

ISSN 0100-736X

Volume 9 Números 1/2

Jan/Jun 1989

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

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

Assessoria Científica (Advisory Board)

Carlos Cypriano P. 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-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851 (Brazil); tels.: (021) 782-1081 e 782-1082.

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

M C T  CNPq  finep

A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

**Este fascículo foi composto e impresso
com recursos concedidos pela Fundação de Amparo à
Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ**

Figura da capa: Áreas de fibrose do miocárdio na intoxicação experimental de bovino por *Tetrapteryx multiglandulosa* (fam. Malpighiaceae), planta tóxica importante da região Sudeste do Brasil. (Tokarnia et al., p. 23)

Cover illustration: Areas of fibrosis of the myocardium of a bovine in experimental poisoning by Tetrapteryx multiglandulosa (Malpighiaceae), an important toxic plant of southeastern Brazil. (Tokarnia et al., p. 23)

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 9

Janeiro/Junho 1989

Números 1/2

SUMÁRIO

- Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte em região de intensa produção avícola.** *C.H. Romero, L. Brentano, C.A. Rowe, I. Wentz, R.S. Flores & J.C. Rodrigues*..... 1-7
- Farinha de carne como fonte de Salmonella em granja avícola.** *A. Berchieri Jr., S.Y. Adachi, C.T. Calzada, A.C. Paulillo, R.P. Schoken-Iturrino & A.T. Tavechio*..... 9-12
- Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causadas por Herpes vírus bovino-1.** *F. Riet-Correa, T. Vidor, A.L. Schild & M.C. Méndez*..... 13-16
- Ação de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos, Boophilus microplus.** *A.T.M. Barros & D.E. Evans*..... 17-21
- Tetrapteryx spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas.** *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, J. Döbereiner, L.B. Consorte & A. Gava*..... 23-44

CONTENTS

- Occurrence of antibodies for avian viruses in broilers in a region of high density poultry production.** *C.H. Romero, L. Brentano, C.A. Rowe, I. Wentz, R.S. Flores & J.C. Rodrigues*..... 1-7
- Meat meal as source of Salmonella on a poultry farm.** *A. Berchieri Jr., S.Y. Adachi, C.T. Calzada, A.C. Paulillo, R.T. Schoken-Iturrino & A.T. Tavechio*..... 9-12
- Meningoencephalitis and necrosis of the cerebral cortex in cattle caused by Herpes Virus Bovine-1.** *F. Riet-Correa, T. Vidor, A.L. Schild & M.C. Méndez*..... 13-16
- Effects of some pasture grasses on infestive larvae of the cattle tick Boophilus microplus.** *A.T.M. Barros & D.E. Evans*..... 17-21
- Tetrapteryx spp. (Malpighiaceae) as the cause of death of cattle due to cardiac lesions.** *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, J. Döbereiner, L.B. Consorte & A. Gava*..... 23-44

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.9,n.1/2,p.1-44, jan./jun. 1989

EDITORIAL

Dando seguimento à linha de pensamento do Colégio Brasileiro de Patologia Animal no editorial da *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2) Jan./Jun. 1988, gostaríamos aprofundar as nossas considerações sobre o SISTEMA INTEGRADO DE SAÚDE ANIMAL, que julgamos oportuno rever visto que a maioria das instituições de pesquisa e outras atividades nessa área sente-se um tanto isolada, sem muitos contatos e sem a liderança de âmbito nacional que possa reverter esta situação e fazer com que cada uma sinta-se importante ou indispensável e capaz de contribuir, somando ações, para atender adequadamente à Saúde Animal dentro do contexto sócio-econômico do País.

Para alcançar esta integração será necessário que as lideranças dos órgãos de pesquisa, defesa sanitária animal, extensão rural, inspeção de carnes e produtos derivados, fiscalização de portos, aeroportos e fronteiras, controle de qualidade de produtos, laboratórios de diagnóstico, a nível de Universidades, Instituições federais e estaduais ou da iniciativa privada, venham somar esforços, integrando-se a um objetivo maior no campo da Saúde Animal.

A integração pode-se concretizar conhecendo as equipes técnicas existentes nas instituições no País, sua localização, seu potencial e sua disposição de integrar-se neste objetivo de contribuir à Saúde Animal.

Conhecida a potencialidade e as áreas a serem consideradas, os órgãos financiadores tais como Ministério da Agricultura, CNPq, Finep, Embrapa, Fundações Estaduais de Amparo à Pesquisa e a Fundação Banco do Brasil, teriam condições de, guiados pelos planos governamentais, promoverem o financiamento dentro de um objetivo comum.

Cumpriria ao Sr. Ministro da Agricultura convocar uma equipe técnica de reconhecidos méritos na área de Saúde Animal para normatizar procedimentos e coordenar ações.

Neste contexto, o Colégio Brasileiro de Patologia Animal, através da revista *Pesquisa Veterinária Brasileira*, contribui com a publicação dos resultados de pesquisa para o aperfeiçoamento de tecnologias visando aumentar a produtividade de nossos rebanhos.

JÜRGEN DÖBEREINER
Editor

1º Encontro Nacional de Médicos Veterinários Higienistas de Alimentos, Rio de Janeiro, 2-7.7.1989

(Informações: Departamento de Cursos-Grupo Catho, Caixa Postal 51561, São Paulo, SP 01499; tel. (011) 284-7033, (021) 239-9398, (031) 344-8044)

41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Fortaleza, Ceará, 9-19.7.1989

(Informações: Secretaria Geral da SBPC, Caixa Postal 11008, São Paulo, SP 05499; tel. (011) 211-0495, 212-0740; telex 1154164 SBCH)

VIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, Minas Gerais, 10-14.7.1989

(Informações: Belvitur Viagens Ltda., 30170 Belo Horizonte, MG; tel. (031) 201-7755, 224-7755; telex (31) 1432)

I Encontro em Zoonoses dos Países Amazônicos e I Encontro Amazônico de Medicina Veterinária, Manaus, 11-15.9.1989

(Inscrições: Sociedade de Medicina Veterinária do Amazonas (SMEVAM), Rua Maceió 460, 1º andar, sala 22, Manaus, AM 69057)

XII Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 23-29.9.1989

(Informações: Flecha Promoções Ltda., R. Barão de Macaúbas 152, Belo Horizonte, MG 30350; tel. (031) 227-3327; telex (039) 1174 FLEH-BH)

1º Congresso Internacional de Zoonoses, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 15-21.10.1989, incluindo XIV Congresso Internacional de Hidatidologia, II Congresso Brasileiro de Zoonoses e II Seminário Brasileiro de Roedores e Vetores.

(Contatos: Dr. Carlos Alberto Costa, Brasília, tel. (061) 224-7475)

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS PARA VÍRUS AVIÁRIOS EM FRANGOS DE CORTE EM REGIÃO DE INTENSA PRODUÇÃO AVÍCOLA¹

CARLOS H. ROMERO², LIANA BRENTANO², CHERYL ANN ROWE², INGON WENTZ², ROBIS S. FLORES³ e JULIO CESAR RODRIGUES³

ABSTRACT.- Romero C.H., Brentano L., Rowe C.A., Wentz I., Flores R.S. & Rodrigues J.C. 1989. [Occurrence of antibodies for avian viruses in broilers in a region of high density poultry production.] Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte em região de intensa produção avícola. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):1-7. Embrapa-CNPISA, Cx. Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700, Brazil.

Blood samples were obtained at slaughter from sixty 43 to 56 day old broilers, from each of 60 healthy flocks located in a region of high density poultry production. The flocks tested corresponded to approximately 10% of the total number existing in the region and were located within a radius of 50 km. All broilers had been vaccinated against Marek's disease at one day of age. Sera were tested in the immunodiffusion test for antibodies to avian reovirus (ARV), infectious bursal disease virus (IBDV), fowl poxvirus (FPV), herpes virus of turkeys (HVT), avian adenovirus of groups 1 (AAV-1) and 2 (AAV-2). The same sera were tested in the micro serum neutralization test in plates for antibodies to infectious bronchitis virus (IBV) and infectious laryngotracheitis virus (ILTV), and for hemagglutination inhibition antibodies to Newcastle disease virus (NDV). Antibodies to ARV, detected in 2172 (63,6%) of 3418 sera, and to AAV-1, in 2701 (78,2%) of 3456 sera, were found in all 60 flocks, while antibodies to IBDV, in 3086 (89,4%) of 3452 sera, were found in only 57 of the same flocks. These results indicated that the three viruses are ubiquitous in broilers. Antibodies to FPV in 14 (0,5%) of 2935 sera, and to NDV in 6 (0,2%) of 3320 sera, were demonstrated in five of 59 and in one of 60 flocks, respectively, indicating that these two viruses occur only rarely. Antibodies to HVT, in 315 (9,0%) of 3384 sera, were detected in 39 of 60 flocks tested, suggesting poor serological response to vaccination and low field exposure to MDV. Antibodies to IBV, in 61 (2,1%) of 2925 sera, were found in 12 of 57 flocks tested. However, in only one flock was the percentage of reactors significant (41%); in the 11 flocks the percentage of broilers with antibody ranged from 1.7 to 16.1%. Finally, no antibodies were found in 3491 sera from 60 flocks tested for AAV-2, nor in 3035 sera from 59 flocks when tested for ILTV, indicating that these two viruses do not exist in the geographical area tested. The significance of these findings is discussed.

INDEX TERMS: Antibodies, broilers, reovirus, Gumboro, Fowl pox, Marek's disease, adenoviruses, infectious bronchitis, infectious laryngotracheitis, Newcastle disease.

SINOPSE.- Amostras de sangue foram obtidas ao abate de 60 frangos de corte, de 43 a 56 dias de idade, de cada uma de 60 granjas sem problemas sanitários aparentes localizadas em uma região de alta densidade de produção avícola. As granjas correspondiam a 10% do número total que existe na região e estavam localizadas em um raio de 50 km. Todos os frangos tinham sido vacinados contra a doença de Marek no primeiro dia de vida. Os soros foram avaliados no teste de imunodifusão para anticorpos para reovírus aviário (RVA), vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), vírus da bouba aviária (VBA), vírus herpes de perus (HVT), adenovírus aviário do grupo 1 (AVA-1) e do grupo 2 (AVA-2). Os mesmos soros foram examinados no microteste de

sononeutralização em placas para anticorpos para o vírus da bronquite infecciosa (VBI) e o vírus da laringotraqueíte infecciosa (VLTI), bem como anticorpos inibidores da hemaglutinação para o vírus da doença de Newcastle (VDN). Anticorpos para RVA, detectados em 2172 (63,6%) de 3418 soros, e para AVA-1, em 2701 (78,2%) de 3456 soros, foram demonstrados em todas as 60 granjas, enquanto que, anticorpos para o VDIB, em 3086 (89,4%) de 3452 soros, foram encontrados em somente 57 destas granjas. Estes resultados indicam que os três vírus são ubíquos em frangos de corte da região estudada. Anticorpos para o VBA em 14 (0,5%) de 2935 soros, para o VDN em seis (0,2%) de 3320 soros, foram encontrados em cinco de 59 e em uma de 60 granjas, respectivamente, indicando que esses dois vírus ocorrem apenas raramente. Anticorpos para HVT, em 315 (9,0%) de 3484 soros, foram detectados em 39 de 60 granjas testadas, sugerindo resposta sorológica pobre à vacinação e baixa exposição de campo ao vírus da doença de Marek. Anticorpos para o VBI, em 61 (2,1%) de 2925 soros, foram encontrados em

¹ Aceito para publicação em 18 de fevereiro de 1988.

² Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Sufnos e Aves (CNPISA), Cx. Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

³ Sadia Concórdia S.A. Ind. Com., Rua Senador Atilio Fontana 86, Concórdia, SC 89700.

12 de 57 granjas testadas. Porém, em apenas uma granja a porcentagem de reagentes era significativa (41%); nas outras 11 granjas a porcentagem de frangos com anticorpos variava de 1,7 a 16,1%. Finalmente, não foram detectados anticorpos em 3491 soros de 60 granjas testada para AVA-2, nem em 3035 soros de 59 granjas testadas para o VLTI, indicando que esses vírus não existem na área geográfica estudada. O significado de todos os achados é discutido.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Anticorpos, frangos de corte, reovírus, Gumboro, boubá, Marek, adenovírus, bronquite infecciosa, laringotraqueíte infecciosa, Newcastle.

INTRODUÇÃO

A exploração avícola moderna caracteriza-se por uma produção intensiva, em ciclos rápidos, que possibilita a criação de até 7 lotes de frangos de corte por ano, utilizando-se uma alta densidade de aves por m². Esta característica facilita a disseminação de microorganismos patógenos aviários, especialmente vírus.

O monitoramento sorológico de uma população avícola pode determinar a presença ou ausência desses vírus. A conversão sorológica, conclusiva na identificação de uma virose recente, utiliza soros da fase aguda e da fase convalescente após a ocorrência de surto da doença clínica. Identifica também infecções "silenciosas", sem sintomas clínicos aparentes (Zander 1984).

As viroses são infecções que causam grandes prejuízos econômicos, e para combatê-las necessita-se de imunoprofilaxia específica aliada a medidas preventivas gerais, tais como limpeza, desinfecção e isolamento dos galpões e lotes de criação.

Os programas de vacinação intensos, praticados em matrizes produtoras de frangos comerciais, permitem a obtenção de progênie com altos títulos de anticorpos maternos, que protegem os pintos em crescimento contra algumas viroses. Entretanto, devido aos custos relativamente altos destes programas, a política de não se introduzir vacinas de vírus vivo em áreas de baixo risco e, ao ciclo rápido de crescimento do frango de corte, a tendência em algumas áreas geográficas é de se vacinar apenas contra a doença de Marek (DM).

Neste trabalho, realizado em uma de tais áreas geográficas, determinou-se a prevalência de alguns vírus aviários em granjas de frangos de corte, utilizando-se testes diagnósticos tradicionais e de fácil implementação em laboratórios convencionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Sangue para a obtenção de soro foi coletado no momento do abate de frangos de corte de 43-56 dias de idade num frigorífico localizado no Município de Concórdia, Santa Catarina. As aves eram oriundas de 60 granjas, sem problemas sanitários aparentes, localizadas num raio de 50 km deste município, caracterizado por intensa criação de frangos de corte. As granjas estudadas correspondem a 10% das existentes nesta região e, em geral, são constituídas de galpões com capacidade para 6.000 ou 12.000 aves, da eclosão ao abate. De cada granja selecionada, obtiveram-

se amostras de sangue de 60 aves, o que corresponde a 0,5 - 1,0% das aves de um galpão. A única vacinação realizada nestas granjas foi contra a doença de Marek (DM), quando as aves tinham um dia de idade.

Vírus

Os vírus utilizados na preparação de antígenos e estoques virais para os testes sorológicos foram: a cepa S1133 (Van der Heide & Kalbac 1975) de reovírus aviário (RVA); a cepa FC-126 (Witter et al. 1970) do vírus herpes de perus (HVT); a cepa vacinal tipo galinha (Arnizaut et al. 1983) do vírus da boubá aviária (VBA); uma cepa de campo do vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), também denominada doença de Gumboro, isolada da bursa de Fabrício de um frango corte refúgio, na região de Chapecó, Santa Catarina; vírus da enterite hemorrágica (VEH), um adenovírus do grupo 2, isolado do baço de perus moribundos com sintomas característicos de enterite hemorrágica e propagado através de passagem por via oral em perus; a cepa Tipton (Faddy & Winterfield 1973) de adenovírus aviário do grupo 1 (AVA-1); a cepa Beaudette do vírus da bronquite infecciosa (VBI) adaptada a cultivos primários de fígado de embrião de galinha (CEL'); a cepa vacinal do vírus da laringotraqueíte infecciosa (VLTI), adaptada a CEL' e obtida dos Laboratórios de Pesquisa Veterinária, Departamento de Agricultura, Stormont, Irlanda do Norte; e a cepa vacinal LaSota do vírus da doença de Newcastle (VDN).

Preparação de antígenos e estoques virais

Células para cultivos primários de fibroblastos (FEG') e de fígado (CEL') de embrião de galinha foram obtidas por métodos convencionais.

O meio de cultura para crescimento (MC) foi uma mistura em partes iguais dos meios Ham F10 e 199 acrescida de soro bovino (3% para FEG' e 5% para CEL'), penicilina (500 U/ml), estreptomomicina (500 µg/ml), neomicina (20 µg/ml) e micostatina (50 U/ml). Utilizaram-se garrafas Corning de plástico, de 150 cm² ou placas de Petri Falcon, de plástico, de 150 x 25 mm, semeadas com 60-80 x 10⁶ células suspensas em 25 ml de MC.

A confluência das monocamadas celulares acontecia, geralmente, após 24-48 horas. Para a propagação do RVA e do VBA, cultivos de FEG' foram drenados e inoculados diretamente na monocamada, para a propagação do AVA-1, VBI e do VLTI inocularam-se cultivos de CEL', diretamente na monocamada. Em todos os casos, a adsorção viral foi realizada diretamente na monocamada durante duas horas; o HVT associado a células, foi inoculado diretamente no MC e sua adsorção, ao cultivo de FEG', foi realizado durante um mínimo de 24 horas.

Após a adsorção, os inóculos foram retirados por drenagem e os cultivos alimentados com 25 ml de meio de manutenção (MM) similar ao MC, mas contendo 1% (RVA, HVT, AVA-1 e VBA) ou 2% (VBI e VLTI) de soro bovino. No caso dos cultivos infectados com o VBI foi acrescida sacarose ao MM numa concentração final de 1,5% (Lukert 1980).

Quando o efeito citopático (CPE), induzido por esses vírus, atingia mais de 90% da monocamada, esta era suspensa por agitação no próprio MM, e a mistura transferida para frascos de centrífuga Nalgene de 250 ml de capacidade. O material foi congelado (-80°C) e descongelado (37°C) três vezes com o objetivo de liberar antígenos e vírus intracelulares, centrifugado a 1.750 g durante 15 minutos a 5°C e o sobrenadante foi coletado sem perturbar o sedimento celular.

No caso do RVA, HVT, AVA-1 e VBA, os sobrenadantes foram concentrados entre 60 a 80 vezes a 5°C em tubos de diá-

lise submersos em polietilenoglicol PM 8.000. O concentrado obtido foi distribuído em volumes de 1-2 ml, estocado a -20°C e utilizado como antígeno viral no teste de imunodifusão em gel de ágar (AGP). No caso do VBI e VLTI, os sobrenadantes foram divididos em alíquotas de 2 ml e congelados a -80°C para sua titulação em CEL' e utilização no microteste de soroneutralização (SN).

O VDIB foi propagado, por instilação ocular, em pintos de 3-4 semanas de idade, livres de microorganismos patogênicos aviários (SPF) mantidas em isoladores com ar filtrado e pressão positiva. Quatro dias após a infecção, as aves foram sacrificadas, as bursas extirpadas e trituradas em volume similar de tampão fosfatado salino (PBS) de pH 7,2-7,4. Após três ciclos de congelamento e descongelamento, a preparação foi clarificada a 1.560 g durante 15 minutos, o sobrenadante distribuído em volumes de 1-2 ml, congelado a -20°C e utilizado como antígeno no teste de AGP.

O VEH ou AVA-2 foi propagado em perus comerciais de 6-8 semanas de idade através da administração oral de 1 ml de uma suspensão esplênica a 10% em PBS. Quatro dias após os perus foram sacrificados, o baço retirado e triturado em volume igual de PBS e congelado e descongelado 3 vezes. A suspensão foi centrifugada a 1.560 g durante 15 minutos, o sobrenadante dispensado em alíquotas de 1-2 ml, congelado a -20°C e utilizado como antígeno no teste de AGP.

A cepa LaSota do VDN foi propagada em ovos de galinha embrionados com 10 dias de incubação. O líquido corioalantóide, coletado 48-72 horas após a infecção, foi clarificado por centrifugação, inativado com beta propiolactona (concentração final de 0,1%) e congelado em volumes de 1-2 ml a -80°C para ser titulado e utilizado no teste de inibição da hemoaglutinação (HI).

Soros de referência

A obtenção de soros de referência para o VDM (Vianna & Romero 1983), VBA (Arnizaut et al. 1983) e VEH (Romero et al. 1983) foi anteriormente descrita. Soros para o VDIB foram obtidos de duas das aves instiladas pela via ocular com este vírus, duas semanas após a infecção. Soros para o VBI e VLTI foram produzidos em aves SPF de 10 semanas idade, mantidas em isoladores com ar filtrado e pressão negativa. As aves foram inoculadas pela via ocular com a cepa Beaudette (VBI), ou pela via intratraqueal com a cepa vacinal do VLTI e sacrificadas para a obtenção de soro três semanas depois. Utilizaram-se também soros do campo de aves vacinadas com a cepa H-120 do VBI. Soros para o VDN foram preparados em aves SPF de 10 semanas de idade através da vacinação ocular e nasal com a cepa LaSota, durante três semanas consecutivas, sacrificando-se as aves para a obtenção dos soros uma semana após a terceira vacinação. Antisoros para o RVA e AVA-1 foram produzidos pela inoculação intra-abdominal de pintos SPF de uma semana de idade com as cepas S1133 e Tipton, respectivamente. As aves foram monitoradas no teste de AGP e sacrificadas para se obter soros, quando estes produziam duas linhas de precipitação nítidas, testados frente aos respectivos antígenos.

Teste de imunodifusão (AGP)

O teste de AGP previamente descrito para o VDM (Vianna & Romero 1983) foi adaptado para a testagem de anticorpos para o RVA, VDIB, VBA, AVA-1 e VEH. A única modificação consistiu na utilização de ágar na concentração de 0,8%. A leitura do teste foi realizada após 48-72 horas.

Teste de soroneutralização (SN)

A utilização do microteste de soroneutralização (SN) em placas de 96 orifícios de fundo plano, determinou a presença de anticorpos para o VBI e o VLTI. Os soros foram inativados por aquecimento em banho-maria a 56°C durante 30 minutos e testados em duplicata numa diluição de 1:10. Adicionou-se volume similar da suspensão viral correspondente, contendo 100 unidades infectantes médias (100 TCID₅₀) para CEL' e as misturas soro-vírus foram incubadas durante 60 minutos a 38°C (VLTI) ou à temperatura ambiente (VBI). À continuação adicionou-se a cada poço da placa 150 µl de MC contendo 150.000 células de CEL', sendo que para o VBI o MC conteve 1,5% de sacarose. As placas foram incubadas na estufa a 38°C com uma atmosfera de 5% de CO₂ e a leitura final realizada no quinto dia de incubação. Um soro foi considerado positivo para anticorpos quando neutralizou completamente o CPE, induzido por estes vírus. Por outro lado, um soro foi considerado isento de anticorpos quando permitiu o aparecimento do CPE viral em qualquer grau. Em cada placa, incorporou-se sempre um soro de referência positivo e outro negativo. Durante a realização de cada teste de SN, titulóu-se em octuplicata as 100 TCID₅₀ para se determinar a quantidade real de vírus em teste.

Teste de inibição da hemoaglutinação

Utilizou-se o microteste de inibição da hemoaglutinação (HI) em placas de 96 orifícios de fundo em U com diluição única de soro de 1:10 em duplicata, 10 unidades hemoaglutinantes da cepa LaSota do VDN e suspensão de eritrócitos de galinha a 0,5% (Beard 1980).

RESULTADOS

Foram realizados 29.516 testes sorológicos para determinar a presença de anticorpos para nove vírus aviários em soros de frangos de corte, obtidos ao abate e, oriundos de 60 granjas localizadas em uma área de alta densidade de produção avícola.

