.D. & Finkelstein R.A. 1979. Isolation and characterization of homogeneous heat-labile enterotoxins with high specific activity from *Escherichia coli* cultures. *Infect. Immun.* 24:760-769.
- Clements J.D. & Finkelstein R.A. 1978. Immunological crossreactivity between heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli* and sub-units of *Vibrio cholerae* enterotoxins. *Infect. Immun.* 21:1036-1039.
- Edwards P.R. & Ewing W.H. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, U.S.A.
- Evans D.J. Jr., Evans D.G. & Gorbach S.L. 1973. Production of vascular permeability factor by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from man. *Infect. Immun.* 8:725-730.
- Fairbrother J.M., LaRiviere S. & Lallier R. 1986. New fimbrial antigen F165 from *Escherichia coli* serogroup 0115 strains isolated from piglets with diarrhea. *Infect. Immun.* 51:10-15.
- Gaastra W. & De Graaf F.K. 1982. Host-specific fimbrial adhesive of non-invasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiol. Rev.* 46:129-161.
- Gatti M.S.V., Serafim M.B. & Castro A.F.P. 1985. Fatores de virulência em amostras de *Escherichia coli* enteropatogênicas para suínos isoladas no Brasil. *Revta Microbiol.*, S. Paulo, 16:21-30.
- Guinée P.A.M., Veldkamp J. & Jansen W.H. 1977. Improved Minca Medium for the detection of K99 antigen in calf enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 15:676-678.
- Guinée P.A.M. & Jansen W.H. 1979. Detection of enterotoxigenic and attachment factors in *Escherichia coli* strains of human, porcine and bovine origin: a comparative study. *Zb. Bakt. Hyg., I Abt. Orig.*, 243:245-257.
- Guth B.E.C., Twiddy E.M., Trabulsi L.R. & Holmes R.K. 1986a. Variation in chemical properties and antigenic determinants among type II heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 54:529-536.
- Guth B.E.C., Pickett C.L., Twiddy E.M., Holmes R.K., Gomes T. A.T., Lima A.A.M., Guerrant R.L., Franco B.D.G.M. & Trabulsi L.R. 1986b. Production of type II heat-labile enterotoxin by *Escherichia coli* isolated from foods and human feces. *Infect. Immun.* 59:587-589.
- Gyles C.L. 1974. Relationship among heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *J. Infect. Dis.* 129:277-283.
- Gyles C.L. 1971. Discussion: heat-labile and heat-stable forms of enterotoxin from *Escherichia coli* strains enteropathogenic for pigs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 176:314-322.
- Jones G.W. & Rutter J.M. 1972. Role of K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhea caused by *Escherichia coli* in piglets. *Infect. Immun.* 6:918-927.
- Jones G.W. & Rutter J.M. 1974. The association of K88 antigen with hemagglutinating activity of porcine strains of *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* 84:135-144.
- Moon H.W., Nagy B., Isaacson R.E. & Ørskov I. 1977. Occurrence of K99 antigen on *Escherichia coli* isolated from pigs and colonization of pig ileum by K99 enterotoxigenic *Escherichia coli* from calves and pigs. *Infect. Immun.* 15:614-620.
- Moon H.W., Kohler E.M., Schneider R.A. & Whipp S.C. 1980. Prevalence of pilus antigens, enterotoxin types and enteropathogenicity among K88 negative enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. *Infect. Immun.* 27:222-230.
- Morgan R.L., Isaacson R.E., Moon H.W., Brinton C.C. & To C.C. 1978. Immunization of suckling pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrheal disease by vaccinating dams with purified 987 or K99 pilus protection correlates with pilus homology of vaccine and challenge. *Infect. Immun.* 22:771-777.
- Nagy B., Moon H.W. & Isaacson R.E. 1976. Colonization of porcine small intestine by *Escherichia coli*: ileal adhesion by enteropathogens that lack K88 antigen and by some acapsular mutants. *Infect. Immun.* 13:1214-1220.
- Nagy B., Moon H.W. & Isaacson R.E. 1977. Colonization of porcine intestine by enterotoxigenic *Escherichia coli*: selection of piliated forms "in vivo", adhesion of piliated forms to epithelial cells "in vitro" and incidence of pilus antigen among porcine enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 16:344-352.
- Nagy B., Moon H.W., Isaacson R.E., To C.C. & Brinton C.C. 1978. Immunization of suckling pigs against enteric enterotoxigenic *Escherichia coli* infection by vaccinating dams with purified pili. *Infect. Immun.* 21:269-274.
- Ørskov I., Ørskov F., Sojka W.J. & Leach J.M. 1961. Simultaneous occurrence of *E. coli* B and L antigens in strains from diseased swine. *Acta Microbiol. Scand., Sect. B.*, 53:404-422.
- Sellwood R. 1982. *Escherichia coli*-associated porcine neonatal diarrhea: antibacterial activities of colostrum from genetically susceptible and resistant sows. *Infect. Immun.* 35:396-401.
- Silveira W.D., Yano T., Azevedo J.L. & Castro A.F.P. 1987. Plasmid-mediated production of a new colonization factor (F42) in enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Revta Brasil. Genet.* 10:635-646.
- Serafim M.B., Castro A.F.P. Reis M.H.L. & Trabulsi L.R. 1979. Passive immune haemolysis for the detection of heat-labile enterotoxin produced by *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 24:606-610.
- Söderlind O., Olsson E., Smith C.J. & Möllby R. 1982. Effect of parenteral vaccination of dams on intestinal *Escherichia coli* in piglets with diarrhea. *Infect. Immun.* 36:900-906.
- Stirm S., Ørskov F., Ørskov I. & Manisa B. 1967. Episomecarried surface antigen K88 of *Escherichia coli*. II. Isolation and chemical analysis. *J. Bacteriol.* 93:731-739.
- Yano T., Leite D.S., Camargo I.J.B. & Castro A.F.P. 1986. A probable new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs. *Microbiol. Immunol.* 30:495-508.

## SUSCEPTIBILIDADE DE *Haemonchus* spp. EM BOVINOS AO TRATAMENTO ANTI-HELMÍNTICO COM ALBENDAZOLE E OXFENDAZOLE<sup>1</sup>

ALFREDO CUNHA PINHEIRO<sup>2</sup> e FLÁVIO AUGUSTO MENEZES ECHEVARRIA<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Pinheiro A.C. & Echevarria F.A.M. 1990. [Susceptibility of *Haemonchus* spp. in cattle to anthelmintic treatment with Albendazole and Oxfendazole.] Susceptibilidade de *Haemonchus* spp. em bovinos ao tratamento anti-helmíntico com Albendazole e Oxfendazole. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):19-21. Embrapa-CNPO, BR 153 Km 141, Bagé, Rio Grande do Sul 96400, Brazil.

Sixteen holstein male calves, 6-10 months old, were allocated according to fecal egg counts to four treatments with four animals each and were treated as follows: Oxfendazole 2.5 mg/kg, Albendazole 5 mg/kg, Albendazole 7.5 mg/kg and undrenched controls. Seven days after treatment all animals were slaughtered for worm counting. The anthelmintic efficacy of the drugs were superior to 90% against *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia* spp. and *Cooperia* spp.. However, against *Haemonchus* the worm reduction was only 60% to Oxfendazole 2.5 mg/kg and 81% and 88% to Albendazole 5 and 7.5 mg/kg, respectively. The commercial suspensions used were found to have the concentrations indicated on the label and considering their low efficacies on *Haemonchus* it is concluded that this strain is partially resistant to these benzimidazoles.

**INDEX TERMS:** Anthelmintic susceptibility, *Haemonchus*, Albendazole, Oxfendazole.

**SINOPSE.**- Dezesesseis bezerros machos da raça holandesa, com 6 a 10 meses de idade, foram distribuídos de acordo com as contagens de ovos nas fezes em quatro tratamentos compostos de quatro animais cada. Os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos: Oxfendazole 2,5 mg/kg, Albendazole 5 mg/kg, Albendazole 7,5 mg/kg e lote controle. A eficácia anti-helmíntica dos produtos foi superior a 90% contra *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia* spp. e *Cooperia* spp. Entretanto, contra *Haemonchus* a redução foi somente de 60% para o Oxfendazole 2,5 mg/kg e de 81% e 88% para o Albendazole a 5 e 7,5 mg/kg, respectivamente. Os produtos comerciais usados estavam na concentração indicada pelos fabricantes e a baixa eficácia em *Haemonchus* permite concluir que esta estirpe é parcialmente resistente a esses benzimidazóis.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Susceptibilidade anti-helmíntica, *Haemonchus*, Albendazole, Oxfendazole.

### INTRODUÇÃO

Os estudos epidemiológicos e os programas de controle das helmintoses dos bovinos para a região de Bagé, Rio Grande do Sul, indicaram que os anti-helmínticos de largo espectro são os recomendados (Pinheiro 1970, 1983).

Segundo as normas (no prelo) da Comissão Nacional de Parasitoses instituída pela portaria nº 041 de 23 de novembro de 1983 do Ministério da Agricultura, os anti-helmínticos devem ser periodicamente reavaliados, prin-

cipalmente, nos aspectos de princípio ativo e de eficácia. Por outro lado, os produtores têm solicitado dos órgãos especializados informações a nível local, sobre a atividade das drogas mais usadas. O oxfendazole e o albendazole são anti-helmínticos de largo espectro de grande uso pelos produtores no estado. Segundo Armour & Bogan (1982) para um efetivo tratamento da parasitose gastrintestinal dos ruminantes são necessários que os produtos apresentem uma eficácia superior a 90%.

O oxfendazole foi avaliado por Downey (1976) em bezerros com infecção naturalmente adquirida, que verificou uma eficácia de 100% em *Haemonchus*, *Ostertagia* e *Cooperia*, com dosagens de 2,5 mg e 5 mg/kg, respectivamente.

A atividade anti-helmíntica do albendazole em nematódeos de bovinos foi determinada por Williams et al. (1977), que constataram que o produto na dose de 5 mg/kg, foi 100% eficaz em *Trichostrongylus axei*, *Oesophagostomum radiatum* e *Moniezia*; em *Haemonchus*, *Cooperia* e *Ostertagia* a ação foi de 99%.

Este trabalho teve por objetivo reavaliar os anti-helmínticos oxfendazole e albendazole em nematódeos de bovinos na sua eficácia atual, bem como na análise do princípio ativo e concentração.

### MATERIAL E MÉTODOS

Com base nas contagens de ovos de helmintos por grama de fezes (McMaster), foram escolhidos 16 bezerros com idades de 6 a 10 meses com infecções naturalmente adquiridas. Foram formados os seguintes tratamentos:

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 26 de julho de 1988.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Ovinos (CNPO), Embrapa, BR 153 Km 141, Bagé, RS 96400.

oxfendazole<sup>3</sup> 2,5 mg/kg;  
albendazole<sup>4</sup> 5 mg/kg;  
albendazole 7,5 mg/kg;  
lote controle.

Os animais foram mantidos em pastagens utilizadas exclusivamente por bovinos.

Para a administração dos medicamentos os animais foram pesados individualmente, tendo cada bezerro recebido a sua dose correspondente. Os anti-helmínticos foram adquiridos no comércio local. Também foram retiradas amostras de cada produto e remetido ao Laboratório Regional de Apoio Animal-LARA/POA, para análise da concentração de princípio ativo.

Aos 7 dias após a medicação todos os animais foram abatidos e necropsiados, para a coleta parasitológica, seguindo-se as recomendações contidas em "Guidelines for evaluation the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine)" da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.

Para a análise estatística os dados foram transformados para logaritmo, segundo a fórmula:  $Y = \log. 10 (x + 25)$ , segundo indicação de Donald et al. (1978), e submetidos à análise de variância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises químicas efetuadas pelo Laboratório Regional de Apoio Animal-LARA/POA, demonstraram que os produtos oxfendazole e albendazole estavam com concentrações de princípios ativos de acordo com as indicações dos fabricantes.

Os dados das contagens de helmintos dos diversos tratamentos estão contidos no Quadro 1. Neste observa-se que os animais-controles apresentavam níveis elevados de *Haemonchus*, *Cooperia* e *Ostertagia* e infecção baixa de *Trichostrongylus axei*. Os parasitos do intestino grosso *Oesophagostomum radiatum* e *Trichuris ovis*, com número muito reduzido e/ou prevalência irregular não apresentaram condições para serem avaliados.

No Quadro 2 estão expressas as percentagens de eficácia dos anti-helmínticos oxfendazole (2,5mg/kg) e albendazole (5-7,5 mg/kg). A atividade foi superior a 90% em *Ostertagia*, *T. axei* e *Cooperia*; estes resultados são similares aos verificados por Downey (1976) e Williams et al. (1977). Por outro lado, são divergentes em relação a *Haemonchus* em que aqueles autores constatarem eficácia superior a 90%, e neste trabalho observou-se uma eficácia de 81 a 88,5% para as dosagens de albendazole (5 e 7,5mg/kg) e de apenas 60% para oxfendazole 2,5 mg/kg. Após a análise da variância as médias de *Haemonchus* foram comparadas pelo teste de Duncan (Quadro 3).

Verifica-se no Quadro 3 que para um nível de 5% não houve diferença significativa entre os grupos controle e os tratados com oxfendazole 2,5 mg/kg e albendazole a 5 mg/kg. Para albendazole a 7,5 mg/kg (88,5% de redução) a eficácia foi significativa estatisticamente ao nível de 5%. Entretanto, deve-se considerar que foi encontrado um animal neste grupo (albendazole 7,5 mg/kg) com carga superior a 1.000 parasitos, o que, em se tratando de

Quadro 1. Resultados das contagens individuais de helmintos recuperados na necropsia de bezerras

	Controle	Oxfendazole		Albendazole			
		2,5 mg/kg		5,0 mg/kg		7,5 mg/kg	
<i>Haemonchus</i> spp.	6900/930/1680/ 8720	810/4320/90/2020		490/800/850/1250		240/1320/250/280	
<i>Ostertagia</i> spp.	1250/260/ 160/ 3290	0/ 0/ 0/ 10	200/160/ 20/ 60		0/ 0/ 0/ 0		0/ 0/ 0/ 0
<i>T. axei</i>	120/ 40/ 80/ 336	0/ 0/ 0/ 0	0/ 0/ 0/ 0		0/ 0/ 0/ 0		0/ 0/ 0/ 0
<i>Cooperia</i> spp.	2360/370/ 400/13660	0/ 0/ 0/ 0	20/ 30/ 0/ 20		10/ 0/ 0/ 0		0/ 0/ 0/ 0

Quadro 2. Percentagem de remoção de helmintos adultos de bovinos medicados com albendazole e oxfendazole

Helmintos	Albendazole		Oxfendazole
	5,0 mg/kg	7,5 mg/kg	2,5 mg/kg
<i>Haemonchus</i> spp.	81	88,5	60
<i>Ostertagia</i> spp.	91	100	99,1
<i>T. axei</i>	100	100	100
<i>Cooperia</i> spp.	99,5	99,9	100

Quadro 3. Teste de Duncan para as médias de tratamento (*Haemonchus* spp.)

Tratamento	Médias	5%	1%
Controle	4.557	a	a
OFZ 2,5 mg/kg	1.810	ab	a
ABZ 5,0 mg/kg	847	ab	a
ABZ 7,5 mg/kg	523	b	a

(a) Médias seguidas por letras distintas diferem ao nível de significância indicado.

<sup>3</sup>Systemex Coopers.

<sup>4</sup>Tortuga S.A.

um helminto de grande potencial biótico, uma redução deste nível não satisfaz biologicamente a um controle eficiente. Para um nível de 1% não há diferença significativa segundo consta do Quadro 3 em todos os tratamentos comparados. Como os produtos estavam com os princípios ativos e concentrações normais, e os animais foram tratados individualmente de acordo com o seu respectivo peso corporal, pode-se concluir que a reduzida ação dos mesmos em *Haemonchus*, caracteriza a ocorrência de resistência parcial desta estirpe a esses produtos, sendo esta maior a oxfendazole do que a albendazole.

A ocorrência de resistência a benzimidazóis e tetra/levamisóis no município de Bagé, foi efetuada por Echevarria & Pinheiro (1983) em nematódeos de ovinos onde foi detectado um alto índice de resistência frente a esses produtos.

Até o presente não existe referência na literatura nacional e internacional da notificação de resistência de helmintos de bovinos aos anti-helmínticos.