O demonstrativo dos resultados da ocorrência desses anticorpos por granja é apresentado nos Quadros 1 e 2.

O teste de AGP demonstrou ampla disseminação de RVA, AVA-1 e VDIB; insignificante resposta sorológica à vacinação contra a DM; escassa contaminação ambiental com o VDM e VBA e; ausência de anticorpos para o AVA-2, exemplificado pelo vírus da enterite hemorrágica.

A avaliação dos mesmos soros pelo teste de SN demonstrou a presença de anticorpos para o VBI em poucas aves de algumas granjas e a inexistência de anticorpos para o VLTI em todas as granjas testadas.

Anticorpos inibidores da hemoaglutinação do VDN, foram encontrados em 6 soros de uma granja.

Os resultados globais da avaliação são apresentados no Quadro 3. Verificou-se que 100% das granjas testadas tinham aves com anticorpos para RVA e AVA-1, mas estavam livres de anticorpos para o VLTI e AVA-2.

DISCUSSÃO

Os soros examinados originaram-se de frangos de corte, de 60 granjas localizadas numa região de intensa produ-

Quadro 1. Anticorpos precipitantes (AGP), neutralizantes (SN) e inibidores da hemoaglutinação (HI) para vírus aviários em soros de frangos de corte em região de alta densidade avícola

Granja	AGP ^a						SN ^b		HI ^c
	Reovfrus	Gumboro	Bouba	Marek	Adeno I	Adeno II	Bronquite	Laringotraqueíte	Newcastle
01	24/49	0/49	0/45	26/49	48/49	0/49	0/40	0/41	0/46
02	40/50	50/50	0/40	3/50	50/50	0/50	0/46	0/46	0/47
03	26/49	49/49	1/49	3/49	48/49	0/49	0/49	0/49	0/49
04	35/50	50/50	0/40	17/50	12/50	0/50	0/47	0/45	0/46
05	47/49	49/49	0/49	12/49	49/49	0/49	0/49	0/49	0/49
06	44/60	60/60	1/54	0/60	59/60	0/60	0/53	0/52	0/55
07	53/60	60/60	0/59	2/60	56/59	0/60	0/52	NT	0/57
08	53/60	60/60	0/60	2/60	26/60	0/60	0/60	0/60	0/60
09	44/60	60/60	0/54	1/60	58/60	0/60	0/59	0/59	0/59
10	16/60	60/60	0/60	0/60	60/60	0/60	0/59	0/58	0/60
11	46/60	60/60	0/58	0/59	57/59	0/60	0/58	0/58	0/58
12	45/60	60/60	5/60	0/60	58/60	0/60	0/60	0/60	0/60
13	53/59	59/59	1/59	0/59	59/59	0/59	0/57	0/56	0/59
14	27/58	58/58	0/28	0/58	53/58	0/58	0/48	0/48	0/52
15	42/60	60/60	0/56	0/60	50/60	0/60	0/56	0/54	0/59
16	49/59	59/59	0/58	15/59	56/59	0/59	0/54	0/43	0/59
17	58/60	60/60	0/52	22/60	59/60	0/60	NT	0/46	0/59
18	51/60	59/59	0/52	0/59	58/59	0/59	NT	0/54	0/57
19	5/57	57/57	0/53	0/56	7/57	0/57	0/51	0/51	0/56
20	42/59	59/59	0/33	0/57	44/59	0/59	0/53	0/52	0/56
21	54/58	0/58	0/57	0/58	6/58	0/58	0/54	0/58	0/58
22	43/59	58/59	0/39	0/57	27/57	0/59	0/24	0/49	0/54
23	3/58	5/58	0/47	0/58	27/58	0/58	0/54	0/57	0/58
24	25/54	60/60	0/43	1/59	50/58	0/60	0/41	0/54	0/56
25	51/60	59/60	0/52	19/59	42/60	0/60	0/51	0/56	0/58
26	25/49	59/59	0/46	11/59	34/59	0/59	NT	0/58	0/59
27	18/59	60/60	0/58	4/60	42/60	0/60	0/57	0/52	0/60
28	59/60	60/60	0/46	3/57	41/60	0/60	2/53	0/44	0/47
29	57/60	49/60	0/58	8/60	21/60	0/60	0/59	0/53	0/60
30	31/57	60/60	NT ^d	19/60	47/56	0/60	2/56	0/58	0/59

^a Imunodifusão;

^b Soroneutralização;

^c Inibição de hemoaglutinação;

^d Não testado.

ção avícola, que tinham recebido apenas a vacina HVT FC-126 contra a DM, imediatamente após a eclosão no incubatório. Conseqüentemente para a interpretação dos resultados considerou-se que, com exceção da DM, a demonstração de anticorpos para um determinado vírus, era indicativo de infecção natural com este vírus, independente do número ou percentagem de soros positivos encontrados em uma granja.

Os antígenos utilizados no teste de AGP, preparados com o RVA, VDIB, VBA, HVT, AVA-1 e AVA-2, reagiram com os soros de referência formando 2 linhas de precipitação; poucos foram os soros de campo que reagiram de forma similar, a maioria deu origem a uma linha. A maioria dos sorotipos de RVA possui um antígeno precipitante em comum, facilmente detectável no teste de AGP, podendo este ser utilizado para a detecção de anticorpos, independente do sorotipo envolvido. Estes anticorpos tendem a persistir em aves com problemas de artrite ou tenosinovite, podendo desaparecer após 4 semanas (Olson 1980). Os resultados confirmam aqueles que em outros países indicaram ampla disseminação dos reovírus aviários (Olson 1984). Os reovírus, de significativa importância econômica, são associados com artrite e tenosinovite, conversão alimentar deficiente, crescimento pobre e refugagem, alteração da relação bursa de Fabri-

cius e baço com o peso corporal e mortalidade (Montgomery et al. 1986), podendo-se disseminar horizontalmente por contato direto ou indireto e, verticalmente através do ovo de matrizes infectadas e sua progênie (Dhillon et al. 1986).

Os resultados da avaliação sorológica para o VDIB indicaram também ampla disseminação deste vírus, encontrando-se anticorpos em 57 das 60 granjas examinadas. A percentagem de reagentes nas granjas infectadas foi significativa, sendo que em 48 (84,2%) delas, 100% das aves testadas possuíam anticorpos. Apesar de se haver encontrado estas altas taxas de infecção de campo, os dados de produtividade dos lotes infectados acusaram índices normais ao abate. Estes resultados podem indicar que as cepas do VDIB prevalentes na região estudada possuem escasso poder patogênico, ou estão presentes em quantidades significativamente mais abundantes que as cepas mais virulentas, atuando como vacinas naturais. No mundo inteiro, a doença infecciosa da bursa continua sendo um sério problema para a criação de frangos de corte em regiões de alta densidade avícola, apesar da introdução de vacinas com cepas vivas de patogenicidade intermediária (Giambrone & Clay 1986). As perdas econômicas são decorrentes de uma combinação de fatores que possibilitam maior agressividade viral tais como: ca-

Quadro 2. Anticorpos precipitantes (AGP), neutralizantes (SN) e inibidores da hemoaglutinação (HI) para vírus aviários em soros de frangos de corte em região de alta densidade avícola

Granja	AGP ^a						SN ^b		HI ^c
	Reovírus	Gumboro	Bouba	Marek	Adeno I	Adeno II	Bronquite	Laringotraqueíte	Newcastle
31	55/55	60/60	0/17	0/60	20/57	0/60	0/46	0/18	0/52
32	40/60	6/60	0/59	10/60	11/60	0/60	0/40	0/40	0/59
33	17/60	60/60	0/59	0/60	60/60	0/60	0/59	0/57	0/40
34	22/60	60/60	0/60	13/60	53/60	0/60	0/57	0/57	0/57
35	46/55	54/54	0/51	0/55	39/55	0/54	0/44	0/39	6/44
36	32/59	59/59	0/35	0/59	48/48	0/59	0/50	0/51	0/48
37	36/60	60/60	0/52	0/60	59/59	0/60	0/44	0/43	0/45
38	14/58	58/58	0/56	1/58	42/58	0/58	0/48	0/52	0/52
39	56/60	60/60	6/60	16/60	56/60	0/60	9/54	0/56	0/55
40	45/60	60/60	0/57	1/60	60/60	0/63	5/59	0/59	0/59
41	45/59	60/60	0/59	2/60	59/59	0/60	0/52	0/59	0/59
42	28/59	59/59	0/49	4/59	59/59	0/59	23/56	0/58	0/59
43	45/59	33/54	0/39	5/60	27/60	0/60	0/38	0/48	0/60
44	27/57	0/60	0/34	12/59	58/58	0/59	0/57	0/58	0/55
45	40/60	51/52	0/55	6/60	49/56	0/60	1/60	0/51	0/53
46	47/57	58/58	0/57	34/60	36/59	0/58	1/56	0/55	0/58
47	22/29	60/60	0/52	2/60	59/60	0/60	6/54	0/54	0/60
48	22/55	55/55	0/51	2/58	58/58	0/58	0/47	0/49	0/55
49	11/59	57/57	0/55	3/60	35/57	0/59	0/55	0/56	0/59
50	12/60	60/60	0/58	3/60	55/58	0/59	2/59	0/57	0/60
51	15/56	60/60	0/36	2/60	60/60	0/60	0/43	0/47	0/56
52	23/54	45/45	0/24	15/56	50/55	0/55	0/30	0/37	0/48
53	53/59	57/57	0/49	1/59	30/59	0/59	3/51	0/55	0/58
54	49/59	56/56	0/38	4/58	58/58	0/58	0/49	0/48	0/59
55	34/60	60/60	0/57	0/60	53/60	0/60	0/59	0/60	0/60
56	33/57	57/57	0/52	0/60	60/60	0/60	4/49	0/54	0/57
57	27/43	41/42	0/39	3/43	23/43	0/43	0/39	0/38	0/43
58	24/56	4/60	0/49	4/60	1/60	0/60	3/57	0/54	0/60
59	45/59	58/58	0/59	4/60	59/59	0/59	0/57	0/51	0/59
60	40/60	59/59	0/52	0/59	59/59	0/59	0/56	0/54	0/59

^a Imunodifusão;
^b Soroneutralização;
^c Inibição de hemoaglutinação.

Quadro 3. Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em soros de frangos de corte oriundos de uma região de intensa produção avícola

Vírus	Cepa	Teste sorológico ^a	Granjas		Soros	
			Infectadas	Testadas (%)	Anticorpos	Testados (%)
Reo	S1133	AGP	60/60	(100,0)	2172/3418	(63,6)
Gumboro	Sorotipo 1	AGP	57/60	(95,0)	3086/3452	(89,4)
Bouba	Galina	AGP	5/59	(8,5)	14/2935	(0,5)
Marek	FC-126	AGP	39/60	(65,0)	315/3484	(9,0)
Adeno I	Tipton	AGP	60/60	(100,0)	2701/3456	(78,2)
Adeno II	Enterite hemorrágica	AGP	0/60	(0,0)	0/3491	(0,0)
Bronquite infecciosa	Beaudette	SN	12/57	(21,1)	61/2925	(2,1)
Laringotraqueíte	Vacinal	SN	0/59	(0,0)	0/3035	(0,0)
Newcastle	LaSota	HI	1/60	(1,7)	6/3320	(0,2)

^a AGP = Imunodifusão; SN = Soroneutralização; HI = Inibição de hemoaglutinação.

mas de criação altamente contaminadas com vírus virulento, dando origem a precoce infecção dos pintinhos; a presença de anticorpos de origem materna durante os primeiros dias de vida, que dificulta o estabelecimento da infecção em aves vacinadas com cepas de pouca agressividade (*neutralização in vivo*); falta de uma estratégia de vacinação, baseada no monitoramento sorológico quantitativo da persistência de anticorpos de origem materna e; imunidade desuniforme da progênie devido a esquemas de vacinação deficiente nas matrizes. Uma das melhores estratégias para o controle da doença consiste na lavagem e completa desinfecção dos aviários antes de se colocar

um novo lote (all in all out). Observações neste sentido foram obtidas em três granjas, nas quais, após esse tratamento, conseguiu-se criar aves durante um mínimo de 7 semanas, sem se obter, sequer, uma ave com anticorpos para o VDIB.

Os resultados dos testes de AGP para anticorpos do VBA indicaram escassa infecção de campo com este vírus, a julgar pelo número reduzido de aves soro-positivas nas cinco (8,5%) das 59 granjas testadas. Os anticorpos precipitantes para o VBA desenvolvem-se e desaparecem rapidamente após a infecção natural, recomendando-se que os soros para a avaliação de anticorpos sejam obtidos

entre 15-20 dias após a infecção (Tripathi & Cunningham 1984). Em frangos vacinados pela via subcutânea no incubatório e, em frangos de 2 semanas vacinados por escarificação ou por punção da asa, pode-se detectar estes anticorpos, respectivamente, a partir da segunda e quarta semanas de idade, persistindo por um mínimo de 4 semanas (Arnizaut et al. 1983).

Os resultados da avaliação de anticorpos para o VDM foram surpreendentes. Apesar de 100% das aves terem sido vacinadas no primeiro dia de vida, com a vacina HVT, apenas 9% delas possuíam anticorpos ao abate, demonstráveis pelo teste de AGP. Estes anticorpos foram detectados somente em aves de 39 das 60 granjas testadas. Como as aves estudadas tinham entre 43-56 dias de idade e os anticorpos para o VDM podem ser detectados na maioria das aves infectadas 6 semanas após a infecção (Vianna & Romero 1983), o problema não poderia estar relacionado com a sensibilidade do teste. Sugere-se que as causas mais prováveis nos resultados encontrados possam ser: a utilização de doses subantigênicas da vacina HVT, devido ao costume local de se dividir a dose recomendada pelos fabricantes em meia e um quarto de dose; a rápida neutralização de doses subótimas de vacina HVT pelos anticorpos de origem materna homólogos (sorotipo 3) e heterólogos (sorotipos 1 e 2), e a utilização de cepas de HVT de título adequado *in vitro*, mas com capacidade insuficiente para se estabelecer *in vivo*, devido a sua excessiva atenuação como consequência do número elevado de passagens em cultivos celulares.

Por outro lado, a baixa percentagem de granjas infectadas e de aves com anticorpos indicam que a exposição precoce de frangos de corte ao VDM na região é pouco comum.

Os resultados confirmaram a disseminação ampla dos AVA do grupo 1. Anticorpos foram demonstrados em aves de 100% das granjas e em 78,2% de todas as aves testadas. A infecção é tão comum e eficiente que, em 47% das granjas infectadas, entre 95 e 100% das aves possuíam anticorpos. Os resultados obtidos não fornecem informação sobre a ocorrência dos 12 sorotipos conhecidos para os AVA-1 (McFerran 1980) pelo fato do teste de AGP detectar anticorpos para o antígeno comum a este grupo. Os resultados indicam também que o teste utilizado é altamente sensível na detecção de anticorpos, atribuindo-se esta propriedade a qualidade do antígeno preparado em CEL'.

O significado das altas taxas de anticorpos encontrados é desconhecido. Estudos realizados na Grã-Bretanha (Cook 1970) e nos Estados Unidos (Grimes et al. 1977) demonstraram alta frequência de anticorpos neutralizantes para AVA-1 em lotes de aves sadias. Os AVA-1, de uma maneira geral, são considerados oportunistas e sua patogenicidade depende do estado fisiológico do hospedeiro. Os AVA parecem adquirir importância sanitária na presença de agentes imunodepressores biológicos (Rosenberger et al. 1975, Fadly et al. 1976) e químicos (Fadly et al. 1980).

O VEH, juntamente com o vírus do baço marmóreo (VBM) dos faisões e o vírus da esplenomegalia (VE) das galinhas dão origem a enfermidades agudas e são tentativamente classificadas como adenovírus aviários do grupo 2, devido a forte relação antigênica em comum e a falta de reação cruzada com adenovírus aviários do grupo 1 (Domermuth et al. 1979). Os resultados, utilizando antígeno preparado a partir de baço de perus infectados com o VEH, demonstraram que nenhum dos três adenovírus do grupo 2 existem na região estudada. Todos os 3.491 soros obtidos de 60 granjas foram negativos para anticorpos no teste de AGP. Estes resultados são diferentes dos descritos por Domermuth et al. (1979) nos Estados Unidos, que relataram a ocorrência de anticorpos para o VEH e o VBM em lotes de frangos de corte com esplenomegalia e taxas de condenação de 1-4%. Estes autores encontraram anticorpos em 13 lotes com uma média de idade de $32,9 \pm 12,4$ semanas de 28 lotes de frangos testados. Em nenhum caso encontrou-se anticorpos em mais de 50% das aves testadas. Por outro lado, a média de idade dos 15 lotes sem anticorpos foi de $12,8 \pm 7,3$ semanas e 50% correspondia a aves entre 6 e 7,5 semanas de idade, similar à idade dos frangos avaliados neste estudo.

O teste de SN utilizado na detecção de anticorpos para o VBI é específico para o sorotipo Massachusetts (Lukert 1980). Evidência de infecção com o VBI foi encontrada em aves de 12 a 57 granjas testadas.

O VBI é contagioso e quando aparece em lotes suscetíveis, se dissemina rapidamente, causando soroconversão da maioria das aves expostas. Em apenas um lote infectado foi possível demonstrar uma taxa significativa de aves infectadas (41%), enquanto que nos outros 11 lotes infectados as percentagens de aves com anticorpos variavam de 1,7 a 16,1%. Como os soros foram testados numa diluição única de 1:10, é possível que em alguns casos a neutralização tenha sido ocasionada pela presença de inibidores termo-resistentes não específicos para o VBI presentes em alguns soros de aves (Lukert 1973). Porém, poucas semanas após a realização deste trabalho, aconteceram na região, surtos de problemas respiratórios em frangos de corte, dos quais foram isoladas amostras do VBI (Ingon Wentz, resultados não publicados).

O teste de SN para o VLTI detecta anticorpos para um único sorotipo conhecido. Como não se demonstrou a presença de anticorpos neutralizantes em 3.035 soros de 59 granjas testadas, conclui-se que esta infecção não existe na região estudada.

Com referência ao VDN, foram encontrados anticorpos inibidores da hemoaglutinação em 6 aves de uma granja, confirmando-se esta reatividade através de retestagem. É difícil explicar a ocorrência destas poucas aves positivas. Especula-se que algumas aves desta granja poderiam ter sido infectadas com cepa não patogênica do VDN introduzida por aves silvestres.

Concluímos que, o VLTI e o AVA-2 não existem na área geográfica testada; o RVA, AVA-1 e o VDIB são de

alta prevalência e disseminação, e infecções para o VBA e o VDN são de rara ocorrência. Por outro lado, a resposta sorológica após vacinação com HVT não é adequada e problemas associados a DM não acontecem na área devido a escassa agressão de campo com o VDM.

Agradecimentos.- Agradecemos a assistência laboratorial de Ivane Müller e Áurea Dartora.

REFERÊNCIAS

- Armizaut A.B., Souza P.C.A., Romero C.H., Cruz G.B. & Rowe C.A. 1983. Agar gel precipitation and fluorescent antibody tests to monitor fowlpox immunity in chickens and turkeys. Proc. 32nd Western Poultry Dis. Conf., Davis, California, p. 4-6.
- Beard C.W. 1980. Serologic procedures, p. 129-135. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Cook J.K.A. 1970. Incidence of chick embryo lethal orphan virus antibody in the fowl (*Gallus domesticus*) in Britain. Res. Vet. Sci. 11:343-348.
- Dhiloon A.S., Kibenge F.S.B. & Page R.K. 1986. Viral arthritis in fryers related to reovirus infection in breeders. Avian Dis. 30:613-616.
- Domermuth C.H., Harris J.R., Gross W.B. & DuBose R.T. 1979. A naturally occurring infection of chickens with a hemorrhagic enteritis/marble spleen disease type of virus. Avian Dis. 23:479-484.
- Fadly A.M., Riegle B.J., Nazerian K. & Stephens E.A. 1980. Some observations on an adenovirus isolated from specific pathogen free chickens. Poultry Sci. 59:21-27.
- Fadly A.M., Winterfield R.W. 1973. Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages and aplastic anemia in chickens. Avian Dis. 17:182-193.
- Fadly A.M., Winterfield R.W. & Olander H.J. 1976. Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease viruses. Avian Dis. 20:467-477.
- Giambone J.J. & Clay R.P. 1986. Vaccination of day-old broiler chicks against Newcastle disease and infectious bursal disease using commercial live and/or inactivated vaccines. Avian Dis. 30:557-561.
- Grimes T.M., Culver D.H. & King D.J. 1977. Virus-neutralizing antibody titers against 8 avian adenovirus serotypes in breeding hens in Georgia by a microneutralization procedure. Avian Dis. 21:220-229.
- Lukert P.D. 1973. Avian infectious bronchitis virus: characteristics of an inhibitor found in serum. Arch. Ges. Virusforsch. 49:93-104.
- Lukert P.D. 1980. Infectious bronchitis, p.70-72. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- McFerran J.B. 1980. Avian adenoviruses, p. 102-105. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Montgomery R.D., Villegas P. & Kleven S.H. 1986. Role of route of exposure, age, sex, and type of chicken on the pathogenicity of avian reovirus strain 81-176. Avian Dis. 30:460-467.
- Olson N.O. 1980. Viral arthritis, p. 85-87. In: Hitchner S.B., Domermuth C.H., Purchase H.G. & Williams J.E. (ed.) Isolation and Identification of Avian Pathogens, 2nd ed. Creative Printing Company, Endwell, New York.
- Olson N.O. 1984. Reovirus Infections, p. 560-566. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. Jr. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Romero C.H., Castro I.B. & Back A. 1983. Antibody persistence in natural and experimental hemorrhagic enteritis virus infection in turkeys. Proc. 32nd Western Poultry Dis. Conf., Davis, California, p. 37-38.
- Rosenberger J.K., Klopp S., Eckroade R.J. & Krauss W.C. 1975. The role of infectious bursal agent in the hemorrhagic-aplastic anemia syndrome and gangrenous dermatitis. Avian Dis. 19:717-729.
- Tripathi D.N. & Cunningham C.H. 1984. Avian Pox, p. 524-534. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. Jr. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Van der Heide L. & Kalbac M. 1975. Infectious tenosynovitis (viral arthritis): Characterization of a Connecticut viral isolant as a reovirus and evidence of viral egg transmission by reovirus-infected broiler breeders. Avian Dis. 19:683-688.
- Vianna L.F.C. & Romero C.H. 1983. Patogenicidade de uma cepa do vírus herpes da doença de Marek. Pesq. Vet. Bras. 3(4):131-139.
- Witter R.L., Nazerian K., Purchase H.G. & Burgoyne G.H. 1970. Isolation from turkeys of a cell-associated herpes virus antigenically related to Marek's disease virus. Am. J. Vet. Res. 31:525-538.
- Zander D.V. 1984. Principles of disease prevention: diagnosis and control, p. 1-37. In: Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W. (ed.) 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.