*Agradecimentos.*- Ao Dr. Aureo Martins Fulgêncio, Farm. Quím. CRF 10 627, do LARA/POA, pela análise química dos produtos oxfendazole e albendazole.

### REFERÊNCIAS

- Armour J. & Bogan J. 1982. Anthelmintics for ruminants. Br. Vet. J. 138:371-381.
- Downey N.E. 1976. Evaluation of oxfendazole against natural infections of gastrointestinal nematodes and lungworms in calves. Vet. Rec. 14:260-263.
- Donald A.D., Morley F.H.W., Waller P.J., Axelsen A. & Donnelly J.R. 1978. Availability to grazing sheep of gastrointestinal nematode infection arising from summer contamination of pastures. Aust. J. Agric. Res. 29:189-204.
- Echevarria F.A.M. & Pinheiro A.C. 1983. Levantamento preliminar sobre o controle do parasitismo e da ocorrência de resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos no município de Bagé. Embrapa-UEPAE/Bagé, Pesq. And. 2/83. 3p.
- Pinheiro A.C. 1979. Epizootiologia da helmintose dos bovinos de Bagé (Rio Grande do Sul, Brasil). Anais XII Congr. Bras. Met. Vet., Porto Alegre, p.247-255.
- Pinheiro A.C. 1983. Programas de controle de verminose, aspectos técnicos e relação custo-benefício. In: Anais Jornada sobre Produção do Novilho Jovem, Embrapa-UEPAE/Bagé, p.65-73.
- Williams J.C., Sheeland D.L., Fuselier R.H. 1977. The effect of albendazole and oxfendazole on parasites of cattle. In: Proc. Int. Conf. WAAVP, Sydney, Australia.
- World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) 1982. Guidelines for evaluation the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). Vet. Parasitol. 10:265-284.

# PREVALÊNCIA DE RINITE ATRÓFICA E DE PNEUMONIA EM GRANJAS ASSOCIADAS A SISTEMAS DE INTEGRAÇÃO DE SUÍNOS, NO ESTADO DE SANTA CATARINA<sup>1</sup>

JURIJ SOBESTIANSKY<sup>1</sup>, ITAMAR A. PIFFER<sup>2</sup> e ALFREDO R. FREITAS<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Sobestiansky J., Piffer I.A. & Freitas A.R. 1990. [Prevalence of atrophic rhinitis and pneumonia in farms associated to swine integration systems in the State of Santa Catarina.] Prevalência de rinite atrófica e de pneumonia em granjas associadas a sistemas de integração de suínos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):23-26. Embrapa-CNPISA, Cx. Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

A survey of the occurrence of atrophic rhinitis and pneumonia among finishing pigs at the slaughterhouse was conducted during the winter of 1985. The pigs were of various breeds, of both sexes, ranging in age from five and half to six and half months, originated from 133 herds. The herds were chosen randomly from five different integration systems. From 3,607 nasal conchae examined 52.6% were normal 31.4% were affected by grade 1 (slightly), 11.9% grade 2 (clearly atrophic) and 4.9% grade 3 (strongly atrophic). From 3,588 lungs examined 44.7% were normal and 44.9% showed hepatization of  $0 < x < 11.0\%$  (grade 2) of the lung volume, 7.6% with  $11.0 \leq x < 21.0\%$  (grade 3) and 2.9% with  $x \geq 21.0\%$  (grade 4). Atrophic rhinitis and pneumonia were diagnosed in 100% of the farms. It was concluded that atrophic rhinitis and pneumonia were disseminated in the finishing pigs herds associated to the integration systems in the State of Santa Catarina.

INDEX TERMS: Swine, atrophic rhinitis, pneumonia, epidemiology, prevalence.

**SINOPSE.-** No inverno de 1985 examinaram-se suínos terminados abatidos em frigoríficos, oriundos de 133 granjas de suínos associadas a cinco sistemas de integração em Santa Catarina, para avaliar a prevalência de rinite atrófica e de pneumonias. As granjas foram escolhidas de forma aleatória, em média 25 por integração. De cada granja foi examinado um lote, em média, de 27 animais de diferentes raças e ambos os sexos, com idades variando de cinco meses e meio a seis meses e meio. Dos 3.607 cornetos nasais examinados, 52,6% não apresentavam lesões macroscópicas, 31,4% estavam ligeiramente afetados (grau 1), 11,9% apresentavam atrofia definida (grau 2) e 4,9% atrofia grave (grau 3). Dos 3.588 pulmões examinados, 44,7% não apresentavam lesões, 44,9% mostravam hepatização em  $0 < X < 11\%$  do pulmão (grau 2), 7,6% com  $11 \leq X < 21\%$  (grau 3) e 2,9% com  $X \geq 21\%$  (grau 4). A rinite atrófica e a pneumonia foram diagnosticadas em 100% das granjas. Concluiu-se que a rinite atrófica e a pneumonia estão amplamente disseminadas nos rebanhos produtores de suínos terminados associados aos sistemas de integração no Estado de Santa Catarina.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: suínos, rinite atrófica, pneumonia, epidemiologia, prevalência.

## INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias, que afetam principalmente suínos de terminação, tais como a pneumonia enzoótica, a pleuropneumonia e a rinite atrófica ocupam um lugar de

destaque na patologia suína, devido a sua frequência e intensidade com que atingem os sistemas de produção. Elas são consideradas doenças multifatoriais porque sua frequência e grau de severidade dependem não somente da(s) característica(s) do(s) agente(s) e da imunidade do rebanho, mas também das condições ambientais em que são criados os animais (Madec & Tillon 1986).

A rinite atrófica bem como as pneumonias, provocam prejuízos econômicos consideráveis, em virtude da diminuição da média de ganho de peso diário em suínos de terminação (Straw et al. 1983, Muller & Abbott 1986), da morte de animais, das despesas com medicamentos (Protas et al. 1985) e, em nível de indústria, da condenação de carcaças afetadas pelas doenças.

As doenças respiratórias têm uma ampla distribuição geográfica. No Brasil elas ocorrem praticamente em todas as áreas produtoras de suínos. Neste contexto Brito et al. (1982), estudando a prevalência de rinite atrófica em suínos de pedigree no Estado de Santa Catarina, constataram, através do exame clínico, que 20,2% dos animais apresentaram a doença. Nascimento et al. (1986) examinando 1.259 suínos em nível de abatedouro verificaram que 180 (14,3%) e 220 (17,5%) apresentaram pneumonia e rinite atrófica, respectivamente.

A característica principal da suinocultura catarinense, que a distingue dos demais estados produtores, é a organização da produção em sistemas de integração. Os produtores integrados somam em torno de 50%, que se dedi-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 6 de setembro de 1988.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

cam primordialmente à suinocultura, e os índices de produtividade alcançados são semelhantes aos obtidos nos países desenvolvidos (Instituto de Planejamento e Economia Agrícola 1987).

Neste trabalho objetivou-se verificar a prevalência de rinite atrofica e de pneumonia em granjas produtoras de terminados, associadas a sistemas de integração no Estado de Santa Catarina.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido durante o inverno de 1985, envolvendo 133 granjas de suínos associadas a cinco sistemas de integração no Estado de Santa Catarina. Em cada sistema de integração, as granjas foram inicialmente classificadas segundo o número de matrizes e de cada grupo foi escolhida, de forma aleatória, uma amostra composta em média por 25 granjas. De cada granja foi examinado um lote de terminados de, em média, 27 animais de diferentes raças, ambos os sexos e com idades variando de cinco meses e meio a seis meses e meio. Os animais foram abatidos em matadouros comerciais, localizados na região de atuação dos sistemas de integração e examinados por técnicos da integração especialmente treinados para tal.

Foram examinados macroscopicamente 3.607 cornetos nasais e 3.588 pulmões.

Para exame dos cornetos, os focinhos foram seccionados transversalmente, entre os primeiros e segundos dentes pré-molares, e avaliados por apreciação visual segundo os critérios de classificação macroscópica de Martins (1984) que os classificou em Grau 0 (normal); Grau 1 (leve desvio do normal); Grau 2 (atrofia definida) e Grau 3 (atrofia grave ou completa).

Os pulmões foram examinados quanto a ocorrência, localização e severidade de hepatização pulmonar. Hepatização pulmonar foi definida como a área do pulmão que apresenta coloração variável de vermelho púrpura ao cinza e consistência mais firme ou friável do que o pulmão normal.

O percentual de tecido com hepatização foi estimado através do exame visual e da palpção do pulmão de acordo com Piffer (1981) em 1 (ausência de lesão nos lobos), 2 (quando as lesões ocupavam até 25% do volume do lobo), 3 (quando as lesões ocupavam de 25 a 50% do volume do lobo), 4 (quando as lesões ocupavam 50-75% do volume do lobo) e 5 (quando as lesões ocupavam 75-100% do volume do lobo). O percentual total da extensão de pulmão lesado foi calculado segundo Piffer et al. (1985).

Para fins e análise, os pulmões foram categorizados em função do percentual total de hepatização, a saber:

- Grupo 1 - pulmão normal (0%);
- Grupo 2 - animais com área pulmonar total hepatizada entre 0 e 11% exclusive ( $0 < X < 11\%$ );
- Grupo 3 - animais igual ou mais de 11% a menos de 21% de área pulmonar total hepatizada ( $11 \leq X < 21\%$ );
- Grupo 4 - animais com 21% ou mais de área pulmonar total hepatizada ( $X \geq 21\%$ ).

## RESULTADOS

Os resultados obtidos nos exames dos cornetos nasais e dos pulmões dos suínos das 133 granjas incluídas neste estudo estão sumarizados nos Quadros 1 a 3.

Dos 3.607 cornetos nasais examinados nos frigoríficos, verificou-se que 1.898 (52,6%) não apresentavam lesões macroscópicas de rinite atrofica e que os demais apresentavam alterações distribuídas de acordo com as

Quadro 1. Ocorrência e severidade de rinite atrofica em suínos abatidos no inverno de 1985, originados de granjas associadas a sistemas de integração do Estado de Santa Catarina

Número de cornetos nasais examinados	Número e percentual de animais com diferentes graus de atrofia dos cornetos				Número total e percentual de cornetos nasais com atrofia
	0	1	2	3	
3.607	1.898 (52,6)	1.133 (31,4)	431 (11,9)	145 (4,1)	1.691 (47,4)

Quadro 2. Classificação dos pulmões de suínos abatidos no inverno de 1985, oriundos de granjas associadas a sistemas de integração do Estado de Santa Catarina, de acordo com o percentual total de extensão de hepatização pulmonar

Número de pulmões examinados	Número (e percentual) de pulmões com diferentes percentuais de extensão de hepatização pulmonar				Número total (e percentual) de pulmões com hepatização pulmonar
	Pulmões normais	$0 < X < 11\%$	$11 \leq X < 21\%$	$X \geq 21\%$	
3.588	1.605 (44,7)	1.611 (7,6)	273 (44,9)	99 (2,9)	1.983 (55,3)

categorias de lesões de cornetos em Grau 1 (31,4%); Grau 2 (11,9%) e Grau 3 (4,9%).

Dos 3.588 pulmões examinados 1.605 (44,7%) não apresentavam lesões macroscópicas. Dos demais 1.983 (55,3%) apresentavam hepatização pulmonar 1.611 (44,9%), 273 (7,6%) e 99 (2,9%) corresponderam, respectivamente aos Grupos 2, 3 e 4, de acordo com o percentual de extensão de hepatização pulmonar. No Quadro 3 consta a distribuição da frequência de incidência de hepatização pulmonar nos sete lobos pulmonares dos 1.983 pulmões com lesões de pneumonia. A incidência ficou distribuída, na ordem decrescente, da seguinte forma: cardíaco esquerdo 1.262 (63,6%), cardíaco direito 1.174 (59,2%), apical direito 890 (44,9%), apical esquerdo 689

Quadro 3. Distribuição da incidência de hepatização nos sete lobos pulmonares dos 1.983 animais com lesões nos pulmões

Identificação dos lobos pulmonares	Frequência (%)
Cardíaco	Esquerdo 1.262 (63,6)
	Direito 1.174 (59,2)
Apical	Esquerdo 689 (34,7)
	Direito 890 (44,9)
Diafragmático	Esquerdo 460 (23,2)
	Direito 559 (28,2)
Intermediário	625 (31,5)

(34,7%) intermediário 625 (31,5%), diafragmático direito 559 (28,2%), diafragmático esquerdo 460 (23,2%).

A rinite atrófica e a pneumonia foram diagnosticadas em 100% das 133 granjas incluídas no estudo.

### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados de estudos epidemiológicos sobre a incidência de rinite atrófica e de pneumonia em suínos são bastante variáveis e dependem da finalidade da criação, das condições ambientais em que são mantidos os animais bem como do método de diagnóstico utilizado. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que 47,4% dos suínos examinados apresentaram lesões nos cornetos, o que é comparativamente mais baixo em relação aos resultados obtidos por Lünghi & Cal (1980) na Argentina, por Backström et al. (1982) nos Estados Unidos, por Martins (1984) no Brasil, por Le Foll et al. (1985) na França e por Wilson (1986) no Canadá, que examinando suínos de terminação encontraram prevalências de 95%, 58%, 52%, 54% e 60%, respectivamente.

A taxa de prevalência de rinite atrófica encontrada neste trabalho foi mais alta, no entanto, do que aquelas encontradas por Rosa et al. (1985) (23,6%) e por Nascimento et al. (1986) (23,5%) que examinaram cornetos de suínos de 6 a 8 meses de idade abatidos em estabelecimentos comerciais, bem como daquela obtida por Brito et al. (1982) examinando clinicamente suínos de 8 a 12 semanas de idade, em granjas de reprodutores no Estado de Santa Catarina. Poder-se-ia inferir que o resultado obtido por Brito et al. (1982) deve-se ao fato de que em granjas de reprodutores, muitos dos fatores de manejo citados por Penny (1977) como aqueles que predisõem os animais à rinite atrófica e que determinam a severidade da doença, não ocorrem. No entanto, deve-se ressaltar que o método de diagnóstico utilizado por Brito et al. (1982) foi o exame clínico, o qual, segundo Giles (1986), não reflete a realidade, porque muitos dos animais considerados sem doença, na realidade estivessem doentes, uma vez que em casos leves de rinite atrófica os sintomas não são acentuados.

Conforme pode ser observado no Quadro 1, as percentagens de ocorrência de rinite atrófica decresceram com o aumento do grau das lesões. Resultados semelhantes foram obtidos por Korenfeld-Kleiman et al. (1978) e por Rosa et al. (1985).

A rinite atrófica foi diagnosticada em 100% das granjas investigadas, o que demonstra que a doença está amplamente disseminada nos sistemas de integração no Estado de Santa Catarina. Nas 150 granjas produtoras de suínos de pedigree a taxa de prevalência encontrada por Brito et al. (1982) foi menor (20,2%), o que se deve provavelmente ao método de diagnóstico utilizado ou às condições em que são criados os animais. Os suínos criados em granjas de pedigree são alojados muitas vezes em baias com baixa lotação, freqüentemente com acesso a piquetes de terra ou gramado, e os cuidados dispensados pelos criadores quanto ao controle de roedores e à limpeza

za e desinfecção das instalações são contínuos e portanto mais eficientes.

Dos 3.588 pulmões examinados macroscopicamente 1.983 (55,3%) apresentaram hepatização pulmonar. Esta freqüência de incidência assemelha-se à encontrada por Brassine & Dewaele (1976) na Bélgica (57%) e por Le Foll et al. (1985) na França (54,7%). A percentagem encontrada neste trabalho é, no entanto, menor do que a observada por Wilson et al. (1986) no Canadá, que encontraram prevalências de 81,3% e 76,3% para animais de terminação examinados no período de verão e no período de inverno, respectivamente. Da mesma forma Madec & Kobisch (1982) encontraram uma prevalência maior (66,9%) na França.

Por outro lado, Flesja & Ulvesaether (1979) na Noruega, Nascimento et al. (1986) no Brasil e Hoy et al. (1987) na Alemanha Oriental, constataram uma incidência menor (5,4%, 14,3% e 35,2%, respectivamente). A menor taxa de prevalência encontrada por Hoy et al. (1987) deve-se ao fato de se tratar de reprodutores descartados.

As lesões de pneumonia se localizaram preferencialmente nos lobos cardíacos (Quadro 3) seguidos pelos apicais, intermediário e diafragmáticos. Estes resultados são similares aos obtidos por Malitte (1974), Brassine & Dewaele (1976) e Madec & Kobisch (1982).

Segundo Madec & Kobisch (1982) observa-se nas publicações posteriores a 1979 uma certa divergência sobre os resultados de estudos de prevalência devido principalmente, à variação de metodologias de avaliação das lesões pulmonares. Desta forma, a comparação de resultados com outros países deve ser avaliada com relativo cuidado evitando-se interpretações errôneas.

Segundo Malitte (1974) o estudo da incidência de lesões pulmonares em suínos terminados, em nível de frigorífico, além de se constituir no elo indispensável entre o exame clínico e laboratorial, permite avaliar o estado sanitário da granja. O resultado obtido neste trabalho evidencia que as 133 granjas incluídas no estudo, tinham animais com lesões de hepatização pulmonar, o que demonstra que a pneumonia está amplamente disseminada nos rebanhos produtores de suínos terminados, associados aos sistemas de integração no Estado de Santa Catarina.

Tanto a rinite atrófica como as pneumonias, sendo afecções crônicas, muitas vezes, não apresentam manifestação clínica evidente e não induzindo à morte são ignoradas pelo produtor. Segundo Malitte (1974) os resultados obtidos em estudo de prevalência de rinite atrófica e de pneumonias constituem o suporte de um levantamento sanitário de uma granja e com base nestes pode-se estabelecer um programa de profilaxia que se adapte à finalidade e estrutura da granja.

### REFERÊNCIAS

- Backström L., Hoefling D., Morkoc A., Vinson R. & Smith A.R. 1982. Atrophic rhinitis in swine: clinical signs, slaughter lesions, daily gain, disease transmission. Proc. 7th Int. Pig. Vet. Society Congress, Mexico, p. 116.

- Brassinne M. & Deweale A. 1976. Les maladies respiratoire du porc. Ann. Med. Vet. 120:477-492.
- Brito J.R.F., Piffer I.A., Brito M.A. & Freitas A.R. 1982. Rinite atrófica dos suínos. III. Influência da doença e da infecção por *Bordetella bronchiseptica* em suínos de "pedigree" do Estado de Santa Catarina. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 34(1):65-75.
- Flesja H.J. & Ulvesaether H.O. 1979. Pathological lesions in swine at slaughter. I. Baconers. Acta. Vet. Scand. (suppl.) 20:498-514.
- Giles C.J. 1986. Atrophic rhinitis, p. 455-468. In: Leman A.D., Straw B., Glock R.D., Mengeling W.L., Penny R.H.C & Scholl E. (eds). Disease of Swine. 6th ed. Iowa Univ. Press, Ames.
- Hoy von S.T., Melhorn G, Wähler M., Möckel H.G., Müller K., Kluthmann H. & Renatus K. 1987. Zur Häufigkeit entzündlicher Lungenveränderungen bei Sauen und deren Einfluss auf die Fruchtbarkeitsleistung. Mh. Vet. Med. 42:203-206.
- Instituto de Planejamento e Economia Agrícola. 1987. Suinocultura. In: Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina, Florianópolis, SC, v. 1, p. 324-340.
- Korenfeld-Kleiman L., Uruchurtu A. & Ocampo C.L. 1978. Observaciones sobre la frecuencia de lesiones macroscópicas sugestivas de rinitis atrofica en cerdos de abasto. Vet. Mex. 9(1):21-28.
- Le Foll P., Darre R. & Sansot J. 1985. Pathologie respiratoire des porcs charcutiers: Bilan lesional en Aquitaine. Rev. Med. Vet. 136(6):451-456.
- Lünghi C.A. & Cal G.L. 1980. Confirmation of atrophic rhinitis in swine in the North-east of Cordoba Province, Argentina. Gaceta Veterinaria 42(354):603-609.
- Madec F. & Kobisch M. 1982. Bilan lesionnel des poumons de porcs charcutiers a l'abbatoir. Rech. Por. France 14:405-412.
- Madec F. & Tillon J.P. 1986. The ecopathological approach in veterinary practice. Its application to the control of enzootic respiratory disease in intensive pigs units. Pig Vet. Soc. Proc. 15:7-26.
- Malitte A. 1974. Les examens des poumons de porcs à l'abbatoir: intérêt, methodes et resultats. Institute Technique du Porc, Paris. 10 p. (Bulletin IVP, 6)
- Martins E. 1984. Rinite atrófica dos suínos: estudo morfométrico e relação das alterações nasais com trequeíte e pneumonia. Tese Mestrado, UFPEL, Pelotas. 66 p.
- Müller R.D. & Abbot P.B. 1986. Estimating the cost of respiratory disease in hogs. Anim. Health and Nutrit. 41(2):30-34.
- Nascimento E.R., Rosa J.S. & Nascimento M.G.F. 1986. Relação entre broncopneumonia e rinite atrófica em suínos. Pesq. Vet. Bras. 6(1):11-14.
- Penny R.H. 1977. The influence of management changes on the disease picture in pigs. Vet. Annu. 17:111-122.
- Piffer I.A. 1981. Effect of age on the susceptibility of pigs to *Mycoplasma hyopneumoniae*. M. Sc. thesis, Iowa State Univ., Ames. 233 p.
- Piffer I.A., Freitas A.R., Munaro N.M. & Soncini R.A. 1985. Efeito das afecções pulmonares, observadas no abate, sobre o desenvolvimento dos suínos. An. 1º Congr. Latino Vet. Especialistas em Suínos, Rio de Janeiro, p. 105-106.
- Protas J.F.S., Sobestiansky J., Wentz I. & Piffer I.A. 1985. Custo de um surto de pleuropneumonia suína. Pesq. Agropec. Bras. 20(2):241-244.
- Rosa J.S., Nascimento M.G.F., Nascimento E.R. & Freitas A.R. 1985. Freqüência de rinite atrófica em suínos de abate no Estado de Santa Catarina. Pes. Vet. Bras. 5(3):73-76.
- Straw B.E., Burgi E.J., Hilley H.D. & Leman A.D. 1983. Pneumonia and atrophic rhinitis in pigs from a test station. J. Am. Vet. Med. Ass. 182(6):607-611.
- Wilson M.R., Takov R., Friendship R.M., Martin S.W., McMillan J., Hacker R.R. & Swamunathan S. 1986. Prevalence of respiratory disease and their association with growth rate and space in randomly selected swine herd. Can. J. Vet. Res. 50:209-216.

## EFEITO DE ESPIRAMICINA NA PROFILAXIA DA "CARA INCHADA" DOS BOVINOS

JÜRGEN DÖBEREINER<sup>2</sup>, IVAN V. ROSA<sup>3</sup>, IVERALDO S. DUTRA<sup>4</sup>,  
ANSELMO R. PEREIRA<sup>5</sup> e HANS BLOBEL<sup>6</sup>

**ABSTRACT.-** Döbereiner J., Rosa I.V., Dutra I.S., Pereira A. R. & Blobel H. 1990. [Effect of spiramycin in the prophylaxis of "Cara inchada" of cattle.] Efeito de espiramicina na profilaxia da "cara inchada" dos bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):27-29. Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica. RJ 23851, Brazil.

"Cara inchada" of cattle (CI), which means "swollen face", is a purulent inflammatory process of the periodontium of calves, resulting frequently in chronic ossifying periostitis and uni- or bilateral apposition of maxillary bone. Previous isolation trials have demonstrated the involvement of anaerobic bacteria, mainly of the genus *Bacteroides*, in the pathogenicity of the disease. To determine the effects of spiramycin in the prophylaxis of CI, two experiments were conducted on two farms with a high prevalence of the disease in previous years. On the first farm, 130 Nelore cows with their newborn calves were divided in two treatment groups: 1) Mineral supplementation with the addition of spiramycin at 50g of the antibiotic per 50kg of the mineral mix; 2) the same mineral mix without addition of spiramycin. On the second farm 168 Nelore cows and their calves received a mineral mix with the addition of 25g of spiramycin per 50kg of mix, while another 274 cows and their calves were used as controls, receiving only the mineral mix without the antibiotic. The evaluation of the efficiency of the prophylactic measures was by the periodic examination of the maxillary gingiva of the calves in each treatment group. The last examination was performed at weaning, when calves were 7 to 8 months old. No periodontal lesions were found in the calves from the mineral mix plus antibiotic treatment groups, whereas in the control groups the prevalence of periodontal lesions was 10.8 and 5.1 per cent respectively. The results of those experiments indicated that the periodontal lesions and the proper CI can be avoided by prophylactic administration of spiramycin. This gives evidence of the role of the bacteriae in the development of the periodontitis in calves.

**INDEX TERMS:** "Cara inchada" (swollen face), periodontal disease, periodontitis, cattle, prophylaxis, spiramycin.

**SINOPSE.-** A "cara inchada" dos bovinos (CI) caracteriza-se por processo inflamatório purulento do periodôncio de bezerros, que freqüentemente resulta em periostite crônica ossificante e conseqüente abaulamento uni ou bilateral da face. Trabalhos de isolamento mostraram a participação de bactérias anaeróbias, sobretudo do gênero *Bacteroides*, na patogenia da doença. Com a finalidade de testar a eficiência de espiramicina na profilaxia da CI, foram conduzidos experimentos em duas fazendas com elevada prevalência da doença em períodos anteriores (54% e 30% respectivamente). Na primeira propriedade foram

utilizadas 130 vacas Nelore, com bezerros recém-nascidos, que foram distribuídos em dois lotes, um recebendo mineral e o outro mistura mineral contendo espiramicina, na proporção de 50g do antibiótico por 50kg de suplemento mineral. Na segunda propriedade foram utilizadas 168 vacas Nelore com bezerros recém-nascidos, recebendo mistura mineral com 25g de espiramicina por 50kg de suplemento mineral; outros 274 vacas com seus bezerros serviram de controle, recebendo apenas mistura mineral. A avaliação da eficácia da medida na profilaxia da CI foi feita através de exames clínicos da gengiva maxilar dos bezerros dos diferentes lotes. O exame final foi feito ao desmame dos bezerros, quando eles tinham aproximadamente 8 meses de idade. Não foram encontradas lesões peridentárias nos bezerros dos lotes que receberam espiramicina no suplemento mineral, ao passo que nos lotes de controle a prevalência das lesões peridentárias foi de 10,8% e 5,1%, respectivamente.

Os resultados desta experimentação indicam que as lesões peridentárias e, com isso, a CI podem ser evitados pela administração profilática de espiramicina. Isso evidencia o papel das bactérias no desenvolvimento da periodontite e suas conseqüências nos bezerros.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** "Cara inchada", doença peridentária, periodontite, bovinos, profilaxia, espiramicina.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 24 de setembro de 1988.

Trabalho apresentado no XXI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Salvador, Bahia, 2 a 7 de outubro de 1988.

<sup>2</sup> Embrapa - Núcleo de Pesquisa de Saúde Animal (NPSA), Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

<sup>3</sup> Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Caixa Postal 154, Campo Grande, MS 79100.

<sup>4</sup> Consultor da Embrapa-NPSA e bolsista do CNPq na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

<sup>5</sup> Médico Veterinário, Fazenda, Recreio, Campos Novos Paulista, SP 19960.

<sup>6</sup> Institut für Bakteriologie und Immunologie, Justus Liebig-Universität Giessen, Frankfurter Str. 107, D-6300 Giessen, RFA.

## INTRODUÇÃO

A "cara inchada" dos bovinos (CI) caracteriza-se clinicamente pela formação de bolsa peridentárias com retração gengival e exposição de raízes, afrouxamento e perda de dentes. As lesões são inicialmente observadas nas papilas interdentárias entre os segundo e terceiro dentes premolares maxilares<sup>7</sup> dos bezerros. O processo inflamatório purulento no periodôncio, de odor pútrido *sui generis*, resulta freqüentemente em periostite crônica ossificante e abaulamento facial, o que deu origem à denominação de "cara inchada". As alterações da para- e periodontite podem ocorrer uni ou bilateralmente e afetam os bovinos na fase da primeira dentição. A doença pode ser observada em mais de 50% dos bezerros de uma propriedade e muitos deles morrem de caquexia devida à inanição pelas dificuldades de mastigação e à diarreia freqüentemente associada à doença. A CI tem causado enormes prejuízos aos pecuaristas, sobretudo na região Centro-Oeste do Brasil. (Döbereiner et al. 1974)

Em experimentos com suplementação mineral, considerada completa e equilibrada, realizados em Mato Grosso do Sul, em duas propriedades com prevalência de 56% e 23% de CI, não se conseguiu reduzir a prevalência da doença em bezerros mantidos em regime de pasto até o desmame (Souza 1984). Estes resultados experimentais não corroboraram a hipótese de que a CI seja causada por deficiência ou desequilíbrio mineral.

Os isolamentos de bactérias das lesões peridentárias da CI demonstraram a presença de *Bacteroides* (pigmentados de negro e não pigmentados), *Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces israelii* (Blobel et al. 1985). Essas bactérias produzem enzimas e endotoxinas com potencial de destruição tissular (Dutra et al. 1986).

Com o objetivo de consubstanciar o raciocínio que resulta dessas pesquisas, isto é, que bactérias seriam primariamente responsáveis pela etiopatogenia da CI ou seja pelo desenvolvimento das lesões da periodontite e suas conseqüências clínico-patológicas, e que espiramicina teria efeito na profilaxia da doença, foram realizados dois experimentos com a utilização do antibiótico adicionado ao suplemento mineral de vacas com bezerros.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Locais de experimentação

Um dos experimentos foi realizado em 1986/87 na Fazenda Bt, município de Jaraguari, Mato Grosso do Sul, e o outro em 1987/88 na Fazenda Rc, município de Campos Novos Paulista, Estado de São Paulo. Ambas as propriedades estão situadas em áreas anteriormente sob vegetação de cerrado e atualmente com pastos formados de *Brachiaria decumbens* de 2 a 8 anos atrás, e possuem rebanhos de gado Nelore, nos quais foram constatadas, em datas anteriores, prevalências de 54% e 30% de "cara inchada" (CI), respectivamente.

### Espiramicina

O antibiótico espiramicina foi adicionado aos dois suplementos minerais, em duas concentrações diferentes, sob forma do aditivo "Espiramix-500" (Rhodia-Mérieux), contendo 50% do antibiótico. Na Fazenda Bt foram usados 50g de espiramicina (100g do aditivo) e na Fazenda Rc, 25g de espiramicina (50g do aditivo) para cada 50kg de suplemento mineral.

A espiramicina foi escolhida para estes experimentos em face à sua concentração relativamente alta no leite e na saliva como vias da excreção.

### Animais de experimentação

Na Fazenda Bt, em Mato Grosso do Sul, foram constituídos dois lotes (A e B) de 65 vacas cada e seus respectivos bezerros. Esses animais, a partir de julho de 1986, foram introduzidos alternadamente em dois pastos vizinhos formados há 4 anos, na medida que os bezerros alcançaram 1 semana de idade. O lote A recebeu um suplemento mineral com adição de espiramicina e o lote B recebeu a mesma mistura mineral sem espiramicina e serviu de controle. Cada 14 dias foi feita a rotação dos lotes nos dois pastos, mantendo-se o fornecimento à vontade em cochos cobertos das respectivas misturas minerais para cada lote. A gengiva maxilar de todos os bezerros foi examinada três vezes com intervalos de 2 meses e uma quarta vez por ocasião do desmame, 8 meses e meio após o início do experimento.

Na Fazenda Rc, no Estado de São Paulo, o lote A foi constituído de 168 vacas com bezerros recém-nascidos que foram mantidas em pastos formados 2 anos atrás e que receberam, a partir de agosto de 1987, suplemento mineral com espiramicina, em cocho coberto. Como lote B (controle) foram utilizadas 274 vacas e seus bezerros, mantidos em pastos formados 2 a 8 anos atrás e receberam o suplemento mineral sem adição de espiramicina. Devido ao número elevado dos bezerros envolvidos na experimentação nesta fazenda, a gengiva maxilar de somente uma parte dos bezerros foi examinada, concentrando-se os exames sobretudo nos animais que apresentaram sinais clínicos suspeitos de CI, como mau estado de nutrição, pelagem áspera e sinais de diarreia. Desta maneira, do lote A foram examinados 30 de 168 bezerros no primeiro exame, 2 meses e meio após o início do experimento, e 47 de 150 bezerros no segundo exame, por ocasião do desmame 7 meses após o início do experimento, e do lote B, 97 de 380 bezerros no primeiro exame e 106 de 274 bezerros no segundo exame.