FARINHA DE CARNE COMO FONTE DE *Salmonella* EM GRANJA AVÍCOLA¹

ANGELO BERCHIERI JUNIOR², SÉRGIO YOSHIFUMI ADACHI³,
CHIFUMI TAKENCHI CALZADA⁴, ANTONIO CARLOS PAULLILLO²,
RUBEN PABLO SCHOKEN-ITURRINO⁵ e ANA TEREZINHA TAVECHIO⁵

ABSTRACT.- Berchieri Jr. A., Adachi S.Y., Calzada C.T., Paulillo A.C., Schoken-Iturrino R.P. & Tavechio A.T. 1989. [Meat meal as source of *Salmonella* on a poultry farm.] Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):9-12. Depto Patol. Vet., Fac. Ciênc. Agrárias Vet. UNESP. 14870 Jaboticabal, SP, Brazil.

The presence of *Salmonella* on a commercial broiler chicken farm was investigated. Twenty two *Salmonella* serotypes were detected in meat meal, feed, rat faeces and poultry litter. The results suggest that the diet ingredients were the principal source of *Salmonella* infections to the farm, spreading them among the birds. The behaviour of the *Salmonella* isolates, as subjected to the 14 antimicrobial agents, is also reported. The levels of resistance were: carbecillin (94.23%), tetracycline (92.31%), nalidixic acid (73.08%), nitrofurantoin, (65.38%), cephalothin (59.61%), linco-spectin (44.23%), kanamy in (36.54%), amikacin (25.0%), neomycin (23.09%), chloranfenicol (19.23%), ampicillin (11.38%), cefoxitin (11.54%), cotrimazine (11.54%) and gentamicin (1.92%).

INDEX TERMS: *Salmonella*, isolation, poultry flocks, meat meal, feed, litter, antibiogram.

SINOPSE.- Foi investigada a presença de *Salmonella* em uma granja comercial de frangos de corte. Foram encontrados 22 sorotipos de *Salmonella*, em amostras de farinha de carne, ração, fezes de rato e cama de aves. O quadro observado sugere que a farinha de carne foi o principal introdutor das salmonelas na granja, disseminando-as entre as aves. O antibiograma das salmonelas isoladas mostrou os seguintes percentuais de resistência: carbecilina (94,23%), tetraciclina (92,31%), ácido nalidíxico (73,08%), nitrofurantoina (65,38%), cefalotina (59,61%), linco-spectin (44,23%), canamicina (36,54%), amicacina (25,0%), neomicina (23,09%), cloranfenicol (19,23%), ampicilina (11,38%), cefoxitina (11,54%), cotrimazina (11,54%) e gentamicina (1,92%).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Salmonella*, isolamento, frangos de corte, farinha de carne, ração, cama de aves, antibiograma.

INTRODUÇÃO

O gênero *Salmonella* compreende microrganismos patogênicos para o homem e animais. Nas aves causam enfermidades específicas como o tifo e a pulorose, cujos respectivos agentes são *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum*, ou então, o paratifo ocasionado por diversas salmonelas (Jungherr 1940). As medidas higiênicas e sa-

nitárias adotadas em avicultura tem contribuído para diminuir a incidência do tifo e da pulorose, mas não conseguem evitar a ascensão do paratifo (Osborne 1976, Silva & Hipólito 1978). A principal fonte de salmonelas paratíficas para as aves tem sido a ração contendo ingredientes de origem animal contaminados (Boyer Jr. et al. 1958, Clise & Swecker 1965, Novilla et al. 1974, Mac Kenzie & Baums 1976, Hacking et al. 1978, Linton et al. 1985). As salmonelas ao serem ingeridas, mesmo que seja apenas uma célula bacteriana, podem se multiplicar, ocasionando a enfermidade quando encontram condições predisponentes (Schleifer et al. 1984) ou então, disseminam-se entre as aves (Rao & Negy 1978, Rigby et al. 1980), tornando difícil seu controle, sobretudo porque roedores, pássaros, insetos e mesmo os funcionários da granja são contaminados, favorecendo a propagação e a permanência da bactéria no ambiente (Brown & Parker 1957, Goyal & Singh 1970, Singh et al. 1980, Barbour & Nabbut 1982).

Isto posto, delineou-se o presente trabalho para pesquisa a nível de granja comercial de organismos do gênero *Salmonella* em frangos de corte, contribuindo assim, para o estabelecimento progressivo de programas de controle sanitário efetivos e factíveis com os atuais sistemas de exploração avícola.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O estudo foi conduzido durante um ciclo de vida de um lote de 35.000 frangos de corte de uma granja comercial. Dentre as

¹ Aceito para publicação em 15 de fevereiro de 1988.

² Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal - UNESP (FCAVJ-UNESP), Rodovia Carlos Tonanni, Km 5, Jaboticabal, São Paulo 14870.

³ Estagiário do Departamento de Patologia Veterinária da FCAVJ-UNESP.

⁴ Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, Caixa Postal 7027, São Paulo, SP.

⁵ Departamento de Microbiologia da FCAVJ/UNESP.

aves que chegaram à granja, 10 pintinhos foram separados para exame de pulorose, mediante a prova rápida em placa com sangue total, e para pesquisa de *Salmonella* mediante exame bacteriológico de fígado, conteúdo do saco vitelínico e fezes cecais.

Desde a chegada das aves até a safra do lote para o abate, semanalmente, colhiam-se 12 amostras de cama das aves, 5 amostras de ração, 5 amostras de cada ingrediente de ração que havia na granja, os quais eram de lote único (farinha de carne de procedência A, farinha de carne de procedência B, farelo de soja e farelo de milho) e 5 amostras de fezes de ratos. A primeira colheita foi realizada no momento em que as aves chegaram a granja.

Metodologia

O procedimento bacteriológico no exame da ração e seus ingredientes, seguiu o modelo apresentado por Berchieri Jr. et al. (1986). Espécimes de 25 gramas de cada amostra foram semeados em 225ml de solução de Ringer 1/4. Após homogeneização, o conjunto permanecia 6 horas a temperatura ambiente e mais 18 horas a 43°C. Posteriormente, após agitação, 2 alíquotas de 2 ml eram transferidas, uma para um tubo contendo 20 ml de caldo selenito-novobiocina (SN) e a outra para outro tubo contendo 20ml de caldo tetracionato-novobiocina (TN), os quais eram incubados a 43°C por 24 horas a 120 horas. Os caldos denotando crescimento bacteriano eram semeados em ágar verde brilhante e ágar MacConkey com incubação a 37°C por 24 horas. As colônias suspeitas de *Salmonella* eram inoculadas no meio para diagnóstico presuntivo IAL, que era incubado por 24 horas a 37°C. A tipificação das salmonelas isoladas foi realizada pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

Para análise das fezes cecais, conteúdo do saco vitelínico, fígado, fezes de rato e das amostras de cama, o material era semeado nos caldos SN e TN, com incubação a 37°C por período de 24 a 120 horas. As etapas seguintes foram as mesmas descritas anteriormente.

Antibiograma

As cepas de *Salmonella* isoladas, foram submetidas a testes de sensibilidade, conforme técnica descrita por Bauer et al. (1966),

utilizando-se discos impregnados com os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (30 mcg), amicacina (30 mcg), ampicilina (10 mcg), carbecilina (100 mcg), cefoxitina (100 mcg), cefalotina (30 mcg), cloranfenicol (30 mcg), cotrimazina (25 mcg), canamicina (30 mcg), gentamicina (10 mcg), lincospectin (50/100 mcg), neomicina (30 mcg), nitrofurantofina (300 mcg) e tetraciclina (30 mcg).

RESULTADOS

Foram detectadas 22 salmonelas, conforme pode ser observado no Quadro 1. Os testes referentes ao exame de pulorose foram negativos.

Os resultados dos testes de sensibilidade estão contidos no Quadro 2.

Quadro 1. *Salmonelas* isoladas na granja conforme o local onde foram detectadas

Material examinado	Salmonelas encontradas
Aves com 1 dia de vida (fígado, gema e cecos)	Ausência de <i>Salmonella</i>
Farelo de milho	Ausência de <i>Salmonella</i>
Farelo de soja	Ausência de <i>Salmonella</i>
Farelo de carne A	Ausência de <i>Salmonella</i>
Farinha de carne B	<i>S. agona</i> , <i>S. alachua dt-a</i> , <i>S. anatum</i> , <i>S. anatum LDC-b</i> , <i>S. bredeney</i> , <i>S. cerro</i> , <i>S. grumpensis</i> , <i>S. havana</i> , <i>S. lexington</i> , <i>S. lille</i> , <i>S. livingstone</i> , <i>S. mbandaka</i> , <i>S. montevidéo</i> , <i>S. orion</i> , <i>S. senftenberg</i> , <i>S. tennessee</i> , <i>S. I 3</i> , <i>15:Y-</i> , <i>S. I 4</i> , <i>12:d:-</i> e <i>Salmonella</i> sp cepa rugosa
Ração	<i>S. agona</i> , <i>S. anatum LDC-</i> , <i>S. cerro</i> , <i>S. hadar</i> , <i>S. havana</i> , <i>S. heidelberg</i> , <i>S. orion</i> , <i>S. senftenberg</i> , <i>S. I 4</i> , <i>5</i> , <i>12:i:-</i>
Cama das aves	<i>S. agona</i> , <i>S. anatum LDC-</i> , <i>S. cerro</i> , <i>S. hadar</i> , <i>S. havana</i> , <i>S. heidelberg</i> , <i>S. orion</i> , <i>S. senftenberg</i> , <i>S. I 4</i> , <i>5</i> , <i>12:i:-</i>
Fezes de ratos	<i>S. alachua dt-</i> , <i>S. cerro</i> , <i>S. havana</i> , <i>S. lille</i>

^a d-tartarato negativa;

^b lisina descarboxilase negativa.

Quadro 2. Número e percentual de resistência a antimicrobianos apresentados pelas cepas de salmonelas isoladas durante o estudo na granja avícola

Cepas	Antimicrobianos														Total Cepas
	Cotrimazina 25mcg	Ampicilina 10mcg	Lincospectin 50/100mcg	Canamicina 30mcg	Gentamicina 10mcg	Amicacina 30mcg	Cloranfenicol 30mcg	Cefalotina 30mcg	Tetraciclina 50mcg	Carbecilina 100mcg	Cefoxitina 100mcg	Nitrofurantoina 300mcg	Ác. nalidíxico 30mcg	Neomicina 30mcg	
<i>S. agona</i>	0	0	2	3	0	2	0	2	3	4	0	2	4	0	4
<i>S. alachua dt-a</i>	1	1	3	1	0	0	1	3	4	4	1	3	3	2	4
<i>S. anatum</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>S. anatum LAC-b</i>	2	2	4	4	0	1	2	3	6	6	2	3	4	1	6
<i>S. bredeney</i>	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>S. cerro</i>	0	2	2	1	0	1	0	4	5	4	0	3	4	0	6
<i>S. grumpensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	2	2	2	0	1	1	1	2
<i>S. hadar</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>S. havana</i>	0	0	1	1	0	0	2	2	3	3	2	3	2	1	3
<i>S. heidelberg</i>	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1
<i>S. lexington</i>	0	0	2	1	0	2	1	0	1	2	0	2	1	0	2
<i>S. lille</i>	0	0	1	1	1	0	0	0	2	2	0	2	2	0	2
<i>S. livingstone</i>	0	1	0	1	0	0	0	3	3	3	0	2	2	2	3
<i>S. mbandaka</i>	0	0	0	1	1	1	0	2	1	1	0	1	1	1	2
<i>S. montevidéo</i>	0	1	3	4	0	3	1	1	5	5	0	4	4	1	5
<i>S. orion</i>	1	1	1	1	0	1	1	2	2	2	0	2	1	0	2
<i>S. senftenberg</i>	0	0	2	0	0	1	1	1	4	4	0	2	3	1	4
<i>S. tennessee</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1
<i>S. I 4</i> , <i>12:d:-</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1
<i>S. I 4</i> , <i>5</i> , <i>12:i:-</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1
Total (n°)	6	8	23	19	1	13	10	31	48	49	6	34	38	12	52
(%)	11,54	15,38	44,23	36,54	1,92	25,00	19,23	59,61	92,31	94,23	11,54	65,38	73,08	23,09	-

(a) d-tartarato negativa;

(b) lisina descarboxilase negativa.

DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

A constatação de 19 dos sorotipos de *Salmonella* na farinha de carne B permite considerá-la o principal contaminante das aves, através da ração (Boyer Jr. et al. 1958, Clise & Swecker 1965, Kaufman et al. 1968, Novilla et al. 1974, Al-Chalaby et al. 1985, Linton et al. 1985). A ausência de *Salmonella* na farinha de carne A sugere que é possível mantê-la isenta desse microrganismo, tendo-se em vista que eles são destruídos durante a produção da farinha e a recontaminação acontece durante armazenagem ainda na fábrica (Walker & Ellis 1966).

A detecção de *Salmonella* na ração é mais difícil, porque ocorre uma diluição das matérias primas de origem animal. Todavia, uma célula bacteriana apenas, se ingerida pela ave, tem condições de se multiplicar e promover a colonização dos cecos (Schleifer et al. 1984) transformando a ave em um agente de disseminação ou introduzindo o partifo (Jungherr 1940, Trudel 1947, Galton et al. 1955, Grumbles & Flowers 1961, Bueno et al. 1962, Faddow & Fellows 1966, Bains & Mackenzie 1974, Osborne 1976, Sojka et al. 1977, Rao & Negy 1978, Silva & Hipólito 1978, Morgan-Jones 1980).

O isolamento de *Salmonella hadar*, *Salmonella heidelberg* e S.I 4, 5, 12:1:- somente na cama das aves mostra a existência de outras formas de infecção, além da dieta. A associação destes achados com a presença de *Salmonella* em fezes de ratos, colhidas na fábrica de ração anexa à granja, são elementos sugestivos de que as salmonelas introduzidas na granja, qualquer que seja a via, permanecem viáveis e se espalham pelo meio ambiente, indo atingir o plantel avícola (Higgins et al. 1982).

As recentes evidências experimentais associadas às publicações de Giorgi et al. (1971), Silva et al. (1973), Miranda et al. (1978), Girão et al. (1983), Prestes et al. (1983), Berchieri Jr. et al. (1983, 1984, 1986), assinalando a presença de *Salmonella* em farinha de origem animal em níveis que variam de 5 a 96,67%, caracterizam esses ingredientes da ração animal como uma das vias introdutoras de *Salmonella* em granjas avícolas, promovendo assim, a formação de uma cadeia, que através do abatedouro (Ávila et al. 1974, Cunha Netto et al. 1983, Berchieri Jr. et al. 1987) transforma as aves nas principais responsáveis por tóxico-infecções alimentares, devido *Salmonella*, em saúde pública (Clark et al. 1973, Cohen & Blake 1977, Kirby 1985).

No Quadro 2 estão contidos os resultados dos antibiogramas, evidenciando-se uma realidade que é fruto do uso indiscriminado de antibacterianos em ração animal, seja para fins preventivos ou como promotores de crescimento. Produtos como tetraciclina, nitrofuranos e ácido nalidíxico são "aditivos" usuais de ração para aves. Linco-spectin, neomicina, ampicilina, cloranfenicol e canamicina são frequentemente empregados como medicamentos na prevenção de diferentes processos infecciosos. Estes resultados em conjunto com aqueles relatados por Berchieri Jr. et al. (1985, 1987), mais do que indicadores de qual antibacteriano seja o mais eficiente, são evidên-

cias claras do efeito pernicioso do uso indiscriminado de antibacterianos em avicultura industrial.

Os resultados também demonstraram que as medidas adotadas atualmente são ineficientes para impedir a disseminação das salmoneloses e que o emprego de "aditivos" como recurso preventivo parece em nada auxiliar o controle das salmonelas. Por outro lado, deixam entrever a necessidade de um programa preventivo consistente, no qual as medidas gerais efetivadas a nível de granja, deveriam ser complementadas por outras direcionadas às fontes de infecção, como as matérias primas de origem animal que compõem a ração, ainda durante o seu armazenamento na fábrica de farinhas.

REFERÊNCIAS

- Al-Chalaby Z.A.M., Hinton M.H. & Linton A.H. 1985. Failure of drinking water sanitation to reduce the incidence of natural *Salmonella* in broiler chickens. *Vet. Rec.* 116:364-365.
- Ávila F.A., Ferreira M.D. & Silva E.N. 1974. *Salmonella* em carcaças de aves manipuladas nos abatedouros de Belo Horizonte. *Arqs Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, 26:211-214.
- Bains B.S. & Mackenzie M.A. 1974. Transmission of *Salmonella* through an integrated poultry organization. *Poultry Sci.* 53:1114-1118.
- Barbour E.K. & Nabbut N.H. 1972. Isolation of *Salmonella* and some other some potential pathogens from two chicken breeding farms in Saudi Arabia. *Avian Dis.* 26:234-244.
- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C. & Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
- Berchieri Jr. A., Ávila F.A., Paulillo A.C., Schocken-Iturrino R.P., Marques M.A.S. & Matsuda H.J. 1983. Pesquisa de salmonelas em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de rações. *Científica, Botucatu*, 11:165-168.
- Berchieri Jr. A., Irino K., Neme S.N., Paulillo A.C., Calzada C.T., Ferreira S.A. & Pessôa G.V.A. 1984. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de ração. *Pesq. Vet. Bras.* 4:83-88.
- Berchieri Jr. A., Irino K., Paulillo A.C., Neme S.N., Fernandes S.A., Kronka S.N. & Pessôa G.V.A. 1986. Pré-enriquecimento direto na pesquisa de *Salmonella* em farinha de carne. *Pesq. Vet. Bras.* 6:93-97.
- Berchieri Jr. A., Paulillo A.C., Fernandes S.A., Irino K. & Pessôa G.V.A. 1985. Sensibilidade a antimicrobianos por *Salmonella* isoladas de farinha de origem animal utilizadas no preparo de rações. *Revta Microbiol., S. Paulo*, 16:56-60.
- Berchieri Jr.A., Rossi Jr. O.D., Paulillo A.C., Irino K., Fernandes S.A., Ávila F.A. & Pessôa G.V.A. 1987. *Salmonella* em um abatedouro avícola. *Ars Vet.* 3:81-87.
- Boyer Jr. C.I., Brauner D.W. & Brown J.A. 1958. *Salmonella* organism isolated from poultry feed. *Avian Dis.* 2:396-401.
- Brown C.M. & Packer T.M. 1957. *Salmonella* infections in rodents in Manchester. *Lancet* 21:1277-1279.
- Bueno R.C., Baquer S.R. & Nakano M. 1962. Doenças de aves em São Paulo. *Arqs Inst. Biol., S.Paulo*, 29:231-270.
- Clarck C.M., Kaufmann A.F., Gangarosa E.J. & Thompson M.A. 1973. Epidemiology of an international outbreak of *Salmonella agona*. *Lancet* 2(7828):490-493.
- Clise J.D. & Swecker E.E. 1965. *Salmonella* from animal byproducts. *Publ. Hlth Rep.* 80:899-905.
- Cohen M.L. & Blake P.A. 1977. Trends in foodborne salmonellosis outbreaks: 1963-1975. *J. Food Protection* 40:798-800.
- Cunha Netto S.J., Brant P.C. & Pessôa G.V.A. 1982. Sorotipos de *Salmonella* isolados de concentrado, cama e carcaças de frangos de corte em duas granjas em Goiânia-GO 1974. *Arqs Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, 34:337-344.
- Faddoul G.P. & Fellows G.W. 1966. A five Year survey of the evidence of salmonellae in avian species. *Avian Dis.* 10:296-304.

- Galton M.M., Mackel D.C., Lewis R.L., Haire W.C. & Hardy A.V. 1955. Salmonellosis in poultry and poultry processing plant in Florida. *Am. J. Vet. Res.* 16:132-137.
- Giorgi W., Ohashi K. & Araujo W.P. 1971. Farinha de carne e farinha de peixe como fontes de salmonelas para animais. *Arqs Inst. Biol.*, S. Paulo, 38:59-62.
- Girão F.G.F., Oliveira R.L., Ferreira H.B.C. & Nogueira R.H.G. 1983. Isolamento de *Sabmonella* a partir de amostras de matérias primas e rações e de materiais provenientes de aves, p. 469-476. In: *Anais 8º Congr. Bras. Avicultura*, Camboriú, Santa Catarina.
- Goyal S.M. & Singh T.P. 1970. Probable sources of salmonellae on a poultry farm. *Brit. Vet. J.* 126:180-184.
- Grumbles L.C. & Flowers A. I. 1961. Epidemiology of paratyphoid infections in turkeys. Species encountered and possible sources of infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238:261-262.
- Hacking W.C., Mitchell W.R. & Carlson H.C. 1978. Sources of salmonellae in broiler chickens in Ontario. *Can. J. Comp. Med.* 42:400-406.
- Higgins R., Malo R., René-Roberge & Gauthier R. 1982. Studies on the dissemination of *Sabmonella* in nine broiler-chicken flocks. *Avian Dis.* 26:26-33.
- Jungherr E. 1940. Paratyphoid infections in birds. *Vet. Med.* 35:112-116.
- Kaufmann A.F. & Feeley J.C. 1968. Culture survey of *Sabmonella* at a broiler raising plant. *Publ. Hlth Rep.* 84:417-422.
- Kirby F.D. 1985. Surveillance of animal *Sabmonella* infection 1976-1984. *Vet. Rec.* 117:456-457.
- Linton A.H., Al-Chalaby Z.A.M. & Hinton M.H. 1985. Natural subclinical *Sabmonella* infection in chickens: A potential model for testing the effects of various procedures on *Sabmonella* shedding. *Vet. Rec.* 116:361-364.
- Mackenzie M.A. & Bains B.S. 1976. Dissemination of *Sabmonella* serotypes from raw feed ingredients to chickens carcasses. *Poultry Sci.* 55:957-960.
- Miranda J.B.N., Pessôa G.V.A., Irino K. & Calzada C.T. 1978. Ocorrência de *Sabmonella* em farinhas utilizadas como matérias-primas na composição de rações animais. *Revta Inst. Adolfo Lutz*, S. Paulo, 32:157-160.
- Morgan-Jones S.C. 1980. The occurrence of salmonellae during the rearing of broiler birds. *Brit. Poultry Sci.* 21:463-470.
- Novilla M.N., Meñez C.F. & Eustáquio A.O. 1974. Studies salmonellosis animals and man in the Philippines. *Philippines J. Vet. Med.* 13:33-42.
- Osborne A.D. 1976. *Sabmonella* infection in animals and birds. *Royal Soc. Hlth J.* 96:30-33.
- Prestes A.A., Silva E.N., Ito N.M.K., Jorge M. & Hipólito O. 1983. Salmonelas em matérias primas de origem animal destinadas a fabricação de rações, p. 440-446. In: *Anais 8º Congr. Bras. Avicultura*, Camboriú, Santa Catarina.
- Rao V.D.P. & Negy S.K. 1978. *Sabmonella* serotypes in poultry and their public health significance. *Indian J. Am. Hlth* 17:43-46.
- Rigby C.E., Pettit J.R., Baker M.F., Bentley A.H., Salomons M.O. & Lior H. 1980. Flock infection and transport as sources of salmonellae in chickens and carcasses. *Can. J. Comp. Med.* 44:328-337.
- Schleifer J.H., Juvén B.J., Beard C.W. & Cox N.A. 1984. The susceptibility of chicks to *Sabmonella montevideo* in artificially contaminated poultry feed. *Avian Dis.* 28:497-503.
- Silva E.N. & Hipólito O. 1978. Ocorrência de sorotipos de salmonelas em galinhas, p. 338-391. In: *Anais 16º Congr. Mundial de Avicultura*, Rio de Janeiro.
- Silva E.N., Reis R., Oliveira R.L. & Ávila F.A. 1973. Salmonelas em farinhas de origem animal destinadas à fabricação de rações. *Arqs Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, 25:169-173.
- Singh S.P., Sethi M.S. & Sharma V.D. 1980. The occurrence of salmonellae in rodent, shrew, cockroach and ant. *Int. J. Zoon.* 7:58-61.
- Sojka W.J., Wray C. & Shreeve J. 1977. Incidence of *Sabmonella* infection in animal in England and Wales, 1968-1974. *J. Hyg.* 78:43-56.
- Trudel F. 1947. A note on a *Sabmonella montevideo* infection in chicks. *Can. J. Comp. Med.* 11:245-246.
- Walker J.W. & Ellis E.M. 1966. *Sabmonella* reservoirs in animals and feeds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 149:1080-1082.