O exame da gengiva maxilar dos bezerros foi realizado utilizando-se abridor de boca e uma pequena lanterna de mão, de modo que as possíveis alterações macroscópicas da gengiva ao nível dos dentes premolares maxilares pudessem ser percebidas pela inspeção, palpação e verificação de odor.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos exames realizados nos bezerros dos lotes A (suplemento mineral com adição de espiramicina) e lotes B (suplemento mineral sem espiramicina), nas duas propriedades, estão resumidos no Quadro 1. A administração do antibiótico nos suplementos minerais reduziu a prevalência das lesões peridentárias da CI a zero. Nos lotes B (que não receberam a espiramicina) observaram-se 10,8% e 5,1% de lesões, respectivamente. Deste modo, há indicações de que a utilização de espiramicina como aditivo a misturas minerais ser eficaz na profilaxia da

<sup>7</sup> Filogenicamente tratam-se de Pd<sub>3</sub> e Pd<sub>4</sub> maxilares.

Quadro 1. Resultados dos exames da gengiva maxilar de bezerros de experimentação com adição de espiramicina a suplementos minerais, em duas fazendas com a doença "cara inchada" dos bovinos (CI)

Lote de vacas c/bezerros	1º exame			2º exame			3º exame			Exame final			Total de casos de CI observados durante o período do experimento
	Idade dos bezerros	Nº examinado /de total	Casos c/lesões peridentárias	Idade dos bezerros	Nº examinado /de total	Casos c/lesões peridentárias	Idade dos bezerros	Nº examinado /de total	Casos c/lesões peridentárias	Idade dos bezerros	Nº examinado /de total	Casos c/lesões peridentárias	
<i>Experimento na Fazenda Bt, município de Jaraguari, Mato Grosso do Sul</i>													
Lote A (c/espiramicina)	2,5 meses	65/65	0	3,5 meses	65/65	0	5,5 meses	65/65	0	8 meses	65/65	0	0
Lote B (controle)	2,5 meses	65/65	0	3,5 meses	65/65	7	5,5 meses	65/65	2 (casos anteriores)	8 meses	65/65	2 (casos anteriores)	7
<i>Experimento na Fazenda Rc, município de Campos Novos Paulista, São Paulo</i>													
Lote A (c/espiramicina)	4 meses	30/168 <sup>a</sup>	0	(Exames não realizados)			8 meses	47/150 <sup>a</sup>	0	0	0	0	
Lote B (controle)	2-5 meses	97/380 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	(Exames não realizados)			6-8 meses	106/274 <sup>a</sup>	11 (casos novos)	14 (5,1%)			

<sup>a</sup> Examinou-se a cavidade bucal principalmente dos bezerros clinicamente suspeitos de estarem afetados pelas lesões peridentárias da CI;

<sup>b</sup> Os três bezerros foram tirados do experimento para fins de estudo.

doença. Os índices relativamente baixos de CI nos lotes de controle devem-se provavelmente à tendência natural da diminuição da prevalência da doença em pastos formados há mais tempo, segundo observações feitas em várias regiões de ocorrência da CI.

Na Fazenda Bt foram efetuados quatro exames. No 2º exame foram observados 7 casos de CI no lote B, de controle. No 3º exame permaneciam apenas 2 casos positivos de CI, que foram os mesmos que se mantiveram no exame final. Os demais 5 casos constatados no 2º exame não foram observados no 3º exame e no exame final. Se tivesse havido apenas um exame inicial e um final, a prevalência teria sido de apenas 3%.

Nessa mesma propriedade, os bezerros de ambos os tratamentos foram desmamados com um peso médio de 182kg (macho e fêmea), que é considerado um excelente peso de desmama; a mortalidade foi zero, que é também excepcional. O consumo da mistura mineral foi superior a 70g/cabeça/dia, com a tendência a maior consumo da mistura com o aditivo.

Na Fazenda Rc, o lote A foi mantido somente nos pastos novos, com 2 anos de formado em área de cerrado cultivada pela primeira vez, ao passo que os animais do lote B, devido ao tamanho insuficiente desses pastos, foram mantidos quase exclusivamente (exceto 15 dias) nos pastos mais antigos da fazenda. A ausência de lesões peridentárias nos bezerros do lote A dessa maneira é especialmente significativa, tendo em vista que a prevalência da CI na área recém-formada da fazenda era relativamente alta.

Convém frisar que observamos, ao exame dos bezer-

ros, que a gengiva maxilar dos animais do lote A (que receberam a espiramicina) sempre tinha aspecto sadio, apresentando-se de maneira retilínea e circundando os dentes de forma perfeita, ao passo que a gengiva dos animais dos lotes B (sem espiramicina) mostrou, em vários casos, ligeiras ondulações na sua margem, evidenciando assim pequenas retrações, casos estes que não levamos em consideração no quadro da prevalência da doença (Quadro 1). Esse fato reforça a observação do efeito favorável do antibiótico na profilaxia da CI.

Os resultados obtidos nessa experimentação mostram a eficiência do antibiótico utilizado na profilaxia da CI e indicam que as bactérias podem ser consideradas a causa primária das lesões peridentárias e suas conseqüências clínico-patológicas.

*Agradecimentos.* - Ao Prof.Dr.Dr.h.c. Gerrit Dirksen, Universidade de Munique, RFA, pelo apoio dado na escolha do antibiótico utilizado na presente experimentação; à firma Rhodia-Mérieux, São Paulo, pela doação de Espiramix-500 empregado como aditivo ao suplemento mineral; bem como aos Srs. Olegário Pereira da Silva Netto e Sérgio Maggi, proprietários das fazendas envolvidas neste estudo, pela valiosa colaboração prestada.

## REFERÊNCIAS

- Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984. Bacterial isolations from "Cara inchada"-lesions of cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):73-77.
- Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C.H. 1974. "Cara inchada", doença peridentária em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 9:63-85.
- Dutra I.S., Kanoe M., Blobel H. 1986. Atividades enzimáticas e endotóxicas de bactérias isoladas de lesões peridentárias da "cara inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(2):59-63.
- Souza J.C. 1984. Comunicação pessoal. (Embrapa-CNPGC, Campo Grande, Mato Grosso do Sul)

## PREVALÊNCIA DO VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM UMA COMUNIDADE DE AVES ORNAMENTAIS<sup>1</sup>

JOSÉ NELSON S.S. COUCEIRO<sup>2</sup>, RAIMUNDO D. MACHADO<sup>2</sup>, ELIANE S.S. COUCEIRO<sup>2</sup> e MAULORI C. CABRAL<sup>2</sup>

ABSTRACT.- Couceiro J.N.S.S., Machado R.D., Couceiro E.S.S. & Cabral M.C. 1990. [Prevalence of the Newcastle disease virus in an ornamental bird flock.] Prevalência do vírus da doença de Newcastle em uma comunidade de aves ornamentais. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):31-33. Depto Virologia, Inst. Microbiologia, UFRJ, Cx. Postal 68040, Rio de Janeiro, RJ 21944, Brazil.

A virological surveillance study on a bird flock over a period of three years resulted in the isolation of 27 strains of Newcastle disease virus (NDV), in 360 fecal samples. These isolations occurred from May to September and from November to January, with the highest percentage in the first two years of the investigation (1981/1982 and 1982/1983). Feces were collected from healthy birds and virus presence was investigated by inoculation into fertile eggs. The positive isolates were identified by the hemagglutination inhibition test (HI).

INDEX TERMS: Newcastle disease virus, isolation, ornamental birds.

SINOPSE.- O estudo de vigilância virológica de uma comunidade de pássaros num período de três anos, resultou no isolamento de 21 amostras de vírus da doença de Newcastle (NDV), entre 360 materiais fecais examinados. Estes isolamentos ocorreram de maio a setembro e de novembro a janeiro, com mais alta porcentagem nos primeiros dois anos de investigação (1981/82 e 1982/83). Os pássaros aparentemente saudáveis tiveram suas fezes coletadas e a presença viral foi investigada pela inoculação em ovos embrionados. Os vírus isolados foram identificados por inibição de hemaglutinação (HI).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vírus da doença de Newcastle, isolamento, aves ornamentais.

### INTRODUÇÃO

Os vírus responsáveis pela doença de Newcastle têm sido associados com quadros clínicos, de patogenicidade variável, entre aves selvagens e domésticas. Infecções por estes vírus tem ocorrido, em muitas regiões do mundo, afetando e algumas vezes matando populações inteiras de pássaros selvagens ornamentais e de granja, no último caso, freqüentemente, levando a grandes perdas econômicas (Simmons 1967, Shortridge et al. 1978, Hirai et al. 1980, Onunkwo & Momoh 1980, Sulochana et al. 1981, Bell et al. 1984, Maiti et al. 1984).

As porcentagens significantes de isolamentos de uma grande diversidade antigênica de amostras de vírus da doença de Newcastle e a presença dos respectivos anticorpos específicos, em todo o mundo (Pearson & McCa-

am 1975, Sulochana et al. 1981), estimularam nosso interesse em investigar a circulação destes vírus entre pássaros ornamentais brasileiros.

A disseminação de infecções por NDV em todo mundo, afetando aves selvagens, domésticas e ornamentais, causando quadros graves e até fatais, incitaram nosso interesse na investigação da incidência dos vírus. Uma comunidade de aves ornamentais em gaiolas (sentinelas) foi escolhida para objeto de nosso estudo. As aves destas comunidades tinham contacto com tratadores humanos e eram sujeitas à incursão de aves selvagens.

### MATERIAL E MÉTODOS

Trezentos e sessenta amostras de fezes frescas de aves ornamentais foram coletadas de gaiolas de pássaros, no distrito de Lins de Vasconcelos, um subúrbio da cidade do Rio de Janeiro. Estudamos um total de 110 pássaros, enquadrados em 10 diferentes espécies e 4 famílias diversas: *Faringidae*, *Fringilidae*, *Psittacidae* e *Picidae*.

Os pássaros foram mantidos confinados, em gaiolas metálicas cobertas, que os tornavam suscetíveis à visitação de pássaros de vida livre, tais como: pardais (*Passer domesticus*), rolinhas (*Columba spix*) e bico-de-lacre (*Estrilda cinerea*).

Antes da coleta dos materiais fecais, as gaiolas eram limpas, por remoção de material fecal eliminado e resíduos alimentares. As amostras fecais eram grupadas em 36 séries de 10, coletadas a cada mês, de julho de 1981 até junho de 1984 (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, V, W, X, Y, Z, A', B', C', D', E', F', G', H', I', J').

*Hospedeiros, amostras virais, soros padrões, eritrócitos e soluções*

O sistema hospedeiro empregado foi constituído por ovos em-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 15 de outubro de 1988.

Trabalho realizado com auxílio do CNPq e CEPG/UFRJ.

<sup>2</sup> Departamento de Virologia, Instituto de Microbiologia, UFRJ, Centro de Ciências da Saúde, Bloco I, Ilha do Fundão, Cidade Universitária, Cx. Postal 68040, Rio de Janeiro, RJ 21944.

brionados de galinhas Leghorn, com idade de 9-12 dias de incubação (Paul 1975).

As seguintes amostras virais padrões e respectivos soros padrões, obtidos do National Institute for Medical Research (Mill Hill, London), St. Jude Children's Research Hospital (USA) e Fundação Oswaldo Cruz, foram usados: A/turkey/Weybridge/79 ( $H_1N_1$ ), A/duck/Germany/1215/73 ( $H_2N_3$ ), A/duck/Ukraine/63 ( $H_3N_8$ ), A/duck/Czechoslovakia/56 ( $H_4N_6$ ), A/tern/S. Africa/61 ( $H_5N_3$ ), A/sherwater/E.Aust./72 ( $H_6N_5$ ), A/FPV/Rostock/34 ( $H_7N_1$ ), A/turkey/Ontario/6118/68 ( $H_8N_4$ ), A/turkey/Wisconsin/66 ( $H_9N_2$ ), A/chicken/Germany/"N"/49 ( $H_{10}N_7$ ), A/duck/England/56 ( $H_{11}N_6$ ) e A/duck/Alberta/60/76 ( $H_{12}N_5$ ). As amostras selvagens (amostra velogênica SO-93 - Embrapa) e vacinais (Lasota e B<sub>1</sub>) foram fornecidas pela Embrapa, Rio de Janeiro. Elas eram preparadas em ovos convencionais ou SPF (Specific pathogenic free), para obtenção das preparações virais de trabalho.

Soros imunes para NDV, usados em reações de inibição de hemaglutinação (HI), foram obtidos em galinhas inoculadas com a amostra Lasota (Wigg et al. 1979). Os soros foram tratados com enzima destruidora de receptores (RDE), suspensões de hemácias de ganso a 50% (v/v) e por inativação a 56°C por 30 minutos (Couceiro 1978). Os eritrócitos e soluções diversas foram preparados conforme Couceiro (1978).

#### Métodos, isolamento e identificação de amostras

As fezes eram coletadas do fundo das gaiolas, no horário da manhã, com ajuda de uma espátula, algum tempo após o processo diário de limpeza e alimentação, para que se tivesse a certeza da viabilidade das amostras virais possivelmente isoláveis. As amostras eram, então, imersas em 5,0 ml de solução de Gey ABC com antibióticos, e processadas como descrito previamente (Couceiro 1978).

Todas as amostras foram passadas três vezes em ovos embrionados, submetendo-as, nos intervalos entre as inoculações, a sucessivas reações de hemaglutinação (HA) (Sever 1962). Fluídos alantóicos eram considerados positivos quando com títulos iguais ou maiores a 16, o título final sendo considerado como aquele correspondente a maior diluição com 100% de hemaglutinação. Fluídos positivos eram inoculados por diversas vezes, em ovos embrionados, até que se obtivesse 256, como título mínimo de hemaglutinação.

As amostras virais isoladas e padrões foram concentradas por ultracentrifugação (McNulty et al. 1975) e submetidas a testes de HI, como metodologia de identificação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos usados para a preparação das 360 amostras fecais examinadas, por um período de 36 meses, resultaram no isolamento de 27 amostras de NDV. O Quadro 1 mostra os resultados de isolamento, e também indica o ano (2º) de maior incidência de amostras de NDV. Isto pode ser visto na Fig. 1, que mostra a incidência mensal de vírus da doença de Newcastle, no período de 3 anos de pesquisa.

Quadro 1. Percentagens de isolamento de amostras de NDV

Vírus	1º ano		2º ano		3º ano		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NDV	7	29,2	12	50,0	5	20,5	27	100,0

O ciclo de replicação de vírus respiratórios (vírus Influenza) tem sido demonstrado ocorrente a nível de mucosa intestinal de patos, com isolamento viral em fezes (Webster et al. 1978) e trato respiratório. Em nossa experiência prévia, envolvendo o estudo de 1735 espécimes clínicos de cloaca e orofaringe de aves ornamentais, não logramos êxito no isolamento de vírus respiratórios. Contudo nossa prática de isolamento viral a partir de fezes, diretamente de solos visitados por aves selvagens ou de gaiolas, indica-a como boa metodologia (Couceiro et al. 1982a,b).

Quadro 1 e Fig. 1 mostram os níveis de isolamento de amostras virais nos três anos de investigação, com picos de maio a setembro e de novembro a janeiro, com maior intensidade no segundo ano de investigação.

A percentagem total de isolamento, em fezes, manteve-se constante nos meses de inverno e verão (11,10%). Esta observação contrasta com os dados obtidos por Shorrid-

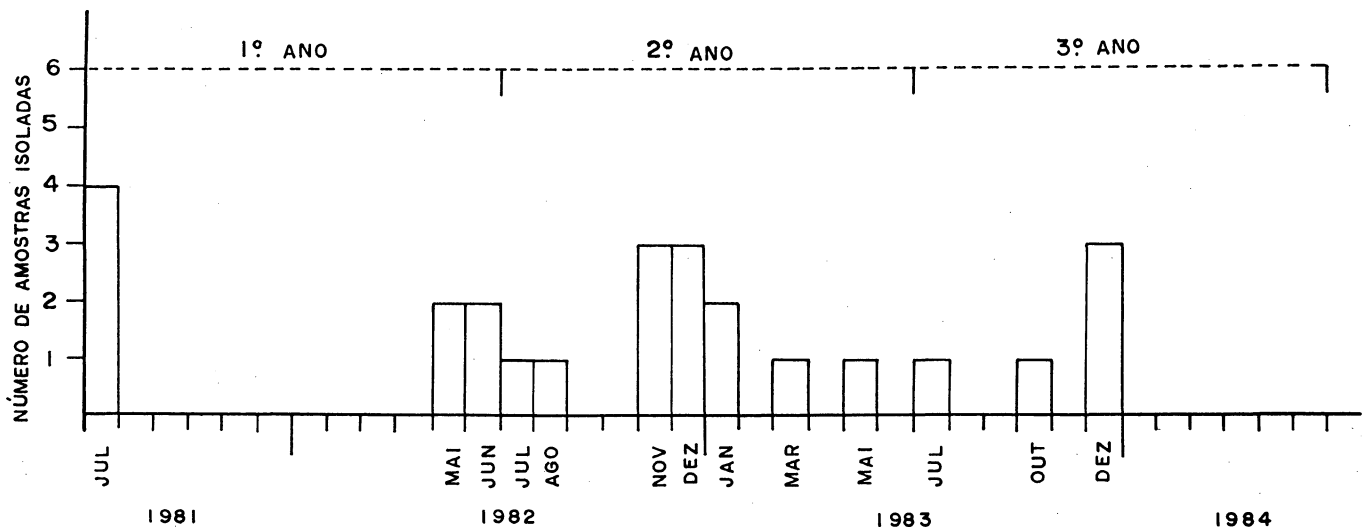


Fig. 1. Número de amostras de vírus da doença de Newcastle (NDV) isoladas, durante 3 anos de investigação.

ge (1980), em patos assintomáticos, entre os quais ele observou uma maior percentagem de isolamento nos meses de inverno. Esta diferença poderia ser explicada, provavelmente, pela menor variação de temperatura entre as diferentes estações, em nosso clima tropical. Baixas percentagens de isolamento viral através de todo um ano de pesquisa, como aquelas observadas na faixas 1981/82 e 1983/84, já tinham sido observadas, previamente, em aves sentinelas (Halvorson et al. 1985).

Nossos resultados, obtidos entre aves saudáveis, reiteraram a importância do isolamento prévio de diferentes amostras de vírus da doença de Newcastle, a partir do trato respiratório, fezes ou órgãos necropsiados de aves selvagens e ornamentais, saudáveis ou doentes (Spalatin & Hanson 1975, Vickers & Hanson 1975, Eaves & Grimes 1978, Hirai et al. 1980, Hanson 1982, Eisa & Omer 1984).

Como nossa investigação foi feita em pássaros cativos, que tinham contatos apenas eventuais com aves selvagens, a influência de fatores tais como o agrupamento em gaiolas ou a propagação de vírus via alimento ou água pode ser importante (Alexander et al. 1984).

#### REFERÊNCIAS

- Alexander D.J., Pearson G. & Marshall E. 1984. Infection of fowls with Newcastle disease virus by food contaminated with pigeon faeces. *Vet. Rec.* 115:601-602.
- Bahl A.K., Pomerey B.S. & Easterday B.C. 1975. Isolation of two turkey Influenza A viruses in Minnesota. *Avian Dis.* 19:375-384.
- Couceiro J.N.S.S. 1978. Inquérito virológico e sorológico de vírus Parainfluenza em crianças no Rio de Janeiro. *An. Microbiol., Rio de J.*, 22: 111-134.
- Couceiro J.N.S.S., Chaves J.R.S., Brandão C.T.P. & Machado R.D. 1982a. Isolamento e caracterização de vírus Influenza A, em aves ornamentais no Rio de Janeiro. *An. Microbiol., Rio de J.*, 27:159-167.
- Couceiro J.N.S.S., Machado R.D. & Chaves J.R.S. 1982b. Influenza A, isolamento e caracterização de vírus isolados de aves de vida livre. *An. Microbiol., Rio de J.*, 27:193-204.
- Couceiro J.N.S.S. 1986. Estudo da ocorrência de infecções por vírus Influenza A e vírus da doença de Newcastle numa comunidade de aves ornamentais em cativeiro. Tese de Doutorado, Inst. Microbiologia, Univ. Fed. Rio de Janeiro.
- Eaves F.W. & Grimes T.M. 1978. The isolation and characterization of a Newcastle disease virus from an exotic parrot. *Aust. Vet. J.* 54:534-537.
- Eisa M. & Omer E.A. 1984. A natural outbreak of Newcastle disease in pigeon in the Sudan. *Vet. Rec.* 114:297.
- Halvorson D.A., Kelleher C.J. & Senne D.A. 1985. Epizootiology of avian Influenza: effect of season on incidence in sentinel ducks and domestic turkeys in Minnesota. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:914-919.
- Hirai K., Yamashita T., Sawa H. & Shimakura S. 1981. An occurrence of Newcastle disease in other psittacine birds exposed to imported cackatoos (*Kataköe sulphurea*). *Jap. J. Vet. Sci.* 43:557-559.
- Hirai K., Yamashita T., Sawa H., Takahashi M. & Shimakura S. 1980. Isolation of Newcastle disease virus from imported parrots (*Karaköe sulphurea*). *Jap. J. Vet. Sci.* 42:381-385.
- Laver W.G. & Webster R.G. 1979. Ecology of Influenza viruses in lower mammals and birds. *Brit. Med. Bull.* 35:29-33.
- McNulty M.S., Gowans E.J., Houston M.J. & Fraser G. 1975. Neuraminidase content of strains of Newcastle disease virus which differ in virulence. *J. Gen. Virol.* 27:399-402.
- Maiti N.K., Sharma S.N. & Sambyal D.S. 1984. Isolation of a mesogenic strain of Newcastle disease virus from a hen. *Vet. Rec.* 115:251.
- Majiyagbe H.A. & Natwathe D.R. 1981. Isolation of virulent Newcastle disease virus from apparently normal ducks in Nigeria. *Vet. Rec.* 108: 190.
- Onunkwo O. & Momoh M.A. 1980. Isolation of Newcastle disease virus from a parrot (*Psittacus erithracus*) in Nigeria. *Vet. Rec.* 107: 179.
- Paul J. 1975. Cell and tissue culture. 5th ed. Churchill Livingstone, London.
- Pearson G.L. & McCaam M.K. 1975. The role of indigenous wild semidomestic, and exotic birds on disease in Southern California, 1972-1973. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 167:610-614.
- Sever J.L. 1962. Application of a microtechnique to viral and serological investigations. *J. Immunol.* 88:320-329.
- Shortridge K.F., Alexander D.J., Hu L.Y. & Kam S.L. 1978. Isolation of Newcastle disease virus from phasianidae in Hong Kong. *J. Comp. Pathol.* 88:633-636.
- Shortridge K.F. 1980. Isolation of Ortho-and-Paramyxoviruses from domestic poultry in Hong Kong between November 1977 and October 1978 and comparison with isolations made in the preceding two years. *Res. Vet. Sci.* 28:296-301.
- Simmons G.C. 1967. The isolation of Newcastle disease virus in Queensland. *Aust. Vet. J.* 43:29-30.
- Spalatin J. & Hanson R.P. 1975. Epizootiology of Newcastle disease in waterfowl. *Avian Dis.* 19:573-582.
- Sulochana S., Pillai R.M., Nair G.K., Sudharma D. & Abdulla P.K. 1981. Epizootiology of Newcastle disease virus in India house crows. *Vet. Rec.* 109:249-251.
- Vickers M.L. & Hanson R.P. 1982. Characterization of isolates of Newcastle disease virus from migratory birds and turkeys. *Avian Dis.* 26: 127-133.
- Webster R.G., Yakhno M., Hinshaw V.S., Bean W.J. & Murti, K.G. 1978. Intestinal Influenza replication and characterization of Influenza viruses in ducks. *Virology* 84:268-278.
- Wigg M.D., Machado R.D. & Couceiro J.N.S.S. 1979. Nova técnica para obtenção de soro imune anti-vírus Influenza. *An. Microbiol., Rio de J.*, 24:135-144.

## INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Senecio desiderabilis* (Compositae) EM BOVINOS<sup>1</sup>

CARLOS HUBINGER TOKARNIA<sup>2</sup>, ALDO GAVA<sup>3</sup>, PAULO VARGAS PEIXOTO<sup>4</sup>, LUIZ STOLF<sup>3</sup>,  
LUIZ BENONI CONSORTE<sup>5</sup> e JÜRGEN DÖBEREINER<sup>5</sup>

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Gava A., Peixoto P.V., Stolf L., Consorte L.B. & Döbereiner J. 1990. [Experimental poisoning of cattle by *Senecio desiderabilis* (Compositae).] Intoxicação experimental por *Senecio desiderabilis* (Compositae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):35-42. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

Studies on "swollen brisket disease", a heart complaint of subacute to chronic course, occurring in cattle in Santa Catarina, suggest that the probable cause is a toxic plant. Consequently various suspicious plants were administered experimentally to bovines. The habitat of one of these plants, *Senecio desiderabilis* Vell., of the Compositae family, coincided well with the pastures where the disease occurs. Feeding it caused a chronic poisoning, whose clinical-pathological picture was characterized by icterus, abdominal contractions, nervous symptoms, liver cirrhosis and edemas. This picture is very similar to that which occurs in poisoning by pyrrolizidine containing plants, but is very different from that seen in "swollen brisket disease".

*S. desiderabilis* probably belongs to the less poisonous species of *Senecio* already studied in Brazil. Only 2 bovines fed *S. desiderabilis* showed symptoms of poisoning and died; they had ingested the plant in its flowering stage at daily doses of 10 g/kg (fresh weight), one for 29, the other for 102 days. Larger single doses of 20 and 40 g/kg, or smaller ones (2.5 and 5 g/kg) of flowering plants repeated for 281 days, or 10 g/kg in the vegetative stage given for 141 days, did not produce symptoms of poisoning or death. One other bovine receiving 10 g/kg of the plant at various growth stages for 43 days, was also without symptoms. But in a few (3) of the bovines which did not show symptoms of poisoning, slight liver lesions were found at post-mortem and/or on histological examination, when sacrificed 2 or more years later.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Senecio desiderabilis*, Compositae, cattle, pathology.

SINOPSE.- Os estudos realizados no sentido de esclarecer a causa da "doença-do-peito-inchado", enfermidade de origem primariamente cardíaca que ocorre principalmente em bovinos do Estado de Santa Catarina, levaram à suspeita de tratar-se de intoxicação por planta. Com o fim de se identificar o agente etiológico, diversas plantas suspeitas foram submetidas a experimentação em bovinos. Uma das plantas, cujo *habitat* era bastante coincidente com os pastos onde ocorre a doença e sobre a qual caiu a suspeita mais forte, foi *Senecio desiderabilis* Vell., da família Compositae.

Nesses experimentos *S. desiderabilis* realmente revelou-se tóxica para bovinos, tendo causado intoxicação crônica, cujo quadro clínico-patológico se caracterizou por icterícia, contrações abdominais, sintomas nervosos, cirrose hepática e edemas. Este quadro se assemelha muito ao verificado nas intoxicações por plantas que contêm alcalóides pirrolizidínicos, porém difere grandemente do observado na "doença-do-peito-inchado".

Há indícios de que *S. desiderabilis* pertença às espécies de *Senecio* menos tóxicas estudadas até agora no Brasil. Nos experimentos com *S. desiderabilis* (planta dessecada) adoeceram e morreram os dois bovinos que ingeriram a planta com inflorescência na dose diária de 10 g/kg (correspondente ao peso da planta fresca), um após 29, o outro após 102 administrações diárias. Doses maiores (20 e 40 g/kg), porém únicas, ou menores (2,5 e 5 g/kg), mas repetidas diariamente, da planta com inflorescências, administradas 281 vezes e dose diária de 10 g/kg da brotação administrada 141 vezes não causaram sintomas ou morte dos animais. Um bovino recebeu ainda 10 g/kg/dia da planta em diversas fases de evolução, 43 vezes e também não adoeceu. No entanto, em alguns desses bovinos (3) que não adoeceram.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 22 de outubro de 1988.

<sup>2</sup> Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 47, Seropédica, RJ 23851; bolsista do CNPq (305010-76/VT).

<sup>3</sup> Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88500.

<sup>4</sup> Bolsista da FAPERJ (Proc. E 29150.212-88), Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23851.

<sup>5</sup> Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

ceram, mas que foram sacrificados após pelo menos 2 anos desde o início do experimento, encontraram-se leves alterações hepáticas macroscópicas e/ou histológicas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Senecio desiderabilis*, Compositae, bovinos, patologia.

## INTRODUÇÃO

Os estudos sobre a "doença-do-peito-inchado" (edema da região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina levaram a crer que pudesse se tratar de intoxicação crônica por planta (Tokarnia et al. 1989).

Com o fim de identificar a planta responsável por essa doença, percorremos os pastos de fazendas nas quais ocorria o problema e para comparação, também os pastos de fazendas indenese.

Uma das plantas cujo habitat era bastante coincidente com os pastos onde ocorre a maior incidência da doença (município Urubici), foi *Senecio desiderabilis*, que também nos chamou a atenção por ser abundante. Por esta razão foi uma das primeiras plantas submetidas à experimentação em bovinos.

Estes experimentos foram realizados para verificar se *S. desiderabilis* é tóxica para bovinos e, em caso positivo, para comparar o quadro clínico-patológico da "doença-do-peito-inchado" com o da intoxicação experimental por *S. desiderabilis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas do arbusto lianoso *Senecio desiderabilis* Vell. (fam. Compositae), colhidas no município de Urubici, Santa Catarina (Fig. 1)<sup>6</sup>, foram administradas a 8 bovinos desmamados. Todos os experimentos foram realizados com a planta dessecada à sombra. A 6 bovinos foram administradas as partes aéreas com inflorescências, colhidas no fim do verão, a 1 bovino foi administrada a brotação colhida na primavera e 1 bovino recebeu a planta em diversas fases de seu desenvolvimento. Dois bovinos receberam doses únicas da planta, os outros 6 a receberam durante períodos variados. Como no histórico constava que os animais adoeceriam somente após 2 anos de permanência na região, os animais que não morreram espontaneamente durante os experimentos, foram sacrificados, com exceção de um (Bov. 4490), somente 2 anos após o início do experimento.

A planta era administrada por via oral, isto é, colocada manualmente, na boca dos animais. Em seguida à administração os animais eram observados diariamente, exames clínicos eram feitos ocasionalmente e quando apresentavam sintomas de doença, eram examinados mais frequentemente. Mensalmente os animais eram pesados e quando, nos experimentos de administrações repetidas, havia diferença no peso, a quantidade da planta a ser administrada era reajustada. Os animais eram mantidos em boxes individuais, recebendo sempre a mesma alimentação, constituída de forragem verde picada, composta principalmente de capim-guatemala (*Tripsacum fasciculatum* Trin.), capim-angola (*Bra-*

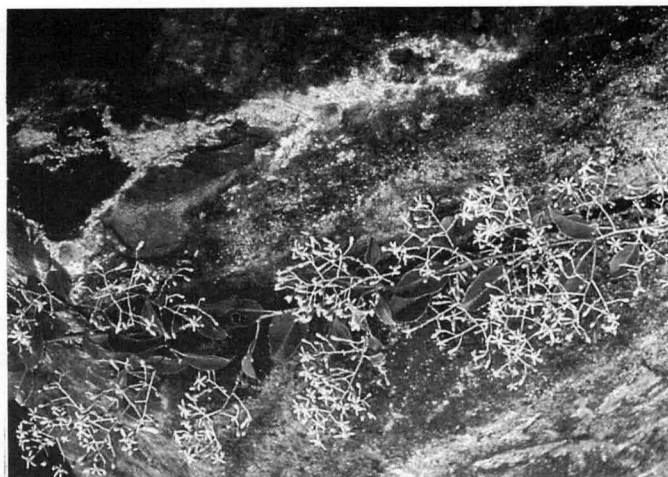


Fig. 1. Ramo de *Senecio desiderabilis* Vell. (fam. Compositae) com inflorescências no mês de fevereiro no município de Urubici, Santa Catarina.

*chiaria mutica* (Forsk.) Stapf.), e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), bem como, diariamente, 1 kg de ração concentrada para bovinos. Água recebiam à vontade. Aproximadamente das 7:30 às 10:30h ficavam, diariamente, em um curral sem cobertura, expostos ao sol. Diariamente os animais eram movimentados durante 15 minutos.

Em casos de morte ou após o animal ter sido sacrificado por chopeamento e sangria, fazia-se a necropsia, complementada por exames histopatológicos. Em um caso a urina retirada da bexiga durante a necropsia, foi submetida ao teste do azul de metileno para verificação da presença de bilirrubina (Rosenberger et al. 1977)<sup>7</sup>. Os fragmentos de tecidos eram incluídos em parafina e corados pela hematoxilina-eosina. Adicionalmente, os cortes de fígado foram submetidos à técnica de coloração para fibras colágenas com azul de Mallory (Mallory 1938).