MENINGOENCEFALITE E NECROSE DO CÓRTEX CEREBRAL EM BOVINOS CAUSADAS POR HERPES VÍRUS BOVINO-1¹

FRANKLIN RIET-CORREA^{2,3}, TELMO VIDOR^{2,3}, ANA LUCIA SCHILD^{2,3} e MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ^{2,3}

ABSTRACT. - Riet-Correa F., Vidor T., Schild A.L. & Méndez M.C. 1989. [**Meningoencephalitis and necrosis of the cerebral cortex in cattle caused by Herpes Virus Bovine-1.**] Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causadas por Herpes Vírus Bovino-1. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):13-16. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., UFPel, Campus Universitário, Pelotas, RS 96100, Brazil.

The nervous form of the Herpes Virus Bovine-1 infection is described in calves from 2 farms in the State of Rio Grande do Sul, southern Brazil. Clinical signs were characterized by anorexia, depression, mild nasal and ocular discharge and occasionally excitation episodes with muscular tremors, nystagmus and circling. At necropsies, pericarditis, enlarged livers, pneumonia and erosions of the rumen and abomasum were observed in some animals. Histological lesions of the nervous system were characterized by non purulent meningoencephalitis and necrosis of the cerebral cortex. Inclusion bodies in the astrocytes were observed in only one calf. The diagnosis was confirmed by direct immunofluorescence and identification of the virus in cell cultures.

INDEX TERMS: Herpes Virus Bovine-1, meningoencephalitis, necrosis of the cerebral cortex, calves.

SINOPSE. - Descreve-se a ocorrência, em 2 estabelecimentos no Rio Grande do Sul, da forma nervosa da infecção por HVB-1 em terneiros lactentes. Os sinais clínicos se caracterizaram por anorexia, discreto corrimento ocular e nasal e depressão profunda com períodos de excitação, nos quais se observavam tremores musculares, nistagmo, marcha em círculos e opistótono. Em alguns dos animais necropsiados, foram observados pericardite, hepatomegalia, pneumonia e erosões do rúmen e abomaso. As lesões histológicas do sistema nervoso central foram caracterizadas por meningoencefalite não purulenta e necrose do córtex cerebral. Em um caso foram observados corpúsculos de inclusão intranucleares nos astrócitos. O vírus foi identificado através da imunofluorescência direta e isolamento em cultivos primários de pulmão de feto bovino.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Herpes Vírus Bovino-1, meningoencefalite, necrose do córtex cerebral, bezerras.

INTRODUÇÃO

As infecções por Herpes Vírus Bovino-1 (HVB-1) causam, em bovinos, doenças clinicamente diferentes, evidenciadas por vulvovaginite, balanopostite, rinotraqueíte, abortos, ceratoconjuntivite, enterite e septicemia (Gibbs & Rewyemamu 1977).

No Brasil o HVB-1 foi isolado de um rim de feto bovino (Mueller et al. 1978) e de bovinos com vulvovaginite (Alice 1978, Mueller et al. 1979, Nogueira et al. 1986) e abortos (Nogueira et al. 1986).

A forma nervosa da enfermidade tem sido descrita em diversos países incluindo Austrália (Johnston et al. 1962, Gardiner & Nairn 1964, Hill et al. 1984), Estados Unidos (Barenfus 1963, Eugster et al. 1974), Canadá (Beck 1975, Gough & James 1975), Escócia (Watt et al. 1981), Hungria (Bartha et al. 1969), Síria (Bagdadi & Martin 1974), Argentina (Carrillo et al. 1983a, b) e Uruguai (Dias et al. 1982).

O objetivo deste trabalho é descrever a ocorrência de meningoencefalite e necrose do córtex cerebral causadas pelo HVB-1, em bezerras do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

O dados epidemiológicos e clínicos foram observados nos locais dos surtos. No estabelecimento 1 foram necropsiados 3 animais; 1 morto espontaneamente e 2 sacrificados quando estavam em estado agônico. No estabelecimento 2 foi sacrificado e necropsiado o único animal afetado.

Para o estudo histológico, órgãos das cavidades abdominal e torácica e sistema nervoso central foram fixados em formol a 10%, processados em parafina, cortados em seções de 6 micra e corados pela técnica hematoxilina-eosina. No sistema nervoso central foram realizados cortes representativos das seguintes áreas: córtex cerebral, cápsula interna, tálamo, tubérculo quadrigêmeo anterior, cerebelo, ponte, medula oblonga e medula cervical, dorsal e lombar.

No estabelecimento 1 foram coletados materiais do cérebro dos dois animais sacrificados, identificando-se o vírus através da técnica de imunofluorescência direta. O material foi inoculado em cultivos primários de pulmão de feto bovino realizando-se o teste de soroneutralização com soro hiperimune preparado com a amostra Los Angeles de HVB-1.

¹ Aceito para publicação em 29 de março de 1988.

² Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, Rio Grande do Sul, 96100 Pelotas, Rio Grande do Sul.

³ Bolsista do CNPq.

RESULTADOS

Estabelecimento 1

Epidemiologia e sinais clínicos. O surto ocorreu no mês de novembro de 1978 em um rebanho de gado Holandês no município de Rio Grande, localidade de Santa Isabel, em um grupo de 40 bezerros de aproximadamente 1 mês de idade, que permaneciam com as mães durante o dia após a ordenha, e eram separados à noite. Foram afetados 12 bezerros, dos quais morreram 9 e sobreviveram 3.

Os sinais clínicos caracterizaram-se por anorexia, corrimento ocular e nasal, depressão profunda, com períodos de excitação, durante os quais se observavam tremores, nistagmo, marcha para trás ou em círculos e opistótono; em algumas oportunidades os animais caíam em decúbito lateral apresentando movimentos de pedalagem. Finalmente permaneciam em decúbito e morriam após um curso clínico de 4 a 7 dias. Dos três animais que sobreviveram, 2 permaneceram com dificuldade para beber leite por algum tempo, pelo que tiveram que ser alimentados artificialmente.

Patologia. Dos 3 animais necropsiados, 2 (n^{os} 1 e 2) apresentaram pneumonia nas porções inferiores do pulmão e exsudato purulento nos brônquios; um (n^o 1) apresentou exsudato fibrino-purulento no pericárdio e 2 (n^{os} 2 e 3) apresentaram no rúmen e abomaso áreas de depressão cobertas por exsudato.

Na histologia as lesões mais importantes localizaram-se no sistema nervoso central, sendo similares nos 3 animais e caracterizando-se por meningoencefalite e necrose do córtex cerebral. A encefalite evidenciava-se por acúmulo perivascular de linfócitos, macrófagos e plasmócitos e, em algumas ocasiões, neutrófilos. Também se observava gliose marcada. Nas áreas afetadas os neurônios apareciam com cromatólise central ou contraídos, com o citoplasma eosinofílico e o núcleo hiper cromático. As le-



Fig. 1. Acúmulos perivasculars linfocitários nos tubérculos quadrigêmeos de um bezerro do estabelecimento 1. HE, obj. 4.

sões inflamatórias eram observadas tanto na substância branca como na cinzenta, sendo mais marcadas no córtex cerebral onde os acúmulos perivasculars eram mais densos, formados até por 6 camadas de células. Na cápsula interna, tálamo e tubérculos quadrigêmeos (Fig. 1) as lesões eram menos marcadas que no córtex; no cerebelo, pedúnculos cerebelares, ponte e medula oblonga, as alterações inflamatórias eram discretas. Todos os bezerros apresentavam áreas de necrose do córtex cerebral evidenciadas pela presença de macrófagos (células de Gitter), sendo que em algumas áreas a substância cinzenta estava totalmente substituída por esse tipo de células, permanecendo entre elas somente vasos sanguíneos com denso acúmulo perivascular de células inflamatórias (Fig. 2). Também se observava infiltração das meninges por células inflamatórias, que era mais severa nas áreas onde ocorriam lesões de necrose do córtex.

Nos pulmões dos animais n^{os} 1 e 2 observava-se pneumonia intersticial com edema e congestão do septo interlobular; algumas áreas apresentavam broncopneumonia com acúmulo de células inflamatórias e algumas colônias bacterianas nos bronquíolos. As lesões do rúmen dos bezerros n^{os} 2 e 3 apresentavam, na periferia, degeneração hidrópica das células superficiais do extrato espinhoso, em outras áreas observava-se infiltração leucocitária entre as células e perda das camadas superficiais; no centro da lesão somente permaneceram algumas células das camadas basais cobertas por uma crosta de fibrina, neutrófilos e restos celulares. Também se observava acantose e infiltração da submucosa por neutrófilos e células mononucleares. As lesões do abomaso caracterizaram-se por desprendimento das células epiteliais das criptas, assim como congestão, edema e infiltração de células mononucleares e alguns neutrófilos na lâmina própria. Não foram encontrados corpúsculos de inclusão em nenhum dos órgãos estudados.

Deteção do vírus. No teste de imunofluorescência foi

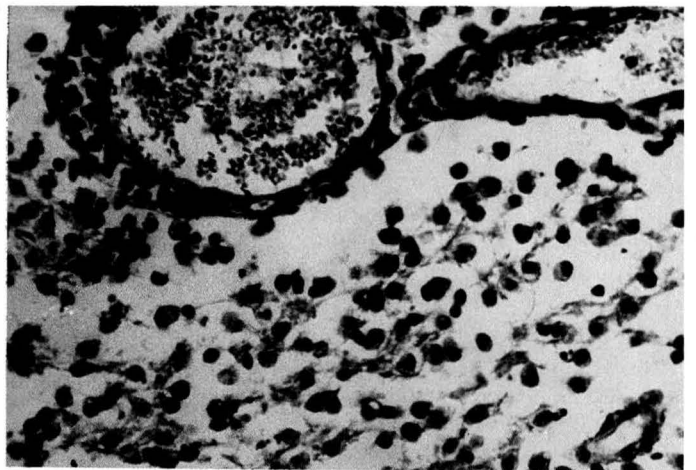


Fig. 2. Lesões de malácia no córtex cerebral de um bezerro do estabelecimento 1. As células de Gitter substituíram totalmente a substância cinzenta; observa-se um vaso sanguíneo com infiltrado linfocitário perivascular. HE, obj. 20.

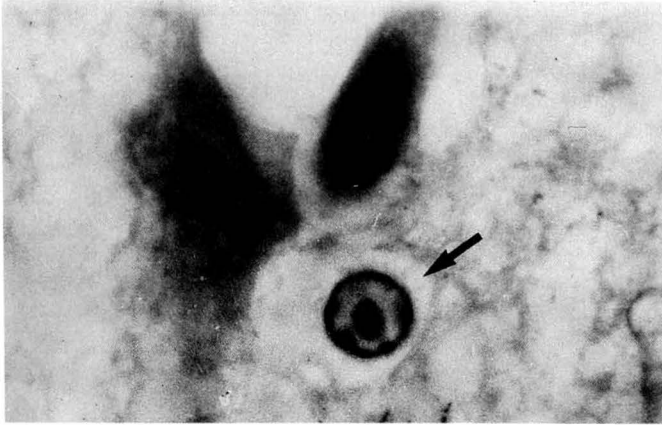


Fig. 3. *Córtex cerebral do bezerro necropsiado no estabelecimento 2, observando-se corpúsculo de inclusão intranuclear em um astrócito (a seta aponta o núcleo). HE, obj. 100.*

observada intensa fluorescência em células do sistema nervoso central caracterizando a infecção pelo HVB-1, uma vez que o conjugado é específico para esse vírus. Nos cultivos primários de pulmão de feto bovino apresentou-se efeito citopático característico do HVB-1, havendo a neutralização do vírus com o soro hiperimune específico no teste de soroneutralização.

Estabelecimento 2

Neste estabelecimento a doença foi observada no mês de novembro de 1983 em um bezerro de 12 dias de idade da raça Holandesa, que durante 2 dias apresentou incoordenação, movimentos de torção e quedas. No 3º dia o animal apresentava depressão profunda, sendo sacrificado. Na necropsia não foram observadas alterações de relevância.

No estudo histológico foram observadas lesões inflamatórias do encéfalo e das meninges de aspecto e distribuição similares às descritas nos animais do estabelecimento 1. Também foram observadas alterações degenerativas do córtex cerebral localizadas nas camadas médias e profundas da substância cinzenta onde os neurônios apareciam contraídos, com o citoplasma eosinofílico e o núcleo hiper cromático, havendo dilatação dos espaços perineuronais e perivascularares. Nessas áreas, tanto na substância cinzenta como na branca, os vasos sanguíneos apresentavam marcado acúmulo perivascular e proliferação endotelial com hemorragias em algumas áreas. A gliose era marcada e também se observavam neutrófilos em quantidade considerável. Numerosos astrócitos apresentavam corpúsculos de inclusão intranucleares, basofílicos, com um halo claro ao seu redor e a cromatina condensada na periferia (Fig. 3).

DISCUSSÃO

A identificação do HVB-1 no cérebro de bezerras com encefalite no estabelecimento 1 confirma o diagnóstico da infecção por este vírus. No estabelecimento 2, apesar de

não terem sido inoculados cultivos celulares, nem ter sido realizado o teste de imunofluorescência direta, o diagnóstico foi confirmado pelas lesões histológicas características, com a presença de corpúsculos de inclusão intranucleares.

Uma característica das infecções do sistema nervoso central pelo HVB-1 é a de causar meningoencefalite não supurativa, associada a lesões necróticas do córtex cerebral (Hall et al. 1966, Eugster et al. 1974, Carrillo et al. 1983a, b, Dias et al. 1982, Hill et al. 1984), similares às observadas neste trabalho.

Com relação à distribuição das lesões inflamatórias no sistema nervoso, elas afetam tanto a substância branca como a substância cinzenta, sendo mais marcadas no telencéfalo, principalmente no córtex cerebral, diminuindo de intensidade no diencéfalo e mesencéfalo e sendo discretas no proencéfalo. Esta distribuição é similar a observada por Gardiner et al. (1964) e Eugster et al. (1974). No entanto, em um surto no Canadá, em novilhas que apresentavam ataxia e paralisia flácida do trem posterior, é mencionado que as lesões foram encontradas preferentemente na medula e pedúnculos cerebelares (Beck 1975). Outros autores não mencionam uma distribuição exata, mas descrevem também lesões inflamatórias em diversas áreas do encéfalo (Barenfus 1963, Hall et al. 1966, Watt et al. 1981, Carrillo 1983a, b, Hill et al. 1984).

Nos casos estudados neste trabalho somente foram encontrados corpúsculos de inclusão no animal necropsiado no estabelecimento 2, devido, provavelmente, ao curso clínico mais rápido da doença, o que foi evidenciado pela ausência de células Gitter nas lesões degenerativas do córtex. Nos animais do estabelecimento 1 o curso foi mais prolongado, não sendo observados corpúsculos de inclusão e aparecendo numerosas células de Gitter no córtex cerebral. Nos surtos mencionados em outros países, a presença de corpúsculos de inclusão também é variável; Crandell et al. (1959), em reproduções experimentais da forma respiratória da doença observaram corpúsculos de inclusão somente em animais sacrificados entre 36 e 60 horas após a inoculação do HVB-1.

Nos animais do estabelecimento 1, foram observadas lesões em outros órgãos, incluindo lesões erosivas no rúmen e abomaso. Este tipo de lesão é descrito por Reed et al. (1973) na forma sistêmica da enfermidade, o que evidencia, que, pelo menos nesse estabelecimento, o vírus causou uma infecção sistêmica, com severo envolvimento do sistema nervoso central. Formas nervosas com comprometimento do sistema digestivo e/ou respiratório são também mencionadas por diversos autores (Bagdadi & Martin 1974, Eugster et al. 1974, Dias et al. 1982, Watt et al. 1981).

Apesar de não ter sido realizada experimentalmente a inoculação de bovinos para determinar a patogenicidade do vírus nestes surtos, deve destacar-se que em algumas ocasiões o HVB-1 isolado de animais com sintomatologia nervosa tem evidenciado um tropismo especial pelo sistema nervoso central (Hall et al. 1966), tendo sido de-

monstrado que alguns isolamentos pertencem a uma variável antigênica diferente denominada HVB-1 tipo 3 (Schudel et al. 1986).

Deve ser destacado que os dois surtos ocorreram em diferentes anos em estabelecimentos localizados no distrito de Santa Isabel, município de Rio Grande, sem que existissem antecedentes de introdução recente de animais. Nessa mesma região foram também diagnosticados 2 surtos de rinotraqueíte causada pelo HVB-1 em animais de diversas categorias durante o mês de janeiro de 1987 (Riet-Correa et al. 1987, dados não publicados). Esses fatos pareceriam indicar que nessa área existem infecções latentes pelo HVB-1 na população bovina, ocorrendo surtos em forma esporádica. Em outras áreas do Estado, apesar de não ter sido comunicada a ocorrência da enfermidade, foram encontrados títulos para o HVB-1 em soros de 33% de 229 bovinos provenientes de 11 municípios (Wizigman et al. 1972).

REFERÊNCIAS

- Alice F.J. 1978. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil (nota prévia). *Revta Brasil. Biol.* 38:919-920.
- Bagdadi V.M. & Martin J. 1974. Ueber das Vorkommen von Meningoencephalitis im Verlaufe von IBR-Infektionen bei Kaelbern und Jungrindern. *Mh. Vet. Med.* 28:253-257.
- Barenfus M., Delli Duadri C.A., McIntre R.W. & Shroeder R.J. 1963. Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 143:725-728.
- Bartha A., Hadju G., Aldassy P. & Paczolay G. 1969. Occurrence of encephalomyelitis caused by infectious bovine rhinotracheitis in calves in Hungary. *Acta. Vet. Acad. Scient. Hung.* 19:145-151.
- Beck B.E. 1975. Infectious bovine rhinotracheitis encephalomyelitis in cattle and its differential diagnosis. *Can. Vet. J.* 16:269-271.
- Carrillo B.J., Pospischil A. & Dahme E. 1983a. Pathology of a bovine viral encephalitis in Argentina. *Zbl. Vet. Med.* B30:161-168.
- Carrillo B.J., Ambrogi A., Schudel A.A., Vasquez M., Dahme E. & Pospischil A. 1983b. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. *Zbl. Vet. Med.* B30:327-332.
- Crandell R.A., Cheatham W.J. & Maurer F.D. 1959. Infectious Bovine rhinotracheitis. The occurrence of intranuclear inclusion bodies in experimentally infected animals. *Am. J. Vet. Res.* 20:505-509.
- Dias L.E., Maisonnave J., Guarino H., Paullier C., Perdomo E., Figares A. & Izaguirre R. 1982. Rinotracheitis infecciosa bovina (IBR). Descripción de un cuadro clínico en terneros de tambo. *Anais III Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguai*, p. 521-527.
- Eugster A.K., Angulo A.B. & Jones L.P. 1974. Herpesvirus encephalitis in range cattle. Abstracts. 17th Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Virginia, p. 267-281.
- Gardiner M.R. & Nairn M.E. 1964. Viral meningoencephalitis of calves in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 40:225-228.
- Gibbs E.P.J. & Rewyemamu M.M. 1977. Bovine Herpesvirus. Part. I. Bovine Herpesvirus-1. *Vet. Bull.* 47:317-343.
- Gough A. & James A. 1975. Isolation of IBR virus from a heifer with meningoencephalitis. *Can. Vet. J.* 16:313-314.
- Hall W.T.K., Simmons G.C., French E.L., Snodwdon W.A. & Asdell M. 1966. The pathogenesis of encephalitis caused by the infectious bovine rhinotracheitis virus. *Aust. Vet. J.* 42:229-237.
- Hill B.D., Hill M.W.M., Chung Y.S. & Whittle R.J. 1984. Meningoencephalitis in calves due to bovine herpesvirus type 1 infection. *Aust. Vet. J.* 61:242-243.
- Johnston L.A.Y., Simmons G.C. & McGavin M.D. 1962. A viral meningoencephalitis in calves. *Aust. Vet. J.* 38:207-215.
- Mueller S.B.K., Ikuno A.A., Campos M.T.G.R. & Ribeiro L.O.C. 1978. Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte bovina infecciosa dos bovinos de um rim de feto bovino. *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 45:187-190.
- Mueller S.B.K., Ikuno A.A., Campos M.T.G.R., Ribeiro, L., Barbosa H.S.Q. & Oliveira B.O.A. 1979. Ocorrência simultânea de alterações respiratórias e genitais associadas à rinotraqueíte bovina infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa IBR/IPV em um rebanho no Estado de São Paulo. *Biológico, S. Paulo*, 45:55-60.
- Nogueira F.R.C., Camargo A.J.R., Resende O.A. & Leite R.C. 1986. Ocorrência de rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. *Comunicado Técnico nº 167, Pesagro-Rio*, p. 1-5.
- Reed D.E., Bitkell E.D. & Bury R.J. 1973. Systemic form of infectious bovine rhinotracheitis in young calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 156:753-755.
- Schudel A.A., Carrillo B.J., Wyler R., Metzler A.E. 1986. Infections of calves with antigenic variants of Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) and neurological disease. *J. Vet. Med.* B33:303-310.
- Watt J.A., Johnston W.S., Macleod N.S. & Borlow R.M. 1981. Infectious bovine rhinotracheitis encephalitis. *Vet. Rec.* 108:63-64.
- Wizigmann G., Vidor T. & Ricci Z.M.T. 1972. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarreia a virus-enfermidade das mucosas dos bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, esp. 1:52-58.

AÇÃO DE GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS EM LARVAS INFESTANTES DO CARRAPATO DOS BOVINOS, *Boophilus microplus*¹

ANTONIO THADEU M. DE BARROS^{2,3} e DAVID ERIC EVANS³

ABSTRACT.- Barros A.T.M. & Evans D.E. 1989. [Effects of some pasture grasses on infestive larvae of the cattle tick *Boophilus microplus*.] Ação de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos, *Boophilus microplus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):17-21. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

The pasture species *Andropogon gayanus*, *Melinis minutiflora* and *Brachiaria brizantha* were studied with respect to their anti-tick properties through repellent and/or lethal mechanisms affecting infestive larvae of *Boophilus microplus* (Can., 1887). After two months cultivation in pots, the grasses were infested with 10-day old larvae under laboratory conditions. Observations of larvae were made at 2, 7 and 15 days after infestation and collections made at 5, 10 and 20 days after infestation. *A. gayanus* did not show any prejudicial affects against the larvae, under these conditions. *M. minutiflora* and *B. brizantha* showed themselves to be potentially highly lethal to larvae. *M. minutiflora* showed itself to be highly repellent to larvae of *B. microplus*. This was considered to reduce its potential as a possible anti-tick pasture as many larvae were caused to avoid its lethal effect. *B. brizantha* did not show this repellency and consequent disadvantage. It is thus considered to warrant further study under experimental and natural conditions to assess its value as a biological tick control agent for possible inclusion in integrated pest management (IPM) schemes for *B. microplus* in the tropics.

INDEX TERMS: *Boophilus microplus*, ant-tick grasses, anti-tick pastures, biological control.

SINOPSE. -As espécies forrageiras *Andropogon gayanus*, *Melinis minutiflora* e *Brachiaria brizantha* foram estudadas em relação a suas propriedades "anti-carrapato" através de mecanismos de repelência e/ou letalidade afetando larvas infestantes de *Boophilus microplus* (Can., 1887).

Após dois meses do cultivo em vasos, as gramíneas foram infestadas com larvas de 10 dias de idade, em condições de laboratório. Foram realizadas observações das larvas aos 2, 7 e 15 dias-pós-infestação (dpi) e coletas aos 5, 10 e 20 dpi.

A. gayanus não apresentou qualquer efeito prejudicial sobre as larvas, ao contrário, *M. minutiflora* e *B. brizantha* demonstraram ser potencialmente letais às larvas. *M. minutiflora* apresentou também um elevado poder de repelência às larvas de *B. microplus*, sendo esta propriedade considerada prejudicial ao seu potencial "anti-carrapato" em função de muitas larvas evitarem sua ação letal; *B. brizantha* não mostrou ser repelente e conseqüentemente não apresentou esta desvantagem. Desta forma, justificam ser realizados em *B. brizantha* estudos adicionais sob condições naturais e experimentais, a fim de avaliar seu real valor no controle biológico, assim como sua inclusão no manejo integrado de pragas (IPM) nas regiões tropicais.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Boophilus microplus*, gramíneas "anti-carrapato", pastagens "anti-carrapato", controle biológico.

INTRODUÇÃO

Boophilus microplus constitui-se comprovadamente num dos maiores problemas pecuários em termos de sanidade animal nas regiões onde ocorre em função dos danos causados diretamente ou mesmo pela transmissão de hemoparasitos a seus hospedeiros. No Brasil, segundo estimativas do Ministério da Agricultura, os prejuízos causados por este carrapato são em torno de 1 bilhão de dólares e em todo o mundo esta cifra, segundo a FAO, alcançaria 7 bilhões de dólares. Em seu controle, o uso de produtos carrapaticidas tem sido largamente difundido e empregado durante anos e ainda pode ser considerado o principal método de controle dos carrapatos (Drummond 1970), contudo, esta ampla utilização tem gerado a seleção de cepas resistentes, paralelamente a um aumento gradativo de seu custo quando aplicado isoladamente. Assim, a utilização exclusiva dos carrapaticidas é a cada dia menos viável em termos práticos e econômicos, tornando-se necessária a adição de métodos alternativos a serem empregados em sistemas integrados de controle.

Estudos realizados sobre a ação de forrageiras em larvas de carrapatos, demonstraram a existência de repelência e/ou letalidade por parte de algumas espécies de gramíneas (Thompson et al. 1978, Aycardi et al. 1984) e de leguminosas (Sutherst et al. 1982, Norval et al. 1983, Zimmerman et al. 1984). Entretanto, não estão ainda bem esclarecidos os mecanismos pelos quais estas forrageiras

¹ Aceito para publicação em 4 de maio de 1988.

Trabalho em parte realizado durante o curso de pós-graduação (M.Sc.) do primeiro autor na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), com o apoio financeiro do CNPq.

² Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal (CPAP), Embrapa, Caixa Postal 109, Corumbá, Mato Grosso do Sul 79300.

³ Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

exercem tais propriedades e, conseqüentemente, seu potencial efetivo como opção a ser considerada no controle integrado do carrapato.

O presente trabalho objetiva contribuir para uma melhor compreensão e avaliação da ação "anti-carrapato" de três espécies de gramíneas forrageiras em larvas infestantes de *B. microplus*. A ausência de características evidentes em *Andropogon gayanus* que justifiquem a ação "anti-carrapato" descrita por Thompson et al. (1978) levou ao estudo desta espécie. Quanto a *Melinis minutiflora*, com propriedades físico-químicas já bem documentadas na literatura, foi utilizado como parâmetro de comparação em termos de repelência e letalidade; *Brachiaria brizantha* em função de suas características morfo-fisiológicas e zootécnicas, além de apresentar uma ação contra a cigarrinha-das-pastagens embora não haja citação contra carrapatos, pareceu ser uma espécie promissora para investigar-se.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas três espécies de gramíneas forrageiras: *Andropogon gayanus* Kunth. cv. Planaltina (capim-andropogon), *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu (capim-marandu) e *Melinis minutiflora* Beauv. (capim-gordura) em relação ao seu potencial de ação sobre larvas de *Boophilus microplus* (Can., 1887).

O experimento foi realizado durante o verão, na Estação Experimental "Oswaldo Carlos de Almeida", pertencente à Área de Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Itaguaí, Rio de Janeiro. As gramíneas foram cultivadas em vasos plásticos contendo cerca de 2,5 kg de solo autoclavado e adubado adequadamente. Cada espécie foi cultivada em 12 vasos, dos quais foram escolhidos os seis mais homogêneos e (que parecem estar) em melhores condições; cada vaso possuía cinco plantas com aproximadamente dois meses de idade, podadas no dia anterior ao do início do experimento.

Para infestação das forrageiras, as bordas dos vasos foram circundadas com fita adesiva e utilizaram-se larvas com 10 dias de idade, provenientes de telóginas colhidas na UFRRJ e mantidas anteriormente em estufa incubadora para B.O.D. a 27°C \cong 80% U.R. com \cong 14 h de fotofase. Foram depositadas no solo, próximo às bases das plantas, grupos de 100 larvas por vaso e, após

a infestação, as forrageiras foram mantidas em condições de laboratório, com 13 h de fotofase e temperatura e umidade relativa do ar médias de 29,8°C (25,0-34,0°C) e 77,7% (71,0-85,0%), respectivamente.

Como controle foram utilizados seis vasos contendo cinco hastes de madeira (\cong 0,3 cm de diâmetro e 25 cm de comprimento) cada vaso. Procedida a infestação, foram realizadas três observações aos 2, 7 e 15 dias pós-infestação (dpi) e três coletas, aos 5, 10 e 20 dpi. As observações foram feitas em todos os vasos de cada espécie e procurou-se avaliar entre outros, aspectos como exemplo o grau de atividade das larvas (após estimulação com sopro), sua localização e altura atingida na planta. A cada dia de coleta, dois vasos eram separados aleatoriamente e as plantas, cortadas rentes ao solo; nas partes aéreas era realizada a contagem das larvas segundo as categorias: Larvas Vivas Livres (LVL), Larvas Mortas Livres (LML) e Larvas Mortas Presas (LMP), assim como sua localização nas plantas além de contagem de larvas presas nas fitas adesivas.

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através da análise de variância e pela comparação de médias segundo o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, após a transformação dos dados em arco seno $\sqrt{\%}$.

RESULTADOS

Observações

Atividade. Todas as larvas encontradas em *Andropogon gayanus* e no controle apresentaram-se ativas nos 3 dias de observações (Quadro 1). De forma oposta, a totalidade das larvas em *Melinis minutiflora* e a maioria (86,77%) presente em *Brachiaria brizantha*, mostraram-se inativas quando estimuladas.⁴

Localização na planta. A localização das larvas nas plantas (Quadro 1), apresentou uma correlação direta com o mecanismo de ação peculiar a cada espécie. Em *A. gayanus*, em função da facilidade encontrada pelas larvas para subir nas plantas, 72,23% destas localizaram-se na lâmina das folhas, geralmente nos ápices. Já em *B. brizantha*, devido a presença de uma grande quantidade de

⁴ Os percentuais são sempre a média das três observações (dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$).

Quadro 1. Distribuição percentual média de larvas em três espécies de gramíneas, em relação a alguns parâmetros de observação com 2, 7 e 15 dias pós-infestação (dpi). (Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$)

Espécie	dpi	Atividade		Localização na planta			Agregação		Liberdade		Altura atingida		
		Inativas	Ativas	Bainha da folha	Lâmina da folha	Estruturas secas	Agrupadas	Dispersas	Presas	Livres	1/3 inicial	1/3 médio	1/3 final
Controle	2	0	90,00	-	-	-	67,05	21,23	0	90,00	27,72	5,81	68,77
	7	0	90,00	-	-	-	86,26	3,74	0	90,00	0	0	90,00
	15	0	90,00	-	-	-	90,00	0	0	90,00	0	0	90,00
<i>A. gayanus</i>	2	0	90,00	18,17	71,83	0	74,21	15,79	0	90,00	4,38	12,44	76,09
	7	0	90,00	17,50	72,50	0	63,47	26,53	0	90,00	0	14,32	75,68
	15	0	90,00	17,63	73,37	0	0	90,00	0	90,00	0	17,63	72,37
<i>B. brizantha</i>	2	83,20	6,80	81,15	8,85	0	0	90,00	83,20	6,80	45,55	38,05	10,24
	7	87,12	2,88	81,70	4,19	4,11	0	90,00	82,92	7,08	63,88	24,64	4,19
	15	90,00	0	66,41	17,78	14,87	0	90,00	81,95	8,05	65,91	11,54	17,78
<i>M. minutiflora</i>	2	90,00	0	49,61	0	40,39	0	90,00	90,00	0	72,11	17,89	0
	7	90,00	0	60,00	0	30,00	0	90,00	90,00	0	75,00	15,00	0
	15	90,00	0	45,00	0	45,00	0	90,00	90,00	0	90,00	0	0

pilosidades glandulares na bainha das folhas, 76,39% das larvas ficaram retidas nestas estruturas.

De maneira diferente, em *M. minutiflora*, 38,46% das larvas foram encontradas nos talos e folhas secas, possivelmente tentando evitar as secreções existentes nas partes verdes e 51,54% não conseguiram escapar às pilosidades glandulares abundantes na bainha das folhas, permanecendo presas a estas.

Agregação. A maioria (68,48%) das larvas observadas em *A. gayanus* nos 2º e 7º dpi apresentou-se agregada; o fato de na última observação (15º dpi) as larvas estarem dispersas, ocorreu em função do baixo número de larvas recuperadas nas plantas e não se deve levar em conta este percentual por não expressar a tendência das larvas na espécie.

Nas espécies *B. brizantha* e *M. minutiflora*, as larvas ficavam retidas ou dispersas em diferentes locais, não se observando qualquer agrupamento destas. No controle, a maior parte (81,10%) apresentou-se agregada na extremidade das hastes de madeira.

Liberdade. Tanto em *A. gayanus* como no controle, as larvas apresentaram-se livres, enquanto que a maioria absoluta das larvas presentes em *B. brizantha* e *M. minutiflora* mostraram-se presas, aderidas às pilosidades e/ou secreções, num total de 82,69% e 90,00% respectivamente (Quadro 1).

Altura atingida. A altura atingida pelas larvas refletiu diretamente o grau de dificuldade encontrado por estas durante sua subida na tentativa de uma localização adequada na planta (Quadro 1). Assim, altos percentuais de larvas foram verificados no terço final de *A. gayanus* e do controle (74,71% e 82,92%, respectivamente), em função da facilidade encontrada ao subir nestes substratos.

Em *B. brizantha* apenas 10,74% alcançaram o terço final, enquanto 58,45% e 24,74% ficaram retidas no terço inicial e médio, respectivamente.

De forma semelhante, porém mais acentuada, em *M. minutiflora* um alto percentual de larvas foi observado no terço inicial e médio (79,04% e 10,96%, respectivamente), sendo que nenhuma larva atingiu o terço final.

Coletas

Repelência. Em relação ao grau de repelência das espécies, este foi avaliado a partir do número de larvas recuperadas fora das plantas (LRFP), ou seja, na fita adesiva e no vaso. O percentual médio de LRFP foi significativamente ($p > 0,05$) superior em *M. minutiflora* em relação ao controle e às demais espécies de gramíneas, denotando-se uma ação repelente por parte destas forrageiras. As espécies *A. gayanus*, *B. brizantha* e o controle não diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$).

Letalidade. *A. gayanus* apresentou uma baixa ação letal sobre as larvas, não sendo observada qualquer mortalidade nos 5º e 10º dpi. A taxa de 22,50% de mortalidade verificada aos 20 dpi não deve ser levada em conside-

ração em função do número muito pequeno de larvas recuperadas nas plantas; a tendência, nesta espécie, seria a de um percentual bem mais baixo ou até mesmo nulo. (Quadro 2, Fig. 1)

Quadro 2. Distribuição percentual média de larvas recuperadas em três espécies de gramíneas após 5, 10 e 20 dias de exposição. (Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$)

Espécie	dpi ^(a)	Larvas vivas		Larvas mortas	
		livres	Livres	Presas	Presas
Controle	5	90,00	0	0	0
	10	81,61	8,39	0	0
	20	90,00	0	0	0
<i>A. gayanus</i>	5	90,00	0	0	0
	10	90,00	0	0	0
	20	67,50	0	0	22,50
<i>B. brizantha</i>	5	13,09	6,63	74,08	74,08
	10	9,56	0	80,44	80,44
	20	7,02	0	82,98	82,98
<i>M. minutiflora</i>	5	30,91	0	59,09	59,09
	10	0	0	90,00	90,00
	20	0	0	90,00	90,00

(a) Dia-pós-infestação.

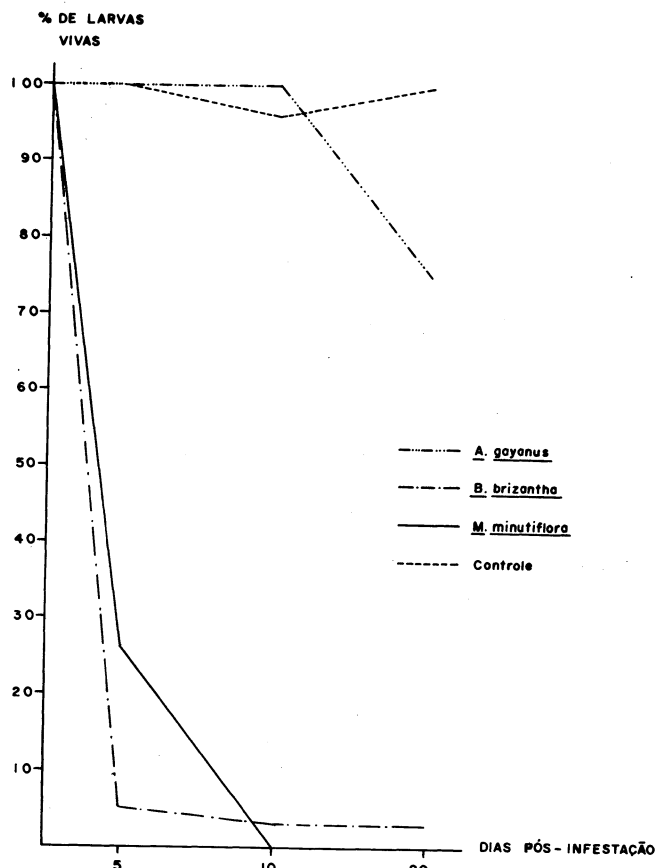


Fig. 1. Sobrevivência de larvas de *Boophilus microplus* após contato com três espécies de gramíneas, em função de três períodos de exposição.

De outra forma, *B. brizantha* apresentou aos 5 dpi a maior redução (80,71%) no número de larvas vivas e a partir do 10º dpi *M. minutiflora* demonstrou um alto potencial de letalidade, não sendo encontrada mais nenhuma larva viva nesta espécie até o final do experimento.

No controle, a mortalidade foi significativamente baixa, com percentual médio das três coletas igual a 2,80%.

O percentual médio das larvas recuperadas em *A. gayanus* e no controle foi significativamente maior na categoria LVL que nas demais; ao contrário, as espécies *B. brizantha* e *M. minutiflora* apresentaram os maiores percentuais na categoria LMP.

DISCUSSÃO

Andropogon gayanus

Os dados obtidos no experimento a partir do contato entre larva e forrageira não demonstraram um significativo potencial "anti-carrapato" por parte de *A. gayanus*, visto que a maioria das larvas (74,71%) atingiu o terço final das plantas e dentre as espécies estudadas, esta foi a que apresentou os maiores percentuais de larvas vivas nas três coletas realizadas. Estes resultados discordam daqueles reportados por Thompson et al. (1978) que verificaram possuir esta espécie uma capacidade de manter de baixo a moderado, o grau de infestação no campo. Da mesma forma, Benavides (1983) registrou nesta espécie uma menor sobrevivência larvar durante a época seca, em relação a outras gramíneas.

Esta discordância talvez possa ser explicada em função da metodologia empregada, já que nestes trabalhos foram utilizados canteiros e, portanto, o fator eficiência na cobertura do solo deva ter influenciado significativamente na sobrevivência larvar. Segundo Botrel et al. (no prelo), dentre 25 gramíneas forrageiras estudadas, *A. gayanus* foi considerado como uma das espécies de menor eficiência com relação a este aspecto, e Aycardi et al. (1984) concluíram que isto poderia explicar os baixos níveis de larvas presentes nesta espécie, observados em um experimento a campo utilizando piquetes. Assim sendo, é imprescindível associar-se este parâmetro às características morfo-fisiológicas de cada gramínea forrageira, diretamente relacionadas às suas propriedades de letalidade e repelência para que se possa melhor avaliar o potencial "anti-carrapato" de cada espécie.

Brachiaria brizantha

Segundo Berne et al. (em preparação), *B. brizantha* cultivada em canteiros, apresentou um nível médio de recuperação de larvas de *B. microplus* quando comparada a outras gramíneas; não especificando, no entanto, se as larvas recuperadas estavam originalmente mortas ou vivas, livres ou presas. Os resultados por nós encontrados demonstraram um percentual médio de mortalidade de 81,38% (79,17% eram larvas presas) das larvas que tentaram subir em *B. brizantha* e, tomando-se por exemplo *A. gayanus*, verificou-se uma mortalidade de 7,50% (todas eram larvas presas). Assim, o percentual de larvas li-

ves presentes em *A. gayanus* foi muito maior em relação a *B. brizantha*; contudo, o número absoluto de larvas recuperadas em *B. brizantha* foi aproximadamente duas vezes superior. Desta forma, um alto percentual de recuperação de larvas não significa obrigatoriamente um grande número de larvas infestantes como se poderia supor a princípio e tampouco pode-se considerar todas as larvas vivas livres como sendo infestantes, pois de acordo com o substrato, o nível de "intoxicação" ou de desgaste energético tende a variar significativamente. Deve-se ressaltar então que no emprego da terminologia "larvas recuperadas" é importante especificar ao máximo as condições encontradas na relação larva x forrageira, a fim de facilitar a avaliação do potencial real de cada espécie.

Melinis minutiflora

De uma forma geral, os resultados obtidos neste trabalho confirmam os registros existentes na literatura, a respeito da ação "anti-carrapato" de *M. minutiflora*. Assim, concordando com o citado por De Jesus (1934), foi observado um odor de efeito repelente porém não letal às larvas de *B. microplus*, da mesma forma um menor número tentou subir nas plantas e uma menor altura foi atingida por estas em função das pilosidades e secreções presentes nesta espécie, quando comparada a outras gramíneas.

Segundo Benavides (1983), o período de sobrevivência larvar em *M. minutiflora* é mais curto em relação a outras espécies e as larvas localizavam-se nos talos e folhas secas em função do odor repelente das folhas verdes; no presente trabalho, dentre as gramíneas estudadas a menor longevidade das larvas também foi observada nesta espécie sendo que 38,46% das larvas presentes nas plantas encontravam-se presas às secreções e pilosidades existentes na bainha das folhas e 51,54% retidas nos talos e folhas secas. Comparavelmente ao reportado por Farias (1984), a maioria das larvas recuperadas nas plantas, foram classificadas como "larvas mortas presas", assim como *M. minutiflora* apresentou os maiores índices de larvas mortas presas dentre as espécies de gramíneas estudadas.

CONCLUSÕES

As espécies estudadas apresentaram perfis significativamente distintos quanto a seus mecanismos de letalidade e repelência. *Andropogon gayanus* não demonstrou qualquer propriedade "anti-carrapato", sendo considerada, segundo os aspectos analisados, favorável a *Boophilus microplus*. No entanto, as espécies *Brachiaria brizantha* e *Melinis minutiflora* apresentaram um elevado poder letal devido à retenção mecânica das larvas nas pilosidades e/ou secreções.

Em *B. brizantha* não foi observada repelência, ao contrário de *M. minutiflora* que apresentou um significativo poder repelente. Desta forma, *B. brizantha* destacou-se como a espécie mais eficiente em termos de ação "anti-carrapato", pois sua ação letal comparou-se à de *M.*

minutiflora, sem possuir contudo a desvantagem de ser repelente e, assim, induzir as larvas a procurar outros substratos onde pudessem subir e atingir uma posição adequada para passar ao hospedeiro. Seria interessante a realização de ensaios com esta espécie a nível de campo.

Deve-se salientar também que o emprego da terminologia "larvas recuperadas" não implica obrigatoriamente na situação de larvas vivas livres e, portanto, infestantes, visto que estas podem estar presas e/ou mortas, tal como na situação encontrada em *B. brizantha*. Desta maneira é de suma importância neste tipo de estudo, uma criteriosa análise da situação da larva na forrageira, especificamente no que diz respeito à sua sobrevivência e liberdade.

Agradecimentos.- Os autores agradecem aos funcionários da Estação Experimental "Oswaldo Carlos de Almeida", em especial ao Dr. João Pedro Pimentel pela dedicada atenção e assessoria técnica em relação às forrageiras. Também estendemos nossos agradecimentos ao Biólogo Luís S. da Costa e à estudante Anna Cláudia N.S. de Mattos pela prestimosa colaboração no decorrer do experimento, ao Dr. Celso G. Barbosa pela análise estatística dos dados e a UFRRJ pela cessão da Estação Experimental para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

Aycardi E., Benavides E., Garcia O., Mateus G., Henao F. & Zuluaga F.N.

1984. *Boophilus microplus* tick burdens of grazing cattle in Colômbia. Trop. Anim. Hlth Prod. 16:78-84.
- Benavides E., 1983. Observaciones sobre la fase no parasitica del ciclo evolutivo de *Boophilus microplus* en la altillanura plana colombiana. Revta ICA 18:513-524.
- Berne M.E.A., Schenk M.A.N., Evans D.E. & Honer M.R. Efeitos de diferentes espécies de gramíneas sobre larvas infestantes de *Boophilus microplus*. (Em preparação).
- Botrel M.S., Alvin M.J. & Mozzer O.L. Avaliação agrônômica de gramíneas forrageiras sob pastejo. Pesq. Agropec. Bras. (No prelo)
- De Jesus, Z. 1934. The repellent and killing effects of gordura grass on the larvae of the cattle tick *B. australis*. Philip. J. Anim. Ind. 1:193-207.
- Farias N.S.R. 1984. Antibiose e Antixenose de Forrageiras em larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1987). Tese MS, UFRGS, Porto Alegre, RS. 87p.
- Norval R.A.I., Tebele N., Short N.J. & Clatworthy J.N. 1983. A laboratory study on the control of economically important tick species with legumes of the genus *Stylosanthes*. Zimbabwe Vet. J. 14 (1-4):26-29.
- Sutherst R.W., Jones R.J. Schnitzerling H.J. 1982. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. Nature 295:320-321.
- Thompson K.C., Roa J. & Romero T. 1978. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tick control packages. Trop. Anim. Hlth Prod. 10 (3):179-182.
- Zimmerman R.H., Garris G.I. & Beaver J.S. 1984. Potencial of *Stylosanthes* plants as a component in an integrated past management approach to tick control. Prev. Med. Vet. 2:579-588.