## RESULTADOS

Nos Quadros 1 e 2 estão esquematizados os principais dados e resultados dos experimentos realizados em bovinos com *Senecio desiderabilis*.

Verifica-se que somente 2 bovinos adoeceram e morreram, ambos pela ingestão da planta com inflorescência na dose diária de 10 g da planta por quilo de peso do animal (g/kg), um após 29 (Bov. 4499), o outro após 102 (Bov. 4779) administrações diárias. Administrações da planta com inflorescência em doses maiores (20 e 40 g/kg), porém únicas (Bov. 4490 e 4725), ou menores (2,5 e 5 g/kg), mas repetidas durante 281 dias (Bov. 4813 e 4812), não causaram quaisquer sintomas nos animais. O mesmo foi observado com relação à brotação, administrada diariamente na dose de 10 g/kg por 141 dias (Bov. 4823). Um bezerro ainda recebeu 43 administrações de

<sup>6</sup> *Senecio desiderabilis* Vellozo, Flora Fluminense; Icones 8: tab. 108, 1827; Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, VX:198,, 1957.

Liana alta, glabra: folhas alternas com 5-10 cm x 2,5-4 cm, elíptica pecioladas; capítulos radiados com flores amarelas, dispostas em panículos. Invólucro campanulado, calculado, de 6-7 mm de compr. Brasil: De Minas Gerais ao Rio Grande do Sul.

<sup>7</sup> A 5ml de urina se adicionam, agitando sempre, tantas gotas de solução de azul de metileno a 0,2% quantas necessárias para ocorrer a mudança de cor verde para azul. A valiação: azul já com 1 a 2 gotas: negativo para bilirrubina; após 3 gotas: leve presença de bilirrubina; após 5 gotas: moderada presença de bilirrubina; somente após mais que 5 gotas: acentuada presença de bilirrubina.

Quadro 1. Intoxicação experimental por *Senecio desiderabilis* (planta dessecada<sup>a</sup>) em bovinos

Bovino Nº (SAP)	Peso			Planta					Sintomas		Término do experimento	
	1º dia adm.	Últi- mo dia adm.	Dia da mor- te	Período de administra- ção	Dose diária g/kg	Nº de adm.	Período em que planta foi adm. em dias	Quantidade total adm. (g/kg)	Estágio da planta	Primeiros sintomas (no xº dia do exp.)		Evolução (em dias)
4490	157	-	299	10.4.85	20	1	1	20	Floração coletada em março 85	-	-	Não adoeceu; em observação até 4.9.86; não foi sacr.
4499 (23514)	117	131	93	18.4-16.5.85	10	29	29	290	"	30º	25	Morreu em 11.6.85
4725 (24077-79)	110	110	322	18.4.85	40	1	1	40	"	-	-	Não adoeceu; sacr. em 19.12.86
4748 (24315-21)	113	249	413	20.7-31.8.85	10	43	43	430	Variável	-	-	Não adoeceu; sacr. em 14.9.87
4779 (24158-65)	114	115	140	25.4-4.8.86	10	102	102	1020	Floração, coletada em março 1986	307º	9	Morreu em 15.2.87
4812 (24603-06)	110	126	-	25.4-4.8.86	5	102	102	1405	Floração, coletada em março 1986 e março 1987	-	-	Não adoeceu; sacr. em 28.5.88
	180	-	223	31.5-25.11.87	"	179	179					
4813 (24623-26)	95	107	-	25.4-4.8.86	2,5	102	102	702,5	Floração, coletada em março 1986 e março 1987	-	-	Não adoeceu; sacr. em 25.6.88
	170	-	190	31.5.-25.11.87	"	179	179					
4823 (24599)	110	126	-	25.4-28.7.86	10	65	65	1410	Brotação, cole- tada em out. 85 e nov. 86	-	-	Não adoeceu; sacr. em 30.4.88
	196	205	245	5.3-19.5.87	"	76	76					
					Total	141	390					

<sup>a</sup> Todas as quantidades da planta indicadas nesse quadro correspondem às da planta fresca (relação planta dessecada: planta fresca = 1:3,5).

10 g/kg/dia da planta em diversas fases de evolução (Bov. 4748) e também não adoeceu. No entanto em alguns desses bezerros que não adoeceram, mas que foram sacrificados após, pelo menos 2 anos do início do experimento, foram encontradas leves alterações macroscópicas (Bov. 4812, 4823) e/ou histológicas (Bov. 4812, 4813 e 4823) no fígado. (Todos os experimentos acima

mencionados foram feitos com a planta dessecada, porém as quantidades indicadas correspondem ao peso que a planta possuía quando em estado fresco; relação planta dessecada:planta fresca = 1:3,5).

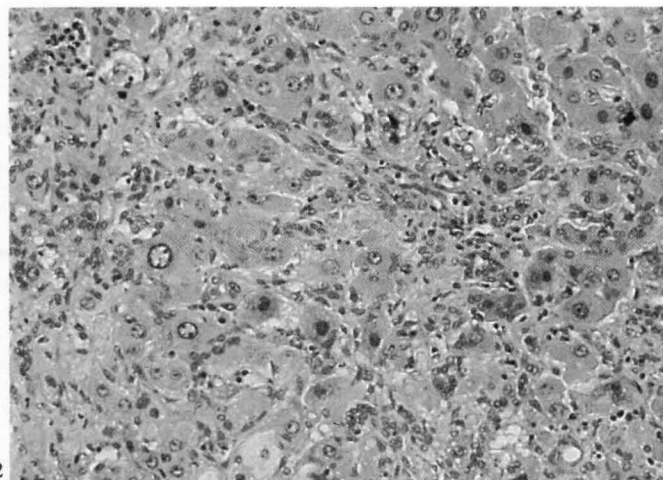
Abaixo fornecemos um resumo dos protocolos dos 2 bovinos que morreram em virtude da ingestão de *S. desiderabilis*.

Quadro 2. Alterações histológicas hepáticas na intoxicação experimental por *Senecio desiderabilis* em bovinos

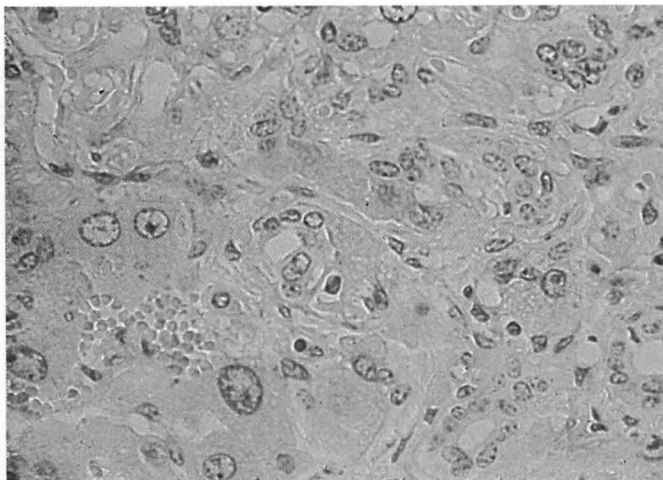
Bovino Nº (SAP)	Tumefa- ção de hepató- citos	Vacuoli- zação de hepató- citos	Lise de hepató- citos	Necrose de peque- nos gru- pos de he- patócitos	Gotas hiali- nas	Fibrose intra- lobular	Fibrose portal	Prolife- ração de vias bi- liares	Nódulos de rege- neração	Retenção biliar	Megalocitose	
											Inten- sidade	Fre- qüên- cia
4499 (23514)	++ <sup>a,b</sup>	-	+	-	-	+	++	+	+	+(+)	(+)	+
4725 (20079)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4748 (24315-21)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4779 (24158-65)	+	+	(+)	+	(+)	+++	+++	+++	-	-	++	++
4812 (24603-06)	(+)	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
4813 (24623-26)	+(+)	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
4823 (24599)	(+)	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, - ausente, (+) meio grau;

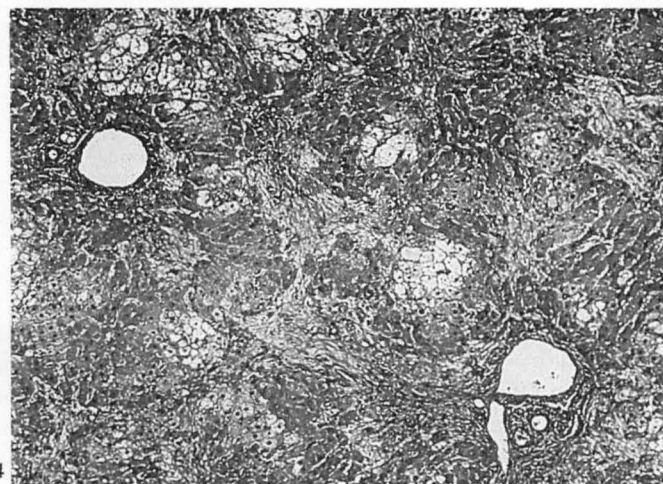
<sup>b</sup> Áreas focais de tumefação.



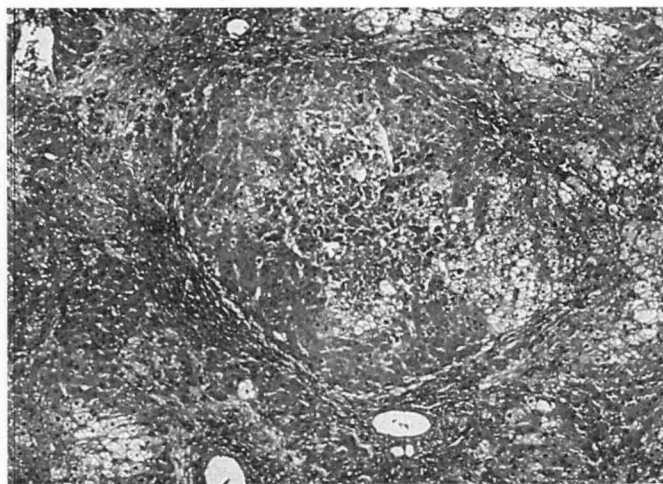
2



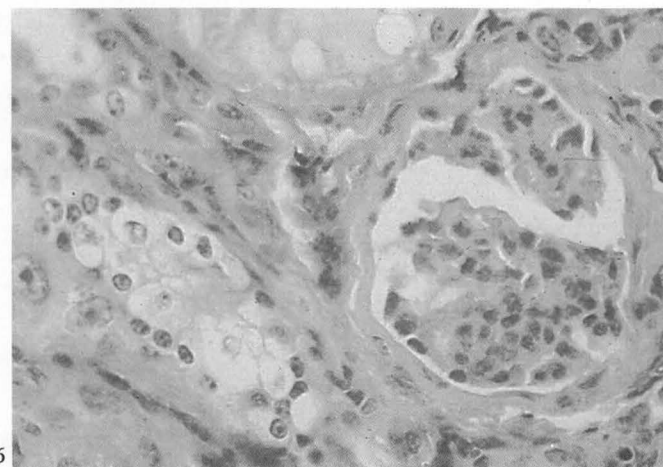
3



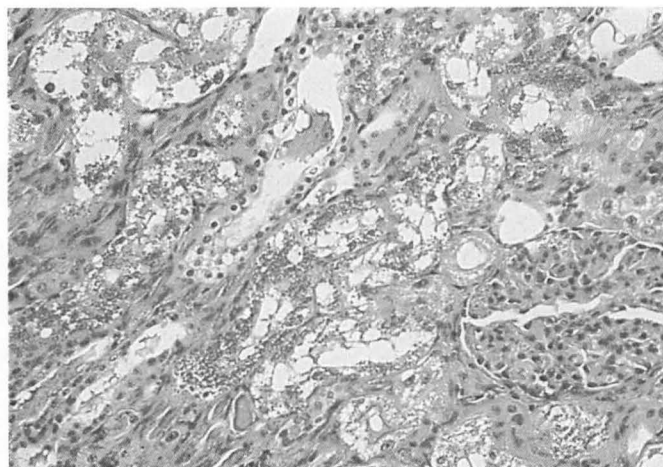
4



5



6



7

Fig. 2. Fígado com perda da arquitetura lobular através de proliferação de células epiteliais das vias biliares e fibroplasia. Presença de megalocitose. Intoxicação experimental por *S. desiderabilis* (Bov. 4779, SAP 23158-65). HE, obj. 6,3.

Fig. 4. Fígado com fibrose, principalmente a partir dos espaços porta. Grandes focos de hepatócitos acentuadamente tumefeitos, com núcleos picnóticos, por vezes evoluindo para lise. Intoxicação experimental por *S. desiderabilis* (Bov. 4499, SAP 23514). Masson, obj. 4.

Fig. 6. Rim com espessamento da cápsula de Bowman, acompanhado de proliferação de células intersticiais. Presença de megalócitos. Intoxicação experimental por *S. desiderabilis* (Bov. 4499, SAP 23514). HE, obj. 25.

Fig. 3. Maior aumento da lesão do fígado do mesmo animal da figura anterior. HE, obj. 16.

Fig. 5. Nódulo de regeneração com necrose de hepatócitos na sua porção central. Intoxicação experimental por *S. desiderabilis* (Bov. 4499, SAP 23514). Masson, obj. 4.

Fig. 7. Rim com "degeneração em gotas hialinas" e alguns cilindros hialinos, na intoxicação experimental por *S. desiderabilis* (Bov. 4499, SAP 23514). HE, obj. 16.

**Bovino 4499**, macho, mestiço, com 117 kg; recebeu diariamente dose correspondente a 10 g/kg da planta fresca de *S. desiderabilis* em floração, a partir de 18.4.85 até inclusive 16.5.85, num total de 29 administrações diárias contínuas. A partir de 17.5.85 percebeu-se nitidamente que o animal estava doente, interrompendo-se as administrações diárias da planta. O animal mostrava pêlos arrepiados, abdômen volumoso, veia jugular engurgitada, pulsando; às vezes rangia os dentes e comia pouco capim. A percussão, o campo hepático estava dolorido. Mas já em dias anteriores observaram-se sintomas semelhantes, porém menos acentuados, pelo menos a partir de 9.5.85. Os sintomas foram se acentuando e em 20.5.85, observou-se, adicionalmente, andar cambaleante. Em 1.6.85 observou-se que o animal estava magro, rangia os dentes com frequência e o apetite era variável de dia para dia. Em 3.6.85 foi observado leve edema na parte inferior da barbela. Em 7.6.85 o animal eliminava fezes em pequena quantidade e sob forma de esferas ressequidas. Estava muito irrequieto, pressionava a cabeça contra a parede; solto no curral, andava sem parar, cambaleando, geralmente percorrendo um itinerário imaginário na forma de um 8. Às vezes tinha contrações abdominais. Em 8.6.85 amanheceu em decúbito lateral. Não permanecia em pé quando colocado nessa posição. Continuava com contrações abdominais. Conjuntiva ocular levemente amarelada. Às vezes fazia tentativas para se levantar sem o conseguir. Em 9.6.85 estava em decúbito lateral com a cabeça voltada para o flanco direito. Vez por outra apresentava contrações generalizadas. Presença de espuma escorrendo pelas narinas. Em 10.6.85 continuava em decúbito lateral. Apresentava fracas contrações musculares nos membros anteriores, fraco ranger de dentes. Reflexo palpebral diminuído. Superfície do corpo fria. Morreu em 11.6.85 às 6.11h. Achados de necropsia: Leve a moderada icterícia generalizada. Presença de aprox. 75 ml de líquido vermelho-alaranjado na cavidade abdominal. Acentuado edema na porção do mesentério correspondente ao início do intestino delgado e leve nas áreas correspondentes ao resto do intestino delgado. No mesentério do cólon, o edema era moderado. Parte das dobras do abomaso com moderado edema. Parede da vesícula biliar com edema acentuado. Coração sem lesões. Baço levemente aumentado e firme. Rins de coloração mais escura que o normal e com superfície levemente rugosa. Be-xiga com aprox. 900 ml de urina de cor quase negra (com o teste de azul de metileno, a urina somente com 17 gotas ficou azul). Fígado de tamanho normal, firme e de cor alaranjada; na superfície mostrava múltiplas pequenas saliências arredondadas com diâmetro de aprox. 1 mm e de cor laranja-avermelhado; superfície de corte de cor alaranjada, com pontilhado branco muito fino e com muitas áreas com diâmetro de 1 mm de cor também laranja-avermelhada. Vesícula biliar com bile muito escura e espessa. Vias biliares extrahepáticas permeáveis. Rúmen com conteúdo bastante ressequido. Omaso com conteúdo moderadamente ressequido. Cólon com conteúdo sob forma de esferas que, a medida que se aproximava do reto, estavam mais ressequidas, às vezes com um pouco de muco. **Exames histopatológicos** (SAP 23514): Fígado com leve a moderada fibroplasia acompanhada de proliferação das células epiteliais das vias biliares que se estendem a partir dos espaços-porta para dentro dos lóbulos, subdividindo-os e desorganizando parcialmente a estrutura do órgão (Fig. 4). A maioria dos hepatócitos mostra núcleos distintos com cromatina marginada e nucléolos bem evidentes, uma parte porém mostra núcleos hipocromáticos, anofilicamente corados. Alguns núcleos estão um pouco maiores que os dos outros hepatócitos, podendo a lesão ser caracterizada como megalocitose discreta. Sob forma de focos nas zonas intermediárias dos lóbulos hepáticos, aparecem grandes grupos de hepatócitos muito tumefeitos, com citoplasma de aspecto reticulado ou finamente vacuolar e núcleos hiper cromáticos ou picnóticos, muitos dos quais evoluem para lise (Fig. 4). Há leve a moderada bilestase em pequenos ductos e, em menor escala, também capilar. Presença de poucos e pequenos nódulos de regeneração que, com frequência, mostram necrose com figuras de pincose e cariorrexia na sua porção central (Fig. 5). Rim com nefrose caracterizada por acentuada degeneração vacuolar de células tubulares do córtex e da medula e por grande número de células epiteliais que estão muito tumefeitas e contêm inúmeras gotas ou grânulos refringentes ("degeneração em gotas hialinas") (Fig. 7). Há leve a moderada dilatação tubular, principalmente nos túbulos coletores, nos quais, muitas vezes aparecem cilindros hialinos (Fig. 7). Focalmente aparecem grupos de glomérulos cujas cápsulas de Bowman mostram moderada fibroplasia, porém raramente esta atinge o tufo glomerular (Fig. 6). Alguns núcleos de células epiteliais tubulares são significativamente maiores do que o normal para estas células (leve a moderada megalocitose). Pulmão com leve congestão. Baço com moderada congestão e forte depleção linforreticular acompanhadas de eritrofagia e necrose de algumas células foliculares. Linfonodo com acentuada eritrofagia. Sistema nervoso central com leve degeneração esponjosa na junção córtico-medular. Demais órgãos sem alterações.