Tetrapteryx spp. (Malpighiaceae), A CAUSA DE MORTANDADES EM BOVINOS CARACTERIZADAS POR ALTERAÇÕES CARDÍACAS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³, JÜRGEN DÖBEREINER⁴,
LUIZ BENONI CONSORTE⁴ e ALDO GAVA⁵

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Döbereiner J., Consorte L.B. & Gava A. 1989. [*Tetrapteryx* spp. (Malpighiaceae) as the cause of death of cattle due to cardiac lesions.] *Tetrapteryx* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):23-44. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

This study reports on a disease of cattle which occurs over large areas of southeastern Brazil, and whose main characteristics are severe regressive changes and fibrosis of the heart. Clinical signs included edema of the brisket, a prominent pulsating jugular vein and cardiac arrhythmia. In the majority of the cases the course of the disease was subacute (1-5 weeks), at times it was more chronic (months), but only exceptionally was it peracute. The most important post-mortem findings, as determined from 14 necropsies, were clearer areas of the heart muscle as seen through the epicardium, and sharp white areas and streaks across most of the cut surface of the myocardium. At times the myocardium seemed harder than normal. In general, liver alterations varied from accentuated lobulation to a nutmeg appearance of the tissue. Subcutaneous edema in the sternal region and in the body cavities were frequently found. Histological examination of the heart revealed intra- and extracellular edema, lysis, an increase in the eosinophilia of groups of fibers (incipient necrosis), massive necrosis, apoptosis, fiber atrophy, inflammatory infiltrations, fibrosis and occasionally myogenic giant cells. In the liver, congestion, cloudy swelling, vacuolization and lysis of hepatocytes, edema of Disse's space, and portal and centrilobular fibrosis were seen.

The disease was experimentally reproduced through daily administration of the fresh sprouts (5-20g/kg during 9 to 55 days) or dried sprouts (20g/kg during 25 days) of *Tetrapteryx* spp. (*T. acutifolia* and *T. multiglandulosa*, fam. Malpighiaceae). Administration of the fresh sprouts in smaller daily doses (2.5g/kg during 130 days) or in a single large dose (100g/kg), as well as repeated administrations of the fresh or dried ripe leaves (20g/k daily for 64 or 30 days) or of the fruits (2.7-10.9g/kg daily for 6 days), only occasionally caused mild symptoms of poisoning. The course of poisoning in the animals that died was subacute (9-20 days) in six and chronic (1-3 months) in three. Clinically, the animals showed locomotor difficulties, slowness, weakness, edema of the brisket, a prominent pulsating jugular vein and cardiac arrhythmia. Post-mortem examination sometimes showed clearer areas of the heart through the epicardium and, in all but one case, whitish areas and streaks on the cut surface of the myocardium. Subcutaneous and body cavity edemas were less common. Histological lesions were present mainly in the heart and were identical to those found in the naturally occurring disease, although they were not as intense.

It is concluded that the 2 species of *Tetrapteryx* are the cause of this disease based upon the following: 1) the disease occurs only in pastures where the plants are found; 2) the course of the disease and clinical signs of experimental cases are very similar to those of the spontaneous disease; and 3) in experimental animals it was possible to reproduce the same heart lesions as seen in the naturally occurring disease.

Case histories and histopathological findings in organs of fetuses studied, suggest strongly that *Tetrapteryx* spp. are also responsible for abortions in cattle.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Tetrapteryx acutifolia*, *T. multiglandulosa*, Malpighiaceae, plant poisoning, cattle, pathology.

¹ Aceito para publicação em 6 de maio de 1988.

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

³ Bolsista do CNPq (302342/86-VT-FC), Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

⁴ Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

⁵ Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88500.

SINOPSE.- Estudou-se uma doença de bovinos que ocorre em extensas áreas da Região Sudeste cuja característica principal são severas alterações regressivas e fibrose cardíacas. Clinicamente observou-se edema na região esternal, veia jugular ingurgitada, pulsando e arritmia cardíaca. Na maioria dos casos a evolução era subaguda, às vezes com tendência à cronicidade e, excepcionalmente, superaguda. Os achados macroscópicos mais importantes, verificados através de 14 necropsias, eram presença de áreas mais claras no coração, vistas através do epicárdio e nítidas áreas e

feixes esbranquiçados ocupando boa parte da superfície de corte do órgão; por vezes, o miocárdio apresentava-se endurecido. Na maioria das vezes, o fígado mostrava alterações que variavam desde uma maior nitidez da lobulação até aspecto de noz-moscada. Edemas subcutâneos, principalmente na região esternal e edemas cavitários eram freqüentes. Histologicamente, observou-se no coração edema intra e extracelular, lise, aumento da eosinofilia de grupos de fibras (necrose incipiente), necrose massiva, apoptose, atrofia de fibras, infiltrados inflamatórios, fibrose e por vezes presença de células gigantes miogênicas. No fígado, verificou-se congestão, tumefação, vacuolização e lise de hepatócitos, edema dos espaços de Disse e fibrose portal e centrolobular. Através da administração diária, a bovinos, de brotos frescos (5 a 20 g/kg por 9 a 55 dias) ou dessecados (20g/kg por 25 dias) de *Tetrapteryx* spp. (*T. acutifolia* e *T. multiglandulosa*, fam. Malpighiaceae), plantas conhecidas vulgarmente como cipó-ruão, cipó-preto, ou cipó-vermelho, conseguiu-se a reprodução da doença.

Administrações repetidas dos brotos frescos em dosagens diárias menores (2,5 g/kg durante 130 dias) ou em grande dose única (100 g/kg) bem como administrações repetidas da folha madura fresca ou dessecada (20 g/kg diários durante 64 ou 30 dias) e dos frutos (2,7 a 10,9 g/kg diários durante 6 dias) provocaram apenas sintomas leves ou nenhum sintoma da intoxicação. Nos 9 casos fatais a evolução foi subaguda (9-20 dias) em 6 casos, ou crônica (1-3 meses) em 3 casos. Clinicamente, os bovinos apresentaram dificuldade de locomoção (passos curtos e meio pulando), letargia, fraqueza, edema da barbeta, veia jugular ingurgitada, pulsando e arritmia cardíaca. Macroscopicamente, verificou-se em vários casos presença de áreas claras no coração vistas através do epicárdio e áreas e feixes esbranquiçados na superfície de corte do miocárdio em todos os animais com exceção de um. Edemas subcutâneos (principalmente na região esternal) e cavitários ocorreram em menor escala. Os achados histopatológicos concentravam-se no coração e eram qualitativamente iguais, embora um pouco menos intensos que os que se observaram na doença espontânea.

Concluiu-se que as 2 espécies de *Tetrapteryx* são a causa da doença baseando-se nos seguintes pontos: 1) a doença somente ocorre em pastos onde vegetam essas plantas; 2) a evolução e a sintomatologia dos casos experimentais são muito semelhantes aos da doença espontânea; e 3) nos animais experimentais conseguiram-se reproduzir lesões cardíacas qualitativamente idênticas às encontradas nos animais afetados pela doença espontânea. Históricos e achados histopatológicos em órgãos de fetos sugerem fortemente que *Tetrapteryx* spp. também sejam responsáveis por abortos em bovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Tetrapteryx acutifolia*, *T. multiglandulosa*, Malpighiaceae, intoxicação por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Entre 1968 e 1986 tivemos oportunidade de estudar casos de doença em bovinos caracterizada por grave lesão do coração e manifestações de insuficiência cardíaca. Esses casos ocorreram em propriedades situadas nos municípios de Resende e de Rio das Flores, Estado do Rio de Janeiro, no município de Governador Valadares e municípios vizinhos, Estados de Minas Gerais e Espírito Santo, e nos municípios de Lorena e Guaratinguetá, Estado de São Paulo. Inicialmente não percebemos que se tratava da mesma doença; somente no final de 1985 e durante

1986, quando conseguimos realizar um estudo intensivo sobre o assunto, verificamos que, em todos os casos, se tratava de intoxicação por *Tetrapteryx* spp. (*T. acutifolia* e *T. multiglandulosa*), plantas pertencentes à família Malpighiaceae. Também percebemos que casos de aborto que ocorriam nas mesmas regiões, de origem não infecciosa e de etiologia obscura, provavelmente fazem parte da doença.

No presente trabalho, inicialmente, são apresentados os estudos realizados sobre casos espontâneos da doença, inclusive abortos; são fornecidos, para cada região de sua ocorrência, o histórico geral da doença e os dados clínico-patológicos de cada bovino examinado. Após, são apresentados os nossos estudos experimentais sobre a toxicidade de *Tetrapteryx* spp. para bovinos jovens; não realizamos estudos sobre a ação abortiva em vacas, de vez que tivemos informações de que experimentos sobre esse aspecto foram realizados por Borges (1984), embora os resultados de tais estudos ainda não tenham sido publicados.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados referentes aos casos espontâneos da doença foram coligidos durante viagens às regiões de sua ocorrência, a saber: Resende (RJ) em 1968 e 1986, Rio das Flores (RJ) em 1971 e 1986, região de Governador Valadares (MG, ES) em 1985, Lorena e Guaratinguetá (SP) em 1977 e 1986. Nessas viagens colhia-se o histórico geral da doença, animais afetados eram examinados clinicamente e necropsiados, coletava-se material para exames histológicos e inspecionavam-se os pastos. Alguns animais afetados foram levados dessas regiões ao nosso Instituto para exames e necropsia.

Os experimentos consistiram na administração por via oral, a bovinos jovens, das partes aéreas de 2 espécies de *Tetrapteryx*⁶, originárias das regiões acima citadas (Fig. 1 a 4).

Na maioria dos experimentos, as administrações se estendiam durante muitos dias (semanas a meses) e eram usadas as folhas frescas colhidas quinzenalmente e guardadas em câmara fria a 10°C, em doses diárias de 2,5 a 20g/kg; um bovino recebeu dose única de 100g/kg. Na maioria dos experimentos foram usadas as folhas novas (brotação). Em geral os animais comiam voluntariamente as folhas frescas no cocho. Em alguns experimentos, após alguns dias ou semanas, era preciso induzir o animal a comer as folhas misturando-as com capim picado e ração moída. Somente 2 dos 15 bovinos receberam folhas dessecadas; nesses experimentos as folhas dessecadas eram moídas em moinho de martelo e administradas manualmente na boca do animal, obrigando-o, dessa maneira, a ingerir-las. Um bovino recebeu os frutos frescos da planta.

Os animais experimentais eram mantidos em boxes individuais, recebendo sempre a mesma alimentação, constituída de forragem verde picada, composta de capim-guatemala (*Tripsacum fasciculatum*), capim-angola (*Brachiaria mutica*) e cana-de-

⁶ O material botânico coletado no município de Ipanema, Minas Gerais, (Döb/Tok 1839) foi identificado como *Tetrapteryx acutifolia* Cav. e o procedente de Lorena, São Paulo, (Döb/Tok 1846, 1847) como *Tetrapteryx multiglandulosa* Adr. Juss. pelo botânico Dr. William R. Anderson, University of Michigan Herbarium. O mesmo botânico considera desaconselhável o uso da designação *Tetrapteryx renidens* para *T. acutifolia*, em função de que o termo *renidens* ter sido utilizado dentro do gênero *Mascagnia*.



1



2



3

Fig. 1. Brotação de *Tetrapteryx acutifolia* no pasto. Mun. Ipanema, Minas Gerais.

Fig. 3. *T. acutifolia* em frutificação; maior parte dos frutos ainda verdes. Mun. Ipanema, Minas Gerais.

açúcar (*Saccharum officinarum*), bem como diariamente 1,5 kg de ração concentrada para bovinos. Água recebiam à vontade. Diariamente, na parte da manhã, eram soltos em um piquete de terra, onde permaneciam por aproximadamente 3 horas e eram movimentados durante 15 minutos. Excetuam-se os dois primeiros animais experimentais, Bovinos 4778 e 4777, que não foram exercitados.

Os bovinos foram examinados antes e durante os experimentos, com mais frequência quando adoeciam, com tomada de temperatura, auscultação do coração, pulmão e rúmen, e eram observados durante boa parte do dia. Quando gravemente doentes, eram observados quase continuamente e examinados frequentemente. Em casos de morte fazia-se a necropsia. Alguns animais foram sacrificados, findas as administrações. Atenção especial era dada ao exame do coração. Este não era realizado da maneira convencional (clássica); em vez de executarmos cortes acompanhando os sulcos coronários longitudinais, expondo as cavidades e válvulas, realizamos secções transversais para expor o miocárdio. Durante a necropsia se coletavam fragmentos dos diversos órgãos. Em relação ao coração eram coletados em vidros separados fragmentos da parte apical, mediana e da base. Os fragmentos de tecido eram fixados em formol a 10%, incluídos em para-



4

Fig. 2. *T. acutifolia* em floração. Mun. Ipanema, Minas Gerais.

Fig. 4. *T. acutifolia* em frutificação; frutos maduros de cor castanha avermelhada. Mun. Ipanema, Minas Gerais.

fina e corados pela hematoxilina-eosina (HE). Adicionalmente, cortes de coração e fígado foram submetidos à coloração de Masson para fibras colágenas (Mallory 1938).

RESULTADOS

1. OCORRÊNCIA DA DOENÇA ESPONTÂNEA, INCLUSIVE ABORTOS

Município de Resende, RJ

O primeiro contato que tivemos com a doença foi em Resende. Procedente da Fazenda Três Pinheiros, Engenheiro Passos, deram entrada em nosso Instituto, em 26.1.68, um garrote morto (Necr. 12/68) e, em 2.2.68, uma vaca viva, que foi sacrificada (Necr. 23/68), ambos afetados por doença cuja característica principal era o "peito inchado" (edema da parte inferior da barbeta = região esternal). Sobre histórico e sintomas desses dois animais, vide Quadro 1; sobre achados de necropsia, vide Quadro 2 e sobre alterações histológicas, vide Quadro 3.

Quadro 1. Casos naturais de intoxicação por *Tetrapteryx spp.* Histórico e quadro clínico

Bovino nº (reg. SAP)	Sexo	Idade	Procedência	Históricos e exames clínicos	Sintomas													
					Evolução até à morte natural	Evolução até ao dia em que foi sacrificado	Edema da barbel	Veia jugular ingurgitada	Veia jugular pulsando	Arritmia cardíaca	Abdômen volumoso (ascite)	Diarréia	Andar atípico	Prostração, fraqueza, lerdiceza				
12/68=2394 (18190)	m	Garrote	Mun. Rezende, Engenheiro Passos Faz. Três Pinheiros	O animal chegou morto ao Instituto em 26.1.68. Histórico em 26.1.68: começou a inchar o peito, parou de andar e de comer e morreu em 26.1.68; a evolução foi de 9 dias	9 dias													
23/68=2395 (18198)	f	Vaca		O animal chegou vivo ao Instituto em 2.2.68. Histórico em 2.2.68: doente há aproximadamente 15 dias, com edema de barbel e diarréia. Exame clínico em 2.2.68, T 37, C 60, R 20; edema acentuado na barbel da região esternal; com diarréia; não quis levantar. Sacrificado em 2.2.68.	15 dias	+++ ^a	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
351/71 (20472)	f	7 meses	Mun. Rio das Flores, Sítio Matoni	O animal chegou morto ao Instituto em 4.11.71. Histórico em 4.11.71: esteve doente por 13 dias, morreu em 4.11.71.	13 dias													
386/71 (20514/15)	m	14 meses	"	O animal foi examinado na fazenda em 25.11.71. Histórico em 25.11.71: doente há aprox. 1 mês, quase não pasta mais. Exame clínico em 25.11.71: T 39,9, C 100, com arritmia e sopro aórtico. R 16. Pulso venoso forte. Conjuntivas congestas. Ru 3/2. Morreu em 2.12.71, durante o transporte ao Instituto	1 mês e 1 semana		++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
4772 (23691-94)	f	± 1 ano	Mun. Mutum, Faz. Chedas	O animal foi examinado na fazenda em 7.12.85. Histórico em 7.12.85: solto no pasto início de setembro, adoeceu em out./nov. (uns 20 a 40 dias depois de solto). Doente há aprox. 30 dias. Exame clínico em 8.12.85: veia jugular bem ingurgitada, pulsando, T 39,3, C 108 irregular, R 28. Sacrificado em 8.12.85	30 dias	-	+++ (Fig. 6)	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
4773 (23695)	f	5 anos	"	O animal foi encontrado morto na fazenda em 8.12.85. Histórico em 8.12.85: às 12:00h foi visto sadio pelos vaqueiros, morreu aprox. às 16:00h, necropsiado às 18:00h	4h													
4774 (23696-99)	m	8-9 anos	Mun. Resplendor, Prop. de Virgílio Stefanon	O animal foi examinado na fazenda em 10.12.85. Histórico em 10.12.85: em agosto fraqueza para subir morro e trabalhos de tração; estava gordo; pêlos arrepiados há 6 dias, de 3 dias para cá "inchou". Exame clínico em 10.12.85 às 19:00h: T 40,3, C 100, R 40, Ru 2/3 fraco. Edema acentuado na barbel da região esternal, veia jugular bem ingurgitada sem pulsar. Abdômen um pouco volumoso (ascite). Sacrificado em 11.12.85	4 meses	+++	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	
4775 (23700-04)	f	6 anos	Mun. Ipanema, Tabuleiro D. Madalena Balbino	O animal foi examinado na fazenda em 6 e 16.12.85. Histórico em 6.12.85: há 5 dias diminuiu a produção de leite, cansava facilmente, emagrecimento. Exame clínico em 6.12.85: veia jugular ingurgitada e pulsando, T 38,9, C 80 irregular em ritmo e intensidade, R 20, Ru 2/2. Em 16.12.85 com leve edema na parte inferior da barbel. Sacrificado em 16.12.85	15 dias	+	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	+	
4776 (23705-09)	m	7 anos	Mun. Ipanema, Cobrador Sebastião Alves Rodrigues	O animal foi examinado na fazenda em 15.12.85. Histórico em 15.12.85: doente há 60 dias. 1º sintoma: se recusou a fazer serviço de tração. Estava gordo. Veia jugular ingurgitada e edema da barbel. Exame clínico em 15.12.85. Edema na barbel da região esternal ++. Abdômen volumoso (ascite), jugular ingurgitada + + +, sem pulsar, andar levemente cambaleante, pêlos arrepiados, fezes moles. T 39,9, C 80 com leve arritmia, R 24, Ru 2/2 de intensidade moderada. Sacrificado em 16.12.85	60 dias	++	+++	-	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	
4/86=4815 (23757)	f	12 meses	Mun. Lorena, Faz. Sta Bárbara	O animal chegou vivo ao Instituto em 28.2.86. Exame clínico em 28.2.86: com andar cambaleante, quase caindo, com torcicolo, edema moderado da barbel, principalmente submandibular. T 39,2, C 80, R 18. Ru sem bracejos, em seguida ficou em decúbito esterno-abdominal; ficou nessa posição sem comer até 4.3.86, em 5.3.86 em decúbito lateral, com fezes líquidas, T 35,7; em 6.3.86 sacrificado	1 semana		++	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
5/86=4816 (23758)	f	12 meses	"	O animal chegou vivo ao Instituto em 28.2.86. Exame clínico em 28.2.86: andar com membros rígidos, veia jugular bastante ingurgitada, conjuntivas brancas, T 39,9, C 112, R 40, Ru 0/2; nos dias seguintes durante a maior parte do dia, em decúbito esterno-abdominal, fezes líquidas mucosas, anorexia acentuada, cada dia mais fraco; em 8.3.86 encontrado morto às 8:30h ainda quente, antes de entrar em rigor mortis	1 semana		-	++	+++	-	-	-	++	+	-	-	-	
8/86=4817 (23796) (23805/06/07)	f	14 meses	"	O animal foi encontrado morto na fazenda em 10.4.86. Histórico em 10.4.86: o animal vinha mostrando há aprox. 14 dias, veia jugular ingurgitada e pulsando. Morreu de repente em 10.4.86	14 dias													
4836 (23931-34)	f	Novilha	Mun. Lorena, Faz. São João	O animal chegou vivo ao Instituto em 15.8.86. Histórico em 15.8.86: doente há 1 semana, veio doente do pasto, onde ficou menos de 2 meses, piorou aqui. Exame clínico em 15.8.86: T 38,7, C 96, R 84, Ru 1/2, com leve edema no terço inferior da barbel e na região submandibular; andar muito lerdado com dorso arqueado. Em 16.8.86 levado ao Instituto, onde nos dias seguintes melhorou, comendo melhor dia a dia, mas evitava correr quando junto com outros. Em 7.9.86 às 10:15h movimentado junto com os outros bovinos; às 10:18h com andar desequilibrado, 20 m adiante caiu em decúbito lateral, emitindo mugidos altos, e morreu às 10:19h	1 mês		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
4838 (23955-58)	f	Vaca nova	"	O animal chegou vivo ao Instituto em 15.9.86. Histórico em 15.9.86: após 40 dias no pasto foi encontrado doente com um pouco de edema na barbel e com cansaço, foi tirado do pasto, isto há 15 dias. Mesmo assim o edema foi aumentando, também o cansaço, parou de comer. Em 16.9.86 às 8:30h, T 38,4, C 88, R 24, Ru 0/2. Edema muito acentuado na parte mediana da barbel estendendo-se para o abdômen até quase o úbere. Veia jugular ingurgitada. Respiração ofegante. Durante o dia não comeu; com fezes pastosas líquidas escuras. No dia seguinte fezes líquidas, sempre em pé, bebeu água, mas não comeu. Em 18.9.86 edema subcutâneo no abdômen maior ainda. Às 11:20h em pé. Às 12:20h encontrado morto	18 dias		+++ (Fig. 5)	++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-

^a +++ Sintomas acentuados, ++ moderados, + leves, (+) meio grau, - ausentes.

O proprietário informou, por ocasião de visita nossa a fazenda, em 17.3.68, que já perdera pela doença 9 bovinos de um total de aproximadamente 150; ainda informou que o primeiro caso da doença fora observado há aproximadamente 8 meses antes e que os sintomas eram apatia, dificuldade de subir terrenos íngremes e diarréia; começava então o edema da barbel, que ficava enorme; os animais

doentes continuavam a comer, só perdendo o apetite pouco antes de morrer, quando também aparecia dispnéia. Nos últimos dias os animais ficavam muito tempo deitados, levantavam-se com dificuldade; a evolução era de 15 dias a 4 meses; a idade dos animais afetados variava de 1 ano e meio a 8 anos. Os animais eram mantidos em regime de pasto e semi-estabulação. Todos os animais afeta-

Quadro. 2 Casos naturais de intoxicação por *Tetrapteryx* spp. Achados de necropsia

Bovino nº (reg. SAP)	Achados de necropsia												Fígado	Pulmão			Outros
	Edemas						Coração			Edema	Congestão	Áreas de atelectasia					
	Edema de bar-bela	Ascite	Hidro-tórax	Hidro-peri-cárdio	Edema das pregas do abomaso	Edema do mesocó-lon	Edema do mesenté-rio do intestino delgado	Edema da parede do retículo	Edema da parede da vesícula biliar	Externa-mente com áreas cla-ras	Ao corte áreas e feixes claros nítidos	Endu-re-cido					
12/68=2394 (18190)	+++ ^a	+++	-	-	+	-	-	-	-	-	+++	+++	Com aspecto de noz-moscada nítido	-	-	-	Baço congesto
23/68=2395 (18198)	+++	-	+	-	+++	+++	+	+++	+	-	+++	++	Ao corte com lobulação nítida (rede de as-pecto vítreo, centros lobulares amarelados)	++	-	-	-
351/71 (20472)	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	++	Superfície rugosa amarelada, ao corte fina rede vermelha.	+	+	-	Cabeça inchada (edema subcutâneo), tecido subcutâneo em diversas regiões com edema gelatinoso amarelado. Mucosas bem páli-das
386/71 (20514/15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	-	-	++	-	-
4772 (23691-94)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++	-	Aumentado, arroxeadado com superfície ir-regular, com manchas leitosas e pontilhado e linhas branco-acinzentadas; ao corte áreas de aspecto de noz-moscada entre-meadas por áreas claras	-	-	-	Rins com pontilhado esbranquiçado na su-perfície. Baço ligeiramente aumentado, firme
4773 (23695)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	Com congestão +++	-	+++	-	Baço levemente aumentado
4774 (23696-99)	+++	+++	-	-	+++	+++	++	+	++	-	+++ ^b	-	Fígado duro ++; na superfície arboriza-ção branca; ao corte com aspecto reticular vermelho, muitas áreas acinzentadas, translúcidas e de consistência elástica, com diâmetro de 2 mm (focos de fibrose)	-	-	+	Coração dilatado +++ e flácido. Rins com alguns cistos. Linfonodos aumentados e endurecidos
4775 (23700-04)	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+++	-	Fígado com consistência aumentada; ao corte áreas com aspecto de noz-moscada entremeadas por áreas focais mais claras. Presença de um nódulo com 8 mm de diâ-metro, de cor clara	-	-	+	Ao corte músculos esqueléticos deixavam fluir líquido seroso
4776 (23705-09)	+++	+++	++	-	+++	+++	+++	-	+	-	+++	+++	Ao corte aspecto de noz-moscada delicado entremeado por áreas mais claras	-	-	+	Rins com pontilhado vermelho na superff-ície. Parede do ventrículo direito bastante espessada. Musculatura esquelética bas-tante úmida
4/86=4815 (23757)	++	++	-	++	-	+	-	-	-	-	++	-	Ao corte aspecto reticular vermelho	-	-	-	-
5/86=4816 (23758)	+ ^c	+	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	Ao corte aspecto reticular vermelho	-	-	-	-
8/86=4817 (23796)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	-	Ao corte desenho lobular nítido	-	-	-	-
23805/06/07 4836 (23931-34)	- ^d	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	-	Rins com pequenos focos esbranquiçados na superfície, ao corte com estrias. Baço aumentado moderadamente, ao corte com aspecto de sagu
4838 (23955-58)	+++	++	+++	-	++	+++	+++	-	-	++	+++	++	Ao corte com aspecto reticular vermelho delicado	-	-	+	Rins externamente com algumas manchas claras, ao corte com estrias

a +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) meio grau, - ausente.

b Único caso em que a lesão apesar de extensa não era nítida.

c Alteração passou despercebida ao exame clínico.

d O edema regrediu durante a permanência do animal no Instituto.

Quadro 3. Casos naturais de intoxicação por *Tetrapteryx* spp. Principais alterações histológicas

Bovino nº (reg. SAP)	Coração					Fígado					Rim												
	Edema intra- celu- lar	Edema extra- celu- lar	Lise	Áreas cosino- fílicas (necrose incipiente)	Apoptose	Necrose massiva	Infil- trados infla- mató- rios	Miócitos bizarros	Fibrose intersti- cial	Grandes áreas de fibrose	Atrofia	Tumefa- ção	Vacuo- liza- ção	Lise	Conges- tão	Disse- ção de Disse	Proli- fera- ção bi- liar	Fibrose centro- lobular	Fibro- se por- tal	Fibro- se sub- capsu- lar	Dilata- ção tu- bular	Degene- ração (tumefa- ção e vacuoli- zação)	
2394 (18190)	++	++	+	+	++	-	+	++	++	++	-	-	-	-	++(+)	+	-	+	+	+	-	-	
2395 (18198)	+	(+)	(+)	-	-	+	(+)	+	+	-	+	++(+)	++(+)	++(+)	+	+	-	+	-	-	++(+)	-	
351/71 (20472)	++	+	++	+++ Fig.12	++	-	+	+	+++ Fig.14	-	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	-	++(+)	++(+)	-	-	++	
386/71 (20514-17)	+	++	++	-	+	+	++	++	++	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	+	-	-	+	+	
4772 (23691-94) Fig.9	++	++	++	-	+	+	++	++	++	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	+	-	-	+	+	
4773 (23695)	++	++	+	-	+	(+)	-	+	+	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	+	-	-	++(+)	+	
4774 (23696-99)	-	-	-	-	-	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)
4775 (23700-04)	++	++	+++	++	++(+)	++	+	++	++	++	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4776 (23705-09)	++(+)	(+)	(+)	-	(+)	-	++	++	++	-	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4815 (23757)	+	++	+	-	++	-	++	++	++	-	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4816 (23758)	-	++	-	(+)	++	-	++	++	++	-	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4817 (23805-07)	++(+)	++	++(+)	+++	+++	(+)	++	++	++	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4836 (23931-34)	+	++	-	-	-	++	++	++	++	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	
4838 (23955-58)	++	+	++(+)	-	++(+)	-	++	++	++	+	+	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	

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

dos estiveram em uma determinada internada. Suspeitou-se na época que se tratasse de intoxicação por um ingrediente presente na mistura mineral fornecida. Administramos a um bezerro de experimentação (Bov. 2413 com

aprox. 150 kg) de 21.1.69 a 12.2.69 diariamente 100 g da mistura mineral usada; o animal não adoeceu. Não chegamos, na época, a uma conclusão sobre a causa da doença.

Por ocasião de outra visita à Fazenda Três Pinheiros em 1986 (9.10.86), recebemos a informação de que, após os nossos estudos em 1968, o problema do "inchaço" continuou, e que ocorreram também abortos em vacas. A internada problema fora abandonada e não mais usada. Percorremos aquele pasto e constatamos, em certas áreas, a presença de *Tetrapteryx* sp., em quantidades consideráveis.

Da Fazenda Soledade, vizinha, também localizada no município de Resende, recebemos, em 1971, para necropsia, 1 feto abortado e fragmentos de 4 fetos abortados e de 1 placenta em formol a 10%, com a solicitação do esclarecimento da causa desses abortos. Detalhes sobre o material remetido, achados de necropsia e alterações histológicas constam do Quadro 4. Fomos informados de que os abortos ocorreriam desde 2 a 8 meses de gestação, a maioria entre 5 e 6 meses de gestação e que 2 vacas, bem antes de abortarem (3 a 5 meses antes), apresentaram edema de barbeta ("peito") e diarreia, e depois morreram.

Não se chegou na época a uma conclusão sobre a causa dos abortos. Por ocasião de visita à Fazenda Soledade em 1986 (9.10.86) soubemos que o problema continuava. Verificamos a presença de *Tetrapteryx* sp. em diversas áreas da fazenda.

Município de Rio das Flores, RJ

Em 4.11.71 deram entrada para necropsia em nosso Instituto uma bezerra com 7 meses de idade (Necr. 351/71) e um garrote com 14 meses de idade (Necr. 386/71), procedentes do Sítio Matoni. Sobre histórico, sintomas, achados de necropsia e as alterações histológicas desses dois animais, vide Quadros 1 a 3.

Por ocasião de nossa visita ao sítio em 15.11.71, o proprietário informou que, anteriormente a esses 2 animais, já haviam morrido em 1971, 4 bovinos com idades entre 8 a 18 meses e que no ano anterior também já ocorrera a mesma doença. As informações sobre as características da doença foram muito confusas.

Através do exame dos 2 animais acima mencionados verificamos que se tratava de doença cardíaca. Pensamos que a causa poderia ser intoxicação por *Cassia occidentalis* ou deficiência de selênio. Uma inspeção dos pastos não revelou a presença da planta mencionada e não pudemos realizar experimentos com selênio.

Por ocasião de nova visita ao sítio, em 1986, verificamos que, na parte superior do pasto destinado aos bezerras, existia grande quantidade de *Tetrapteryx* sp.

Em 8.1.87 deu entrada, para necropsia, em nosso Instituto, procedente da Fazenda Saudade, um bezerro recém-nascido, que morreu dentro de 24 horas após o nascimento. Os achados de necropsia e histopatológicos do bezerro necropsiado (Necr. 2/87, Bov. 4851) constam do

fazendas - tendo mesmo motivado alguns fazendeiros a venderem suas propriedades.

Em maio de 1984, o mesmo colega comunicou-nos que fora bem sucedido em seu trabalho experimental com *Tetrapterys renidens* (*T. acutifolia*); embora não tendo tido acesso aos dados experimentais, sabemos que esses experimentos consistiram na administração da planta recém-colhida a vacas em gestação e que todas as vacas teriam abortado e depois morrido.

Durante viagem de estudo ao Espírito Santo em 1984, o colega Carlos Fernando Salvia, Baixo Guandu, ES, informou-nos que naquele município e nos municípios de Itaguaçu, Itarana e Afonso Cláudio, ES, ocorreria em algumas fazendas uma doença caracterizada por inchaço da barbela, pulsação da veia jugular, ressecamento das fezes e atitude sugerindo falta de ar (o animal estica o pescoço), com evolução de 30 a 60 dias e findando com a morte do animal. Vacas gestantes abortariam. A doença apareceria somente durante o período da seca e em terras altas e secas, com altitude de mais de 600 m acima do nível do mar. Visitamos, nessa ocasião, uma propriedade no município de Itaguaçu, onde o problema ocorreu de 1981 a 1983, sem conseguirmos dados adicionais de valor. Como causa da doença foi-nos apontado o "cipó-ferro". Porém vimos nessa propriedade outra planta a qual acreditamos ser *Tetrapterys acutifolia*.

Em novembro de 1984 recebemos do colega Eurico Carneiro Viana, de Ipanema, MG, material preservado em formol a 10% e constituído de fragmentos de diversos órgãos de uma vaca, provavelmente afetada pela doença e sacrificada. Nos exames histopatológicos desse material (SAP 23418) constatamos: fibrose do miocárdio, dissociação das fibras cardíacas por edema e tumefação das fibras cardíacas, congestão centrolobular do fígado com atrofia do parênquima, metaplasia do revestimento dos alvéolos do pulmão e leve esclerose dos tufo capilares nos glomérulos renais. Em carta que acompanhava esse material, o remetente informava que na região ocorriam doenças com diferentes quadros clínicos, como abortos, nascimento de bezerros fracos que não sobreviviam, mortes súbitas de animais aparentemente sadios e quadros com evolução mais longa (2 a 7 dias), geralmente com êxito letal. Nos casos de evolução mais lenta, o quadro cursaria com comprometimento renal, hepático e cardíaco, por vezes diarreia, em outros animais constipação ou ainda alternância de ambos. Todos os quadros eram atribuídos por alguns a uma planta conhecida como cipó-ruão, enquanto outros proprietários, discordando da hipótese, afirmavam que em algumas propriedades não ocorriam óbitos mesmo com forte infestação dessa planta. A doença ocorreria entre julho e dezembro e os prejuízos seriam grandes.

Com o objetivo de estudar os problemas em bovinos atribuídos à ação do "cipó-ruão" ou cipó-preto (*T. acutifolia*), realizamos, no período de 3 a 17.12.85, uma viagem à região do Vale do Rio Doce. Verificamos, nessa viagem, que a maioria dos veterinários, criadores e va-

queiros concorda nos seguintes pontos: o responsável pelos problemas delineados abaixo, que ocorreriam em determinados pastos, é o "cipó-ruão", também chamado de "cipó-preto" e "cipó-doce". Onde ocorre esse cipó, seriam observados esses problemas e, uma vez erradicado o cipó, os problemas desapareceriam. O *habitat* do "cipó-ruão" situa-se nas terras mais elevadas, fracas, geralmente erodidas, onde há, principalmente, capim-gordura. Constatamos que os problemas (e o "cipó-ruão") ocorrem em grande quantidade nos municípios de Ipanema, Mutum, Aimorés, Resplendor, Conselheiro Pena e Governador Valadares; segundo as informações, a doença ocorreria ainda em muitos outros municípios. Os problemas atribuídos ao "cipó-ruão" são graves e causam prejuízos elevados aos criadores. Tais problemas somente ocorreriam na época de seca, de julho a dezembro, principalmente de agosto a outubro, quando o gado come a brotação (época do broto, "o broto é o perigoso"). Entre os problemas atribuídos à ação do "cipó-ruão" estão os abortos em vacas ou o nascimento de bezerros fracos, que logo morrem. Em relação à fase da gestação em que ocorrem os abortos, as informações são bastante vagas, mas alguns criadores afirmam que seria na fase final. As vacas que abortam, geralmente se recuperariam, segundo uns, após problemas de retenção da placenta, porém algumas delas apresentariam o quadro da doença relatado no parágrafo seguinte.

Esse outro problema atribuído ao "cipó-ruão" é uma doença de evolução subaguda a crônica, em geral de 15 a 60 dias, que afeta bovinos de qualquer idade acima de 1 ano, nascidos na região ou vindos de fora. A primeira manifestação consistiria em relutância do animal em andar, quando movimentado; após, a veia jugular ficaria ingurgitada, pulsando, haveria diminuição do apetite, emagrecimento, e, mais no final da doença, apareceria o edema da barbela ("edema do peito", que é freqüente, mas não ocorre em todos os casos); as fezes são ressequidas, há prostração e sobrevém a morte. Quando o animal apresenta a veia jugular saliente, não há mais possibilidade de recuperação. Alguns animais, já em estado avançado da doença, se submetidos a grande esforço (se insistir-se em movimentá-los), podem morrer de repente. Os criadores, de maneira geral, diferenciam bem essas mortes súbitas atribuídas ao "cipó-ruão" das mortes súbitas causadas por *Palicourea marcgravii* ("erva-de-rato", "cafezinho") e por *Mascagnia rigida* ("suma-branca", "suma-roxa"⁷, "salsa-rosa", rama-amarela"). Nos casos de morte súbita atribuídos ao "cipó-ruão", os animais já estão doentes há algum tempo e, quando eles ocorrem, os animais simplesmente cairiam mortos. Nas mortes súbitas causadas por *P. marcgravii* e *M. rigida*, animais sadios, que nunca mostraram sintomas de cansaço ou a veia jugular salien-

⁷ É preciso ter cuidado com o termo "suma-roxa" porque, além de ser usado para designar *Mascagnia rigida*, também o é para designar uma planta medicinal que ocorre em regiões frias, difícil de ser encontrada e, pelas descrições obtidas, é completamente diferente. O termo é usado, ainda, por alguns, também para o "cipó-ruão", *Tetrapterys acutifolia*, o que nos parece muito impróprio.

te, de repente apresentam tremores, instabilidade e então caem e morrem.

Alguns criadores afirmam que há pastos com muito "cipó-ruão" onde nunca ocorreram problemas atribuídos à ação dele. Há criadores, se bem que em minoria, que não acreditam que o "cipó-ruão" seja tóxico e responsável por esses problemas. Por outro lado, na falta de um diagnóstico melhor, há criadores, e até veterinários, que consideram o "cipó-ruão" responsável pelos quadros clínico-patológicos mais diversos.

Durante a viagem conseguimos examinar 4 bovinos afetados pela doença atribuída à ingestão do "cipó-ruão". Tratava-se, de acordo com colegas e criadores, de casos típicos e irrecuperáveis da doença. Sacrificamos e necropsiamos esses animais (Bov. 4772, 4774, 4775 e 4776). Além desses animais encontramos um bovino recém-morto, no qual, à necropsia, verificamos a presença de alterações cardíacas (Bov. 4773). Sobre histórico, sintomas, achados de necropsia e as alterações histológicas desses 5 bovinos, vide Quadros 1 a 3.

Município de Lorena e Guaratinguetá, SP

Por ocasião de viagem de estudo ao Município de Guaratinguetá em novembro de 1976, fomos informados pelo colega Sergio Antunes Marques sobre a existência, entre outros, de dois problemas em bovinos atribuídos pela maioria dos criadores à ingestão do "cipó-correia" (*Rhynchosia pyramidalis*). O primeiro seria um "problema cardíaco" e o outro seriam abortos, sendo que as duas condições ocorreriam nas mesmas propriedades. Em relação ao problema cardíaco, tratar-se-ia de doença cuja característica principal é o edema do "peito" (parte inferior da barbeta = região esternal) e ingurgitamento da veia jugular. Naquela ocasião visitamos algumas fazendas atingidas por fatos dessa natureza, porém, como não havia casos da doença, o estudo do problema ficou para ocasião oportuna.

Condição propícia para realizar estudos acerca do problema cardíaco surgiu em 1986, quando em 25 de fevereiro recebemos histórico da ocorrência, na Fazenda Santa Bárbara, Mun. Lorena, de uma doença em garrotes com 1 a 2 anos de idade, a qual, suspeitava-se, seria uma intoxicação. Em 27 de fevereiro, um de nós visitou a fazenda e verificou que tinham adoecido 12 garrotes, tendo morrido 4, de um total de 42. A doença começara no mês de fevereiro. Os sintomas observados nos 8 animais doentes eram pelo seco e sem brilho, apatia, anemia, temperatura normal, taquicardia, rúmen com movimentos fracos/moderados; em um animal havia edema na barbeta, em outro, edema submandibular incipiente, um outro apresentava diarreia. Os animais tinham sido tratados contra piroplasmose, anaplasmose e verminose.

Um animal, que morrera em 25 de fevereiro de 1986, foi necropsiado por veterinário da Cooperativa de Laticínios no município de Lorena, que constatou grande acúmulo de líquido na cavidade abdominal, hidropericárdio, coração com áreas esbranquiçadas, edema peri-renal e da

parede do abomaso. Fragmentos de órgãos fixados em formol nos foram enviados; o exame histopatológico desse material (SAP 23753) revelou como alteração mais importante necrose de Zenker (citoplasma acentuadamente eosinófilo e núcleos picnóticos ou ausentes) de grande quantidade de fibras cardíacas, difusamente pelo corte e edema acentuado entre as fibras cardíacas, separando-as. Atendendo solicitação nossa, os 2 animais mais doentes nos foram enviados em 28.2.86, para acompanhamento da doença e necropsia (Necr. 4/86 e 5/86). Vide Quadros 1 a 3.

Pelo exame histopatológico do material 23753 e pela necropsia completada por exames histopatológicos dos 2 garrotes enviados a nosso pedido (vide Quadros 2 e 3), percebemos que se tratava do "problema cardíaco" relatado pelo colega Sergio Antunes Marques.

Em 3.4.86 voltamos a visitar a Fazenda Santa Bárbara. Soubemos que dos animais que estavam doentes haviam morrido mais 2 e que os 4 restantes estariam recuperados. O proprietário ainda nos informou que os garrotes tinham sido comprados e colocados no "pasto da figueira", um pasto "muito sujo", que antes era usado quase exclusivamente para colocar potros, pois nele já haviam ocorrido mortes de bovinos em anos anteriores. Também informou que após ocorrer a primeira morte, em 12.2.86, tirara todos os garrotes do referido pasto, e que, nos 15 a 30 dias seguintes, ainda adoeceram alguns desses animais. Não conseguimos saber por quanto tempo os animais tinham permanecido na citada área. Inspeccionamos esse pasto e nele constatamos grande quantidade de *Tetrapterys multiglandulosa*, popularmente conhecida como "cipó-vermelho". Em outros pastos da mesma fazenda, vimos somente escassos exemplares dessa planta.

Em 10.4.86, quando voltamos à Fazenda Santa Bárbara para coleta da planta para experimentação, mais um dos garrotes retirados do "pasto da figueira" morreu e foi logo necropsiado (Necr. 8/86). Vide Quadros 1 a 3.

Por ocasião de outra visita, em 8.7.86, o proprietário da Fazenda Santa Bárbara informou que, num balanço final, dos 42 garrotes que ele tinha colocado no "pasto da figueira", tinham adoecido 16 animais, dos quais 12 morreram e 4 se recuperaram após terem mostrado sintomas severos da doença.

Em 8 e 9 de julho de 1986, fomos a Guaratinguetá, juntamente com o colega Sergio Antunes Marques, visitar fazendas onde o problema cardíaco tinha ocorrido com maior frequência. Percorremos três pastos de propriedades diferentes, na época não mais usados para criação de bovinos devido ao grande número de mortes de animais que neles ocorreram. Em todos três, verificamos a existência de grande quantidade de *T. multiglandulosa*.

Em 15.8.86 fomos informados de que adoeceram bovinos na Fazenda São José, vizinha da Fazenda Santa Bárbara, e também localizada no Município de Lorena. Visitando a fazenda nesse mesmo dia, soubemos que num pasto contíguo ao "pasto da figueira", e também altamente infestado por *T. multiglandulosa*, adoeceram 4, de

um total de 19 bovinos, que estavam ali havia mais de 2 meses. Tínhamos avisado o proprietário sobre a existência da planta no pasto, mas esse não acreditou na sua toxicidade. Os bovinos haviam sido retirados do pasto uma semana antes, sendo que dois haviam piorado e dois tinham melhorado. Os dois que pioraram foram levados ao nosso Instituto (Bov. 4836 e 4838). Sobre histórico, sintomas, achados de necropsia e alterações histológicas desses 2 animais, vide Quadro 1, 2 e 3.

2. QUADRO CLÍNICO-PATOLÓGICO DOS CASOS ESPONTÂNEOS DA DOENÇA

Examinamos 14 bovinos afetados pela doença, 2 procedentes do Município de Resende, RJ, 2 do Município de Rio das Flores, RJ, 5 da região de Governador Valadares, MG, e 5 da região de Lorena/Guaratinguetá, SP (Quadros 1, 2 e 3).

Quadro clínico

Em 7 dos 8 casos da doença espontânea em que os animais morreram naturalmente (nos outros 6, os bovinos foram sacrificados), a evolução variou entre 1 e 5 semanas; no 8º, foi de menos de 4 horas (Bov. 4773). Entre os bovinos sacrificados, a evolução até o dia da morte foi de 1 a 4 semanas em 4 casos, de 2 meses em outro (Bov. 4776) e de 4 meses no último (Bov. 4774). Desta maneira, verifica-se que na maioria dos casos se tratou de doença de evolução subaguda, excepcionalmente superaguda e, às vezes, com tendência a evolução crônica.

No quadro clínico (10 dos 14 bovinos foram por nós examinados clinicamente), os sintomas que mais chamaram atenção foram edema da barbela, principalmente na sua parte inferior (= região esternal) (7 casos em 10, ou 7/10), veia jugular ingurgitada (7/10), veia jugular pulsando (4/10) e arritmia cardíaca (4/10) (Figs. 5 e 6)



5



6



7



8

Fig. 5. Edema acentuado da parte inferior da barbela (região esternal) estendendo-se ao abdômen, na intoxicação espontânea por *Tetrapteryx multiglandulosa* (Bov. 4838, procedente do Município de Lorena, São Paulo).

Fig. 7. Áreas esbranquiçadas de fibrose cardíaca na intoxicação experimental por *T. multiglandulosa*; o animal recebeu 2,5 g/kg/dia dos brotos frescos durante 125 dias (Bov. 4837).