**Bovino 4779**, macho, holandês, com 114 kg; recebeu diariamente dose correspondente a 10g/kg da planta fresca de *S. desiderabilis* em floração,

a partir de 25.4.86 até inclusive 4.8.86, num total de 102 administrações diárias contínuas. A partir de 7.2.87 percebia-se que o animal estava apático e não comia. Em 9.2.87 amanheceu em decúbito esterno-abdominal. Respiração abdominal superficial, entrecortada; à tarde se levantou; apresentou contrações abdominais ocasionais; irrequieto; mais tarde fortes contrações abdominais. Em 10.2.87 continuou o dia todo com contrações abdominais, às vezes fortes; certa instabilidade; quase não eliminou fezes durante o dia todo. Em 11.2.87, às vezes estava em pé, às vezes em decúbito esterno-abdominal, com fortes contrações abdominais bastante frequentes (aproximadamente 3 por minuto) durante o dia todo. 3ª pálpebra levemente amarelada. Andar muito cambaleante. Continuou a não comer. Em 12.2.87, pela manhã, mantinha-se em pé com dificuldade, mais tarde ficou em decúbito esterno-abdominal com a cabeça esticada para frente e o queixo encostado no chão, fazendo constantes contrações abdominais. Às vezes apresentava sonolência. Em 13.2.87 amanheceu em pé, com certa instabilidade e dificuldade de se movimentar; continuaram as contrações abdominais fortes. Ficou a maior parte do dia em pé. Quase não comeu e eliminou pequena quantidade de fezes durante o dia. Em 14.2.87 passou a maior parte do dia em decúbito esterno-abdominal; continuavam as contrações abdominais; pequeno prolapso do ânus. À noite estava em posição esterno-abdominal, um pouco inclinado, prostrado; mais tarde estava em decúbito lateral, com a cabeça dobrada para trás; jugular moderadamente engurgitada. Em 15.2.87 amanheceu em decúbito lateral e assim continuou o dia todo. Continuou com contrações abdominais; com edema forte do ânus prolapsoado. Conjuntivas bem amarelas, esclera levemente amarela. Respiração levemente estertorosa. Às 14.10h teve fortes tremores em todo corpo e fazia movimentos de pedalagem; respiração bastante difícil. Às 14.30h não mais apresentou contrações abdominais tendo morrido às 14.57h. — **Achados de necropsia:** Icterícia generalizada. Mesentério do intestino delgado com leve a moderado edema, em parte hemorrágico, inclusive com a parede do intestino delgado levemente espessada. Mesocólon com moderado edema parcialmente hemorrágico. Dobras do abomaso com acentuado edema. No coração, acompanhando o sulco coronário longitudinal havia quantidade regular de hemorragias subserosas. Fígado externamente e ao corte de coloração ocre-clara com fino desenho sob forma de arborização branco-acinzentada. Vias biliares extrahepáticas permeáveis. — **Exames histopatológicos** (SAP 24158 - 24165): Fígado com perda total da arquitetura lobular através de proliferação de células epiteliais das vias biliares e fibroplasia acentuadas que penetram por entre as células, individualizando hepatócitos ou grupos de hepatócitos (Fig. 2 e 3). A maioria dos hepatócitos assim isolados está nitidamente aumentada de volume, possui núcleos vesiculosos com cromatina marginada e nucléolos evidentes. Em algumas áreas, principalmente próximas aos espaços-porta, aparecem grupos de hepatócitos com núcleos fortemente corados pela hematoxilina e também pela eosina (carácter anofilico). Alguns hepatócitos mostram citoplasma vacuolizado; outros estão muito tumefeitos, com citoplasma reticulado ou espumoso e muitas vezes com núcleos picnóticos ou ausentes. Megalocitose de leve a moderada intensidade e de moderada a acentuada frequência (Fig. 2 e 3). Distribuídos pelo parênquima, aparecem pequenos grupos de hepatócitos em diferentes fases de necrose de coagulação. Na luz de alguns vasos, principalmente veias, aparecem coleções de células inflamatórias e algumas hemácias, por vezes aderidas ao endotélio dos vasos (provavelmente trombos em fase inicial); outros vasos estão parcial ou totalmente obliterados por fibroblastos, algum colágeno e por capilares (provavelmente trombos em fase de recanalização). Baço com leve depleção linfóide dos fólculos com acúmulo de pigmento amarelado dentro de macrófagos. Sistema nervoso central com moderada degeneração esponjosa em algumas áreas da substância branca. Pulmão levemente congesto. Demais órgãos sem alterações.

Desta maneira, os principais sintomas observados nos 2 animais que adoeceram e morreram pela ingestão de *S. desiderabilis* (Bov. 4499 e 4779) foram anorexia, andar cambaleante, instabilidade, contrações abdominais, fezes poucas ou ressequidas, icterícia, sintomas nervosos de excitação (inquietação) ou depressão (sonolência). Os primeiros sintomas bem patentes foram observados no 30º e 307º dia do experimento, e a evolução foi de 25 e 9 dias respectivamente. Os principais achados de necropsia foram icterícia generalizada, edema do mesentério e das dobras do abomaso, fígado de cor alaranjada (ocre) e com pontilhado ou desenho fino branco-acinzentado. As principais alterações histopatológicas foram cirrose hepática, caracterizada por fibroplasia, proliferação das células

epiteliais das vias biliares e megalocitose, e no sistema nervoso central degeneração esponjosa.

As alterações macro e microscópicas verificadas nos 3 bovinos que não adoeceram, mas foram sacrificados após pelo menos 2 anos desde o início do experimento foram:

**Bovino 4812.** Macroscopicamente o fígado apresentava lobulação perceptível. Histologicamente (SAP 24603-06), fígado com discreta tumefação de hepatócitos na zona centrolobular; difusamente pelo parênquima, aparece grande número de hepatócitos contendo esferas eosinofílicas refringentes, de tamanhos variáveis, em seu citoplasma.

**Bovino 4813.** Macroscopicamente órgãos sem alterações. Histologicamente (SAP 24623-26) fígado com leve a moderada tumefação de hepatócitos nas zonas centrolobulares associada a grande número de esferas eosinofílicas refringentes, de variáveis tamanhos, que aparecem intracitoplasmaticamente em hepatócitos de todas as zonas dos lóbulos.

**Bovino 4823.** Macroscopicamente fígado levemente marron-amarelado. Histologicamente (SAP 24599) fígado com discreta tumefação dos hepatócitos atingindo principalmente a zona centrolobular, associada a um número regular de hepatócitos difusamente distribuídos que contém esférulas eosinofílicas moderadamente refringentes.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

*Senecio desiderabilis* revelou-se tóxico para bovinos, tendo causado um quadro crônico de intoxicação. Não obstante, torna-se claro, pela comparação dos quadros clínico-patológicos, que esta planta não é responsável pela enfermidade que ocorre em algumas regiões de Santa Catarina, onde é conhecida como "doença-do-peito-inchado". Sintomas como icterícia, contrações abdominais e ataxia, associados aos achados macro e microscópicos de cirrose hepática, diferem grandemente dos sintomas observados na "doença-do-peito-inchado", esses de origem primariamente cardíaca (Tokarnia *et al.* 1989).

Por outro lado, o quadro clínico-patológico da intoxicação por *S. desiderabilis* se assemelha muito ao quadro clínico-patológico verificado nas intoxicações por plantas que contêm alcalóides pirrolizidínicos. No Brasil existem plantas que pertencem ao referido grupo, algumas das quais, comprovadamente, causam intoxicação natural e experimental em bovinos. No Quadro 3 encontra-se uma comparação dos principais achados histológicos por nós observados no fígado de bovinos intoxicados experimentalmente por algumas dessas plantas com os achados histológicos encontrados no fígado de animais intoxicados por *S. desiderabilis*.

Como pode ser visto no Quadro 3, não é fácil estabelecer-se uma comparação entre estes achados histológicos, entretanto algumas diferenças ficam bem patentes. Por exemplo, da mesma maneira que com *Crotalaria anagyroides*, não se conseguiu com *S. desiderabilis*, reproduzir os quadros de intoxicação aguda e subaguda, caracterizados principalmente por necrose e hemorragias centrolobulares, como foi possível com *Senecio brasiliensis*. Isso se deve, possivelmente, à maior toxidez de *S. brasiliensis* (vide abaixo). Entretanto, em um animal intoxicado por *S. desiderabilis* (Bov. 4499), apareceu necrose das áreas centrais de alguns lóbulos neoformados (nódulos de regeneração). Tal também foi observado no fígado de um animal intoxicado por *S. brasiliensis* (Bov. 3465). Por outro lado, necrose de pequenos grupos de

Quadro 3. Comparação da incidência e intensidade das principais alterações histológicas no fígado de animais intoxicados experimentalmente por *Senecio desiderabilis*, *S. brasiliensis* e *Crotalaria anagyroides*<sup>c</sup>

Planta	Tipo de intoxicação	Tumefação de hepatócitos	Vacuolização de hepatócitos	Necrose de pequenos grupos de hepatócitos	Áreas de necrose de hepatócitos	Congestão e hemorragia	Ativação das células de Kupffer	Fibrose	Proliferação de vias biliares	Nódulos de regeneração	Megalocitose	
											Bilestase	Intensidade
<i>Senecio desiderabilis</i>	Crônica	2/2 <sup>a</sup> + a + + b	1/2 +	1/2 +	0/2	0/2	0/2	2/2 + + a + + + +	2/2 + a + + + +	1/2 (+) a +	2/2 (+) a + (+)	2/2 + (+) a + +
<i>Senecio brasiliensis</i>	Aguda	0/2	2/2 + +	0/2	2/2 + + +	2/2 + + +	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
<i>Senecio brasiliensis</i>	Subaguda	0/2	2/2 + +	0/2	2/2 + +	2/2 + a + +	0/2	2/2 +	0/2	0/2	2/2	1/2 +
<i>Senecio brasiliensis</i>	Crônica	0/8	6/8 + a + +	0/8	0/8	0/8	0/8	8/8 + a + + + +	7/8	1/8	4/8	7/8 (+) a + + +
<i>Crotalaria anagyroides</i>	Crônica	1/6 +	0/6	0/6	0/6	0/6	3/6 +	4/6 + a + (+)	5/6 + a + (+)	3/6 + + +	0/6	5/6 (+) a + + +

a 2/2 significa que 2 dos 2 casos examinados tinham a lesão;

b + + + Lesão acentuada, + + moderada, + leve, - ausente, (+) meio grau;

c Dados obtidos através dos seguintes trabalhos, além do presente: Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):39-65 e Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação experimental por *Crotalaria anagyroides* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 3(4):115-123. Para a confecção do presente quadro todas as lâminas foram reexaminadas.

hepatócitos distribuídos difusamente pelo parênquima somente foram vistos na intoxicação por *S. desiderabilis* (Bov. 4779). Os nódulos de regeneração, por sua vez, constituíram um aspecto histológico muito proeminente

na intoxicação por *C. anagyroides*, tendo aparecido inclusive macroscopicamente. Já nas intoxicações por *S. desiderabilis* e *S. brasiliensis*, estes nódulos, além de pouco frequentes, somente foram observados microscopicamente. Tumefação de hepatócitos ocorreu nos 2 casos de intoxicação por *S. desiderabilis*, porém esteve ausente na intoxicação por *S. brasiliensis* e somente ocorreu em um dos 6 casos experimentais com *C. anagyroides*. De maneira diversa, a vacuolização de hepatócitos era bastante freqüente na intoxicação por *S. brasiliensis*, ocorreu em 1 caso de intoxicação por *S. desiderabilis* e não foi vista na intoxicação por *C. anagyroides*.

Apesar de *S. desiderabilis* ter causado intoxicação crônica com morte em 2 bovinos nas quantidades totais de 290 e 1020 g/kg, da planta em floração, em doses diárias de 10g/kg, quantidades totais de 1405 e 702 g/kg da planta também em floração, não causaram doença em 2 outros bovinos; porém nesses últimos a planta foi administrada em doses diárias de 5 e 2,5 g/kg/dia. A quantidade total de 1410 g/kg da planta em brotação, dada em doses diárias de 10g/kg, também não causou doença. Da mesma forma não se conseguiu produzir um quadro de intoxicação aguda, nas dosagens únicas de 20 e 40 g/kg. (Todos os experimentos com *S. brasiliensis* acima mencionados foram feitos com a planta dessecada, porém as quantidades indicadas correspondem ao peso que a planta possuía quando em estado fresco; relação planta dessecada: planta fresca = 1:3,5).

Kingsbury (1964), referindo-se, de maneira geral, às quantidades tóxicas para o gênero *Senecio*, informa, baseado em dados bibliográficos, que quantidades da planta (fresca?) de 1 a 5% ou seja, 10 a 50 g/kg, de peso do animal, bovino ou eqüino, dados de uma vez ou durante poucos dias, têm causado intoxicação aguda. O quadro crônico tem sido produzido pela administração de quantidades menores, diárias, porém maiores no total. Em geral, a quantidade da planta (fresca?) consumida por bovinos e eqüinos para causar o aparecimento da intoxicação crônica tem variado entre 12 a 156% ou seja, 120 a 1560 g/kg de peso do animal.

Comparando-se os resultados experimentais obtidos com *S. desiderabilis* com algumas espécies de *Senecio* estudadas no Brasil, observa-se em um estudo (Tokarnia & Döbereiner 1984) que as quantidades de *S. brasiliensis* necessárias para causar um quadro de intoxicação aguda em bovinos foram doses únicas de 17,5 e 35g/kg da planta. As doses totais necessárias para causar intoxicação crônica foram 75 a 150 g/kg em administrações diárias de 0.625 a 5g/kg da planta. Esses autores também conseguiram reproduzir a intoxicação crônica com doses únicas de 5 a 10 g/kg da planta. (Todos os experimentos com *S. brasiliensis* acima mencionados foram realizados com a brotação dessecada, porém as quantidades indicadas correspondem ao peso que a planta possuía quando em estado fresco; relação planta dessecada: planta verde = 1:5.)

Em outro estudo (Mendez *et al* 1989), feito com a

planta em fase de crescimento, as doses totais necessárias para causar intoxicação crônica em bovinos foram: *S. cisplatinus* 90g/kg (6 g/kg/dia), *S. brasiliensis* 360 g/kg (13,2 g/kg/dia), de *S. heterotrichus* 720 g/kg (18,4 g/kg/dia) e *S. seloi* 90 g/kg (6 g/kg/dia) e 720 g/kg (24 g/kg/dia). *S. leptolobus* não foi tóxica para bovinos na dose total de 720 g/kg (24 g/kg/dia). (Todos o experimentos com *Senecio* spp. acima mencionados foram realizados com a planta em fase de crescimento dessecada, porém as quantidades indicadas correspondem ao peso que a planta possuía quando em estado fresco; relação planta dessecada: planta fresca = 1:4 )

Desta maneira, pela comparação das doses, fica claro que *S. desiderabilis* pode ser enquadrada entre as espécies menos tóxicas do gênero *Senecio*.

Comparando-se com outras plantas que contém pirrolizidinas, estudadas no Brasil (Tokarnia & Döbereiner 1983), verifica-se que *Crotalaria anagyroides* causou intoxicação crônica com cirrose hepática nas dosagens de 55,8 (administração única) a 244,5 g/kg (em 6 dias). Estes experimentos foram feitos com a planta fresca e foram administradas as folhas, as inflorescências e as vagens verdes e maduras. Esses experimentos mostram que também *C. anagyroides* é mais tóxica que *S. desiderabilis*.

Outra planta estudada no Brasil, *Echium plantagineum* (Méndez *et al.* 1985), causou cirrose hepática em 2 bovinos com doses totais de 1329,3 g/kg (16,6 g/kg/dia) da planta em floração e de 1916,5 g/kg (25,2 g/kg/dia da planta em crescimento). No entanto, 2 outros bovinos que ingeriram doses totais de 1627,6 g/kg (20,3 g/kg/dia) da planta em floração e 1467,9 g/kg (19,3 g/kg/dia) da planta em crescimento, sobreviveram. (Todos os experimentos acima mencionados foram realizados com a planta dessecada, porém as quantidades indicadas correspondem ao peso que a planta possuía quando em estado fresco, relação planta dessecada: planta fresca = 1:6.) Portanto, nesses estudos *Ecchium plantagineum* revelou-se menos tóxica que *Crotalaria anagyroides* e que *Senecio brasiliensis*. A sua toxidez aproxima-se mais à toxidez de *S. desiderabilis*.

Todas essas comparações não podem ser interpretadas como absolutamente exatas, em virtude do número relativamente pequeno de experimentos e por não se levar em consideração uma possível variação de toxidez em função dos diferentes estágios de evolução da planta. Além disso, presume-se que a planta não perde toxidez pela dessecagem e durante o seu armazenamento. Ainda mais, deve-se levar em conta a freqüência das administrações; assim, quanto menor a dose diária, tanto maior será a dose total necessária para causar a intoxicação crônica ou vice-versa, quanto maior a dose diária, tanto menor é a dose total necessária para causar a intoxicação crônica.

Não sabemos ainda qual a importância de *Senecio desiderabilis* como planta tóxica de interesse pecuário. Foram constatados casos espontâneos de cirrose hepática em bovinos provenientes das regiões onde ocorre essa planta. Por outro lado, na mesma região também existe *S. brasili-*

*liensis*, outra planta comprovadamente capaz de provocar cirrose hepática, inclusive, surtos de intoxicação espontânea por *S. brasiliensis* têm sido descritos na Região Sul (Méndez et al. 1987, Barros et al. 1987). Desta maneira, fica difícil avaliar até que ponto *S. desiderabilis* pode estar envolvida na etiologia dessas intoxicações de bovinos caracterizadas por cirrose hepática na Região de Urubici.

*Agradecimentos.*- Agradecemos à Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação botânica da planta.

#### REFERÊNCIAS

- Barros C.S.L., Metzdorf L.L. & Peixoto P.V. 1987. Ocorrência de surtos da intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):101-107.
- Kingsbury J.M. 1964. *Poisonous plants of the United States and Canada*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Méndez M.C., Riet-Correa F. & Schild A.L. 1987. Intoxicação por *Senecio* spp (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):51-56.
- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Garcia J.T.C. 1985. Intoxicação por *Echium plantagineum* (Boraginaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 5(2):57-63.
- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Martz W. 1990. Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* em bovinos e aves. *Pesq. Vet. Bras.* 10(3/4):
- Rosenberger G., Dirksen G., Gründer H.D., Grunert E., Krause D. & Stöber M. 1977. *Die klinische Untersuchung des Rindes*. 2. Aufl. Paul Parey, Berlin.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1983. Intoxicação experimental por *Crotalaria anagyroides* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 3(4):115-123.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):39-65.
- Tokarnia C.H., Gava A., Peixoto P.V., Stolf L. & Moraes S.S. 1989. A "doença do peito inchado" (edema da região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 9(3/4):73-83.

## CETOSE EM VACAS DE CORTE EM GESTAÇÃO<sup>1</sup>

FRANKLIN RIET-CORREA<sup>2,3</sup>, ANA LUCIA SCHILD<sup>2,3</sup> e MARIA C. MÉNDEZ<sup>2,3</sup>

**ABSTRACT.** - Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.C. 1990. [Ketosis in pregnant beef cows.] Cetose em vacas de corte em gestação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):43-45. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, Univ. Fed. Pelotas, 96100 Pelotas, RS, Brazil.

Six outbreaks of ketosis in beef cattle are described. The disease occurred during winter, in cows in good to fatty conditions in the last 3 months of gestation, submitted to variable periods of food shortage. The animals showed constipation, incoordination, staggering and excitability followed by recumbency and death after 3 to 7 days. At necropsies the only significant alteration was a fatty degeneration of the liver. The outbreaks were controlled by nutritional measures.

**INDEX TERMS:** Ketosis, acetonemia, beef cows, pregnant cows.

**SINOPSE.**- Descrevem-se 6 surtos de cetose em bovinos de corte que ocorreram durante o inverno, em vacas gordas ou em bom estado nos últimos 3 meses de gestação, submetidas a períodos variáveis de carência alimentar. Os animais apresentaram constipação, incoordenação, tremores musculares e hiperexcitabilidade, com posterior decúbito e morte após uma evolução de 3 a 7 dias. Nas necropsias a única alteração significativa foi a degeneração graxa do fígado. Os surtos foram controlados mediante uma alimentação adequada.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Cetose, acetonemia, vacas de corte, vacas gestantes.

### INTRODUÇÃO

A cetose é uma doença metabólica dos ruminantes, frequentemente observada em bovinos de alta produção de leite e em ovinos com gestação gemelar (Blood et al. 1979). A enfermidade também tem sido descrita em vacas em gestação (Sampson et al. 1945, Kingrey et al. 1957, Caple et al. 1977, Calarraga et al. 1976). Outra forma de cetose é o denominado síndrome da vaca gorda que é uma combinação de alterações metabólicas, digestivas, infecciosas e reprodutivas que afeta vacas periparturientes, devido a alimentação excessiva com dietas inadequadas (Morrow 1975).

O objetivo do presente trabalho é o de descrever 6 surtos de cetose em vacas de corte, que foram diagnosticados pelo Laboratório Regional de Diagnóstico da UFPel durante o período 1980-1988.

### MATERIAL E MÉTODOS

A epidemiologia e os sinais clínicos foram observados nos locais dos surtos. Para o estudo da patologia foi realizada uma necropsia em cada surto. Para o estudo histológico, fragmentos de órgãos das cavidades abdominal e torácica e do sistema nervoso central foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em seções de 6 micra e corados pela hematoxilina-eosina. Algumas amostras de fígado foram cortadas em micrótomo de congelamento e corados pela técnica de Escarlate R para lipídeos. A determinação de corpos cetônicos foi realizada através de tiras comerciais para testes de urina (Combur test<sup>R</sup>).

### RESULTADOS

#### *Epidemiologia*

**Surto 1.** Foi observado no mês de julho de 1980 no município de Canguçu. De um total de 300 vacas cruzas Charolês morreram 22, todas nos últimos 3 meses de gestação. No mês anterior tinha ocorrido um surto de aftosa no estabelecimento, sendo que alguns dos animais mortos apresentavam lesões secundárias às causadas pela aftosa no rodete coronário e espaço interdigital.

**Surto 2.** Ocorreu no mês de setembro de 1980 no município de Rio Grande em vacas Hereford no último mês de gestação. No momento do surto existia pouca disponibilidade de forragem nesse potreiro. De um total de 60 vacas, adoeceram 8 e morreram 5.

**Surto 3.** Ocorreu no município de Pedro Osório em agosto de 1981. De um total de 220 vacas Devon adoeceram e morreram 2 que estavam no último mês de gestação. Os animais estavam em um sistema de pastoreiro rotativo, em poteiros de 50 hectares, e por um descuido do proprietário tinham permanecido em um potreiro onde a forragem era muito escassa.

**Surto 4.** Ocorreu em agosto de 1983 em um grupo de

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 10 de janeiro de 1989.

<sup>2</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100; bolsistas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

400 vacas em gestação, dos quais adoeceram 7 e morreram 3. Em consequência de ser um inverno climaticamente rigoroso havia muito pouca disponibilidade de forragem no estabelecimento.

**Surto 5.** Ocorreu no mês de junho de 1988 em um frigorífico que abatia quase que exclusivamente vacas. Cinquenta vacas gordas, compradas em feiras foram colocadas em um potreiro de aproximadamente 10 hectares com pouca disponibilidade de forragem. Quatro dias após serem introduzidas na área adoeceram 6 bovinos, dos quais morreram 2. No 7º dia todo o rebanho foi abatido, observando-se vários animais doentes. Todas as vacas que adoeceram estavam nos últimos 3 meses de gestação. Segundo o proprietário do frigorífico a doença vinha ocorrendo há aproximadamente 15 anos, sempre em vacas gordas, em gestação, compradas em feiras e que eram deixadas em poteiros com pouca disponibilidade de forragem.

**Surto 6.** Ocorreu no município de Herval, em agosto de 1988, onde de um total de 105 vacas em estação adoeceram 8 e morreram 6. No estabelecimento havia pouca disponibilidade de forragem em consequência do inverno muito rigoroso.

Em todos os surtos observados tratava-se de vacas que estavam gordas ou em bom estado no início do inverno, que, na sua maioria não haviam tido terneiro no ano anterior.

#### *Sinais clínicos*

Em uma primeira fase os animais apresentavam-se com hiperexcitabilidade, com atitude de alerta, agressivos, observando-se tremores musculares e incoordenação com ataxia dos membros posteriores. Também pode observar-se dispnéia, ptialismo, corrimento nasal transparente, diminuição dos movimentos ruminais e constipação, com presença de materiais fecais de consistência aumentada. Nessa fase alguns animais apresentaram hipertermia variável entre 40° e 40,5°C.

Um a 4 dias após a observação dos primeiros sinais clínicos os animais ficavam em decúbito esternal permanentemente, ocorrendo a morte 3 a 7 dias após o início da doença. Apesar de estar em decúbito alguns animais permaneciam agressivos. Algumas vacas observadas nos surtos 2 e 4 que se encontravam na primeira fase da enfermidade recuperaram-se após serem colocadas em pastagens de *Lolium multiflorum* (azevém). No surto 6 um animal que pariu quando estava na primeira fase da doença, recuperou-se.

Em todos os surtos, com exceção do 5, onde foram abatidas todas as vacas, a doença foi controlada colocando-se os animais em poteiros com boas disponibilidades de forragem; no surto 6 o rebanho afetado foi suplementado com feno e melaço.

O diagnóstico foi confirmado pela determinação de corpos cetônicos na urina, encontrando-se, em todos os casos, reações francamente positivas (+++), que indicam uma concentração superior a 100mg/dl de ácido acetoacético.

#### *Patologia*

Nas necropsias o fígado apresentava-se de cor amarelada, observando-se, na histologia, uma marcada degeneração gordurosa do mesmo. Os demais órgãos não apresentavam lesões de significação.

#### DISCUSSÃO

A cetose em vacas de corte em gestação é uma enfermidade aparentemente pouco freqüente, tendo sido descrita em vacas com gestação gemelar (Sampson et al. 1945, Kingrey et al. 1957, Caple et al. 1977) ou gestação única (Galarraga et al. 1976, Caple et al. 1977), em animais gordos ou em bom estado nos últimos 2 ou 3 meses de gestação, submetidos a períodos variáveis de restrição alimentar. Essas condições ocorrem durante o inverno no Rio Grande do Sul, onde, na maioria das fazendas as parições acontecem na primavera, portanto as vacas encontram-se no inverno no último terço da gestação. Por outro lado a maioria dos casos foi observada em animais que não tinham parido no ano anterior, isto porque, nas condições forrageiras do Rio Grande do Sul, as vacas que não estão amamentando durante a primavera, aumentam consideravelmente de peso até o outono, estando gordas no início do inverno. Com relação a esse fato cabe destacar que a cetose em vacas em gestação ocorre exclusivamente em animais gordos ou em bom estado, já que vacas magras em gestação podem morrer de inanição sem apresentar um quadro de cetose (Blood et al. 1979).

Outro fator importante para o aparecimento da enfermidade é a ocorrência de períodos variáveis de restrição alimentar, que ocorreu em todos os surtos durante o inverno, que no Rio Grande do Sul é a estação de maior carência de forragem. Nos surtos 2, 3 e 5, além de ocorrerem em um período de pouco crescimento das pastagens, aconteceram erros de manejo que determinaram a restrição alimentar. No surto 1 a ocorrência prévia de aftosa no estabelecimento poderia ter interferido no consumo de alimentos por parte dos bovinos. Os surtos 4 e 6 ocorreram devido a que os invernos de 1983 e 1988 foram climaticamente muito rigorosos, o que diminuiu consideravelmente a disponibilidade de forragem. No ano 1988 diversos surtos de cetose em vacas de corte foram diagnosticados por veterinários da área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico.

No Uruguai a doença ocorre com uma epidemiologia similar a descrita neste trabalho (Galarraga et al. 1976) enquanto que na Austrália ocorre principalmente no final do verão e no outono, durante períodos de estiagem (Caple et al. 1977). Nesse país a enfermidade afeta freqüentemente animais com gestação gemelar, o que não foi observado nos surtos descritos neste trabalho, isso devido provavelmente a que as gestações gêmeas são raras nas condições de criação do Rio Grande do Sul.

Apesar de que em nenhum dos surtos observados os animais foram tratados com medicamentos, houve uma recuperação dos casos que estavam nas fases iniciais da

doença. Mediante modificações da alimentação do rebanho como a utilização de pastagens de boa qualidade (a-zeven) ou suplementação alimentar, não foram observados novos casos da doença. No entanto, seria recomendável o tratamento dos animais doentes com glicose ou outros medicamentos, com o objetivo de aumentar a glicemia reestabelecendo o apetite e favorecendo a ingestão de alimentos.

Com relação aos sinais clínicos observados, chama atenção a ocorrência em todos os casos de sinais nervosos, devendo-se, no diagnóstico diferencial, considerar algumas doenças dos bovinos no Rio Grande do Sul que apresentam sintomatologia similar, principalmente a raiva e as intoxicações por *Senecio* spp. e *Claviceps paspali*. O diagnóstico da cetose deve ser realizado pela observação

dos dados epidemiológicos e a determinação de corpos cetônicos na urina.

#### REFERÊNCIAS

- Blood D.C., Henderson J.A. & Radostitis O.M. 1979. *Veterinary Medicine*. 5th ed. Balliere Tindall, London, p. 858-860.
- Caple I.W., Pemberton D.H., Harrison M.A. & Halpin C.G. 1977. Starvation ketosis in pregnant cows. *Aust. Vet. J.* 53:289-291.
- Galarraga J., Pereira S., Xavier G. & Keitz W. 1976. Cetosis de los ruminantes. *Anais II Jornada Latinoamericana de Buiatria, Paysandú, Uruguai*, p. 11-15.
- Kingrey B.W., Ladwig V.D., Monlux W.S. & Ramsey F.K. 1957. Pregnancy disease of cows. *Modern Vet. Practice* 38:321-328.
- Morrow D.A. 1975. Fat cow syndrome. *J. Dairy Sci.* 59:1625-1629.
- Sampson J., Morrill C.C. & Alberts J.O. 1945. Ketonemia in fetuses of a heifer and a ewe affected with severe ketosis. *Cornell Vet.* 35:365-369.