Fig. 6. Veia jugular ingurgitada na intoxicação espontânea por *T. acutifolia* (Bov. 4772, Mun. Mutum, Minas Gerais).

Fig. 8. Áreas de fibrose no miocárdio na intoxicação experimental por *T. multiglandulosa*; o animal recebeu 5 g/kg/dia dos brotos frescos durante 55 dias (Bov. 4826).

Achados de necropsia

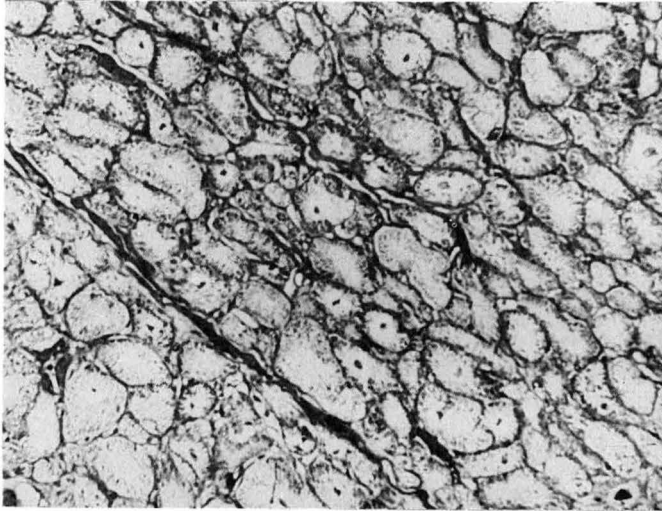
À necropsia (14 bovinos), as lesões mais importantes eram cardíacas; já externamente percebiam-se através do epicárdio, áreas claras em parte dos casos (8/14); ao corte foram constatadas manchas e feixes claros, ocupando boa parte da superfície de corte em todos os casos (14/14), lesão esta, com exceção de um caso, sempre muito nítida; em parte dos casos (6/14) percebia-se que o miocárdio estava endurecido. Outras alterações encontradas foram edemas e derrames nas cavidades preformadas; assim observaram-se edema da barbela (8/14), ascite (7/14), hidrotórax (4/14), hidropericárdio (1/14), edema das dobras do abomaso (5/14), edema do mesocólon (5/14), edema do mesentério do intestino delgado (4/14), edema da parede do retículo (2/14) e edema da parede da vesícula biliar (5/14). No pulmão foram verificadas edema em 2 casos, congestão em 3 e áreas de atelectasia em 4 casos. O fígado em quase todos os casos (11/14) apresentou alterações que se caracterizavam principalmente por lobulação nítida tanto na sua superfície como ao corte, sob forma de desenho em rede de cor esbranquiçada ou avermelhada, até o aspecto de noz-moscada; o órgão estava mais duro em 2 casos (Bov. 4774 e 4775); em um animal (Bov. 4774) havia, ao corte, pequenas áreas acinzentadas, translúcidas e de consistência elástica com diâmetro de poucos milímetros.

Alterações histológicas

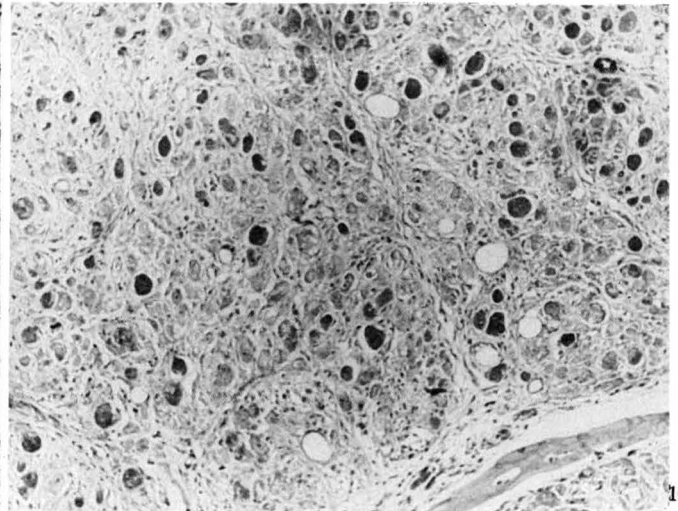
Os principais achados histopatológicos restringiam-se ao coração e ao fígado. Convém ressaltar que em ambos os órgãos havia grande variação na intensidade das lesões, de área para área. Por vezes, as lesões apresentavam-se com a máxima intensidade em uma determinada área e em outras eram apenas discretas ou ausentes.

No coração, os achados microscópicos consistiam em alterações hemodinâmicas, degenerativo-necróticas, inflamatórias e proliferativas. Sob a denominação *edema intracelular* (13 casos), agrupamos alterações caracterizadas por aumento do volume celular, portanto englobando tumefação e vacuolização de fibras. A tumefação ocorreu bem mais freqüentemente e atingia grande número de fibras, enquanto a vacuolização ocorreu eventualmente e afetava poucas fibras isoladas. As células tumefeitas evidenciavam variável aumento de volume, às vezes aparecia um halo claro em volta do núcleo que por sua vez mostrava-se vesiculoso, com a cromatina marginalizada e nucléolos evidentes. As miofibrilas encontravam-se afastadas entre si e desorganizadas. Nas áreas onde a tumefação era mais intensa, muitas vezes as células tumefeitas continham núcleos picnóticos ou fragmentados; por vezes os nucléolos já haviam desaparecido (Fig. 9). Mais raramente, observavam-se apenas espaços claros em meio às fibras tumefeitas, contendo detritos celulares, caracterizando uma evolução de tumefação para *lise celular* (12 casos) (Fig. 11). A vacuolização sempre atingia um pequeno número de fibras isoladas, geralmente em meio às áreas de tumefação. Um ou vários vacúolos dos mais

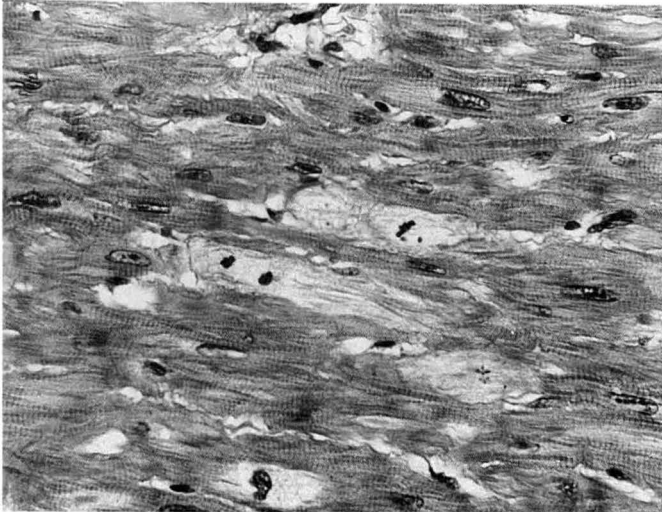
diversos tamanhos apareciam no citoplasma das fibras que não raramente mostravam núcleos picnóticos ou em cariorrexia. *Edema extracelular* (12 casos) aparecia entre as fibras e no interstício próximo a vasos sanguíneos. A lesão traduzia-se por afastamento entre as fibras; não se observava líquido de edema nos espaços resultantes desse afastamento, porém finas linhas eosinofílicas encontravam-se interligando as fibras cardíacas afastadas entre si (colágeno, Masson positivo). Os capilares, muitas vezes, estavam afastados das fibras musculares. Variáveis graus de *aumento da eosinofilia do citoplasma* de grupos de fibras (6 casos) freqüentemente estavam associados a alterações nucleares dessas mesmas fibras (necrose incipiente). Os núcleos ora achavam-se um pouco contraídos e hipercontraídos, ora já estavam em um estágio mais avançado de picnose. Em muitas fibras, as miofibrilas ainda eram visíveis. *Necrose massiva* de fibras musculares ocorreu em apenas 2 casos (Fig. 12). A lesão caracterizava-se por áreas em que todas ou a maioria das fibras tinham citoplasma muito eosinofílico, homogêneo, onde raras fibras mantinham sinais da estriação. Os núcleos, em sua maioria, haviam desaparecido ou estavam em picnose ou cariorrexia. Em grande parte dos casos essas grandes áreas de necrose encontravam-se envolvidas por tecido de granulação rico em colágeno. Raramente havia calcificação distrófica de algumas poucas fibras. Em alguns pontos dessas áreas, já se surpreendia bom número de fibras em dissolução. A *apoptose* (12 casos) caracterizava-se por necrose individual de fibras cardíacas, isoladas entre si (Fig. 10). O citoplasma dessas fibras mostrava-se homogêneo (coagulado), os núcleos muitas vezes haviam desaparecido ou estavam fragmentados ou muito picnóticos. A lesão ocorria mais freqüentemente em meio às áreas de intensa tumefação celular e em áreas afetadas por fibrose intersticial. Presença de fibras multinucleadas ocorreu com bastante freqüência, principalmente em meio a locais onde os fenômenos degenerativo-necróticos e proliferativos eram mais acentuados. Por vezes havia fibras que apresentavam aspecto bizarro, isto é, aumentadas de volume, com um ou diversos núcleos aglomerados no seu centro e que se mostravam muito grandes e disformes (células gigantes miogênicas). Os *infiltrados inflamatórios* (8 casos) eram basicamente de dois tipos: o 1º tipo tinha distribuição focal e era constituído por linfócitos e alguns macrófagos; o 2º tipo distribuía-se mais difusamente entre as fibras e nas adjacências de vasos sanguíneos, acompanhando as áreas de edema extracelular e fibrose intersticial incipiente; linfócitos, macrófagos e alguns neutrófilos predominavam neste 2º tipo. A fibrose (Masson positivo) também apresentava-se de duas maneiras distintas. Em alguns casos, apareciam *grandes áreas de fibrose* (9 casos) com variáveis quantidades de fibroblastos ou fibrócitos (Fig. 14). Esse tipo de fibrose também era encontrado circundando áreas de necrose massiva de fibras cardíacas. O outro tipo era uma *fibrose intersticial* (13 casos) de distribuição difusa nos locais onde ocorria (Fig. 10 e 13). Essa fibrose se fazia por entre as fibras cardíacas, isolando umas das outras. Na maioria



9



10



11



12

Fig. 9. Acentuada tumefação de fibras cardíacas na intoxicação espontânea por *T. acutifolia* (Bov. 4772, SAP 23693). Masson, obj. 16.

Fig. 10. Numerosas fibras cardíacas em apoptose em meio à áreas de atrofia e fibrose; vacuolização de algumas fibras. Intoxicação espontânea por *T. multiglandulosa* (Bov. 4773, SAP 23695). Masson, obj. 6,3.

Fig. 11. Lise de fibras cardíacas com picnose e cariorrexis, na intoxicação espontânea por *T. acutifolia* (Bov. 4772, SAP 23693). HE, obj. 40.

Fig. 12. Necrose massiva circundada por tecido conjuntivo fibroso, na intoxicação espontânea por *T. multiglandulosa* (Bov. 351/71, SAP 20472). Masson, obj. 2,5.

das vezes, nos locais onde ainda era incipiente, a fibrose intersticial estava associada ao edema extracelular. Em locais onde a fibrose intersticial era mais acentuada, frequentemente havia *atrofia de fibras cardíacas* (6 casos) que se revelava por fibras pequenas com citoplasma mais eosinófilo.

No fígado, as alterações mais importantes revelavam-se por fenômenos hemodinâmicos, degenerativo-necróticos e proliferativos. A *congestão* hepática (12 casos) atingia as zonas centrais, por vezes parte da ou toda a zona intermediária e mais raramente até parte das zonas periféricas dos lóbulos hepáticos. Em geral, nessas áreas, o parênquima havia desaparecido, os sinusóides estavam dilatados, desorganizados e preenchidos por sangue. *Edema dos espaços de Disse* (9 casos), outra alteração bastante freqüente, na maioria das vezes acompanhava as

áreas de congestão. A *tumefação celular* (10 casos) geralmente restringia-se às áreas contíguas aos locais onde havia congestão; os hepatócitos mostravam-se aumentados de volume, com citoplasma grânular ou espumoso, os núcleos muitas vezes estavam vesiculosos ou em picnose. Embora a *vacuolização* de hepatócitos (11 casos) aparecesse mais freqüente e intensamente em áreas contíguas à congestão hepática, muitas vezes a lesão atingia também hepatócitos de zonas nas quais não havia congestão. Vacúolos dos mais diversos tamanhos apareciam no citoplasma de hepatócitos, sendo que por vezes estes já mostravam sinais de comprometimento nuclear, sob forma de picnose e, mais raramente, de fragmentação do núcleo. Em alguns casos, células muito tumefeitas ou vacuolizadas evoluíam para *lise* (7 casos), porém somente nas áreas imediatamente em contato com o sangue (conges-

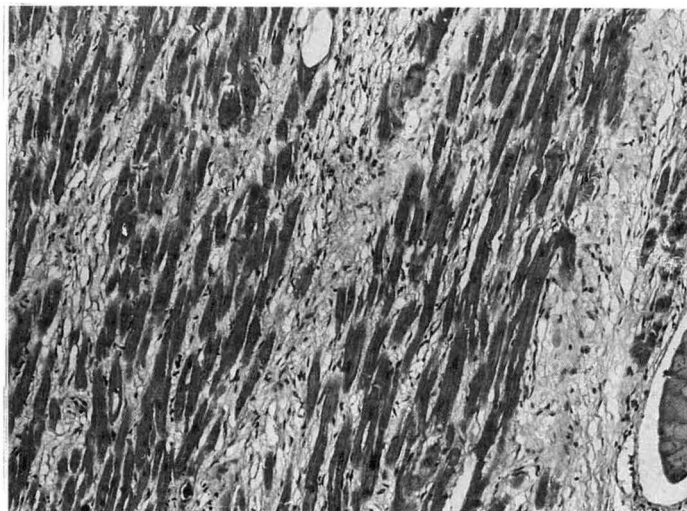


Fig. 13. Fibrose intersticial cardíaca acompanhada de leve edema extracelular, na intoxicação espontânea por *T. acutifolia* (Bov. 4773, SAP 23695). HE, obj. 6,3.

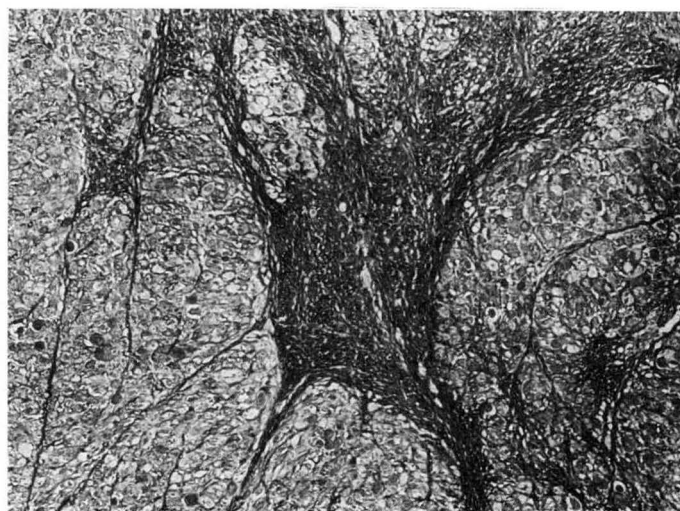


Fig. 14. Grande área de fibrose cardíaca na intoxicação espontânea por *T. multiglandulosa* (Bov. 351/71, SAP 20472). Masson, obj. 6,3.

tão). Em apenas 2 casos observou-se alguma necrose focal caracterizada por hepatócitos com citoplasma mais eosinófilo, núcleos picnóticos, em cariorrexia ou ausentes, em áreas adjacentes às de congestão. A fibrose (Masson positivo) aparecia principalmente na periferia (6 casos) e centro (9 casos) dos lóbulos hepáticos e sob a cápsula (5 casos), e, apesar de nítida, poucas vezes ocorria com maior intensidade. Nas zonas centrais permanecia apenas o arcabouço de estroma, no qual se depositava o colágeno. Nos espaços-porta, adicionalmente, observou-se uma discreta proliferação dos ductos biliares. Em 1 caso (SAP 20472) verificou-se a presença marcante de pigmento biliar; este acumulava-se por entre os sinusóides formando os chamados trombos biliares e também era visto dentro do citoplasma dos hepatócitos.

Na vesícula biliar, edema de variável intensidade (3 casos) e pequenos acúmulos de linfócitos (3 casos) na mucosa foram as únicas alterações observadas.

No rim, as únicas alterações dignas de nota foram dilatação tubular (8 casos) e degeneração albuminosa granular (7 casos), ocorrendo, porém, sempre com pouca intensidade. Para ambas as alterações, os túbulos do córtex e ductos coletores eram os mais afetados e, por vezes, continham alguns cilindros hialinos. No tubo digestivo verificou-se somente presença de edema que atingia principalmente a mucosa e submucosa do abomaso e intestinos, mas que, por vezes, fazia-se também presente entre os feixes musculares. Nos proventrículos, a lesão não estava presente. Também nos linfonodos, a alteração mais importante era edema (7 casos); em 2 casos, adicionalmente, havia pequenas áreas de hemorragia no córtex. No baço, congestão foi vista em 4 casos, sempre com pouca intensidade, associada a depleção linfóide dos folículos (4 casos). No pulmão, congestão (3 casos) e edema alveolar (1 caso) ocorreram com pouca frequência e rara vez com maior intensidade. No sistema nervoso central, observou-se em 3 casos uma alteração conhecida como

status spongiosus, caracterizada por microcavitação, por vezes acentuada, atingindo principalmente a junção entre a substância branca e a cinzenta, e também entre a substância branca e tratos nervosos. Em apenas 2 casos, havia edema entre as fibras musculares estriadas esqueléticas, por vezes contendo moderada quantidade de neutrófilos e algumas células mononucleares. Raramente havia sinais de degeneração de fibras, assim mesmo em pequenas áreas.

3. EVIDÊNCIAS SOBRE A AÇÃO ABORTIVA DE *Tetrapteryx* spp.

Recebemos, conforme já assinalado, de todas as regiões onde ocorre a doença, históricos sobre a ocorrência de abortos em vacas.

Necropsiamos 1 feto abortado (Necr. 112/71) e 1 bezerro que morreu 24 horas após o nascimento (Necr. 2/87) e recebemos fragmentos de órgãos de 5 fetos abortados, fixados em formol a 10% (Quadro 4).

As alterações histológicas mais constantes, nesses bezerros e fetos, foram observados no coração e fígado.

No coração, a lesão mais conspícua foi fibrose, presente em quase todos os casos examinados (5/6). Foram verificados ainda necrose (3/6), atrofia (2/6), edema intracelular (3/6) e extracelular (3/6) das fibras cardíacas.

No fígado as lesões que mais chamaram a atenção foram fibrose, presente em quase todos os casos (6/7) e congestão (4/7). Foram ainda observadas vacuolização dos hepatócitos (4/7), lise dos hepatócitos (1/7), edema do espaço de Disse (3/7) e proliferação biliar (2/7).

Recebemos ainda fragmentos de placenta de uma vaca, fixados em formol a 10% e procedentes da Fazenda Soledade, Mun. Resende, RJ, nos quais se verificou fibrose moderada a acentuada.

4. INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL COM *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa*

Os principais dados experimentais da intoxicação por

Tetrapteryx spp. obtidos através da administração das duas plantas por via oral a 15 bovinos, podem ser resumidos da maneira exposta a seguir.

A brotação fresca da planta foi administrada nas doses diárias de 2,5 g/kg (125 dias - Bov. 4837; 130 dias - Bov. 4835), 5 g/kg (55 dias - Bov. 4826; 63 dias - Bov. 4833), 10 g/kg (13 dias - Bov. 4831; 27 dias - Bov. 4830; 41 dias - Bov. 4828), 10 a 19,5 g/kg com média diária de 13,6 g/kg (9 dias - Bov. 4778) e 20 g/kg (11 dias - Bov. 4827 e 4832); adicionalmente um animal (Bov. 4829) recebeu 1 dose única de 100 g/kg.

Os frutos frescos foram administrados em doses diárias variando de 2,7 a 10,9 g/kg durante 6 dias a um animal (Bov. 4777).

As folhas maduras frescas foram administradas também a um animal (Bov. 4834) na dose diária de 20 g/kg, durante 64 dias.

A brotação dessecada foi administrada a um animal (Bov. 4850) na dose diária correspondente a 20 g/kg da planta fresca, durante 25 dias.

As folhas maduras dessecadas foram administradas a um animal (Bov. 4780) na dose diária correspondente a 20 g/kg da planta fresca, durante 30 dias.

A brotação fresca causou sintomas de intoxicação e morte de todos os bovinos com dosagens diárias a partir de 5 g/kg. A dose diária de 2,5 g/kg da brotação fresca só causou leves sintomas em um (4837) dos 2 bovinos. A dose única de 100 g/kg da brotação fresca também só causou sintomas leves no Bovino 4829.

Os frutos frescos não causaram sintomas de intoxicação no Bovino 4777.

As folhas maduras frescas causaram o aparecimento de sintomas moderados no Bovino 4834.

A brotação dessecada causou sintomas de intoxicação e a morte do Bovino 4850.

As folhas maduras dessecadas não causaram sintomas de intoxicação no Bovino 4780.

Os 3 animais que não adoeceram (Bov. 4835 - 2,5 g/kg x 130 da brotação fresca; Bov. 4777 - 2,7 a 10,9 g/kg x 6 de frutos frescos; Bov. 4780 - 20 g/kg x 30 das folhas maduras dessecadas), bem como os 3 animais que adoeceram sem morrer (Bov. 4837 - 2,5 g/kg x 125 da brotação fresca; Bov. 4829 - 100 g/kg x 1 da brotação fresca; Bov. 4834 - 20 g/kg x 64 das folhas maduras frescas) foram sacrificados após prazo variável depois do término das administrações da planta.

Os primeiros sintomas na intoxicação experimental nos 9 casos fatais apareceram nos bovinos (8) que ingeriram a brotação fresca, na dose diária de 20 g/kg entre o 6º e 8º dia, na dose diária de 10 g/kg entre o 14º e 28º dias, na dose diária de 5 g/kg entre o 21º e 23º dias; no bovino que ingeriu a brotação dessecada na dose diária correspondente a 20 g/kg da planta fresca, no 13º dia do experimento. Nos 3 bovinos que adoeceram, mas não morreram espontaneamente (o bovino que ingeriu a brotação fresca em uma única dose de 100 g/kg, o que ingeriu as folhas maduras frescas na dose diária de 20 g/kg e o que

ingeriu a brotação fresca na dose diária de 2,5 g/kg), surgiram no 8º, 29º e 67º dias, respectivamente, após o início do experimento.

Nos 9 casos fatais, todos com a brotação fresca ou dessecada, a evolução da intoxicação, em 6, foi de 9 a 20 dias (com doses diárias de 10 a 20 g/kg), em 2 foi de 36 a 42 dias (com doses diárias de 5 a 10 g/kg), e no 9º foi de 3 meses (com dose diária de 5 g/kg). Nos 3 bovinos que adoeceram e foram sacrificados (Bov. 4834, 4829 e 4837) a evolução até o dia da morte foi de 3 meses e 1 semana, 1 mês e 5 dias e 4 meses e 2 dias, respectivamente; os animais mostraram sintomas de intoxicação até o dia da morte. Dessa maneira, verifica-se que nos casos fatais a evolução foi subaguda, com tendência à cronicidade. Nos casos em que os animais foram sacrificados, a evolução foi crônica.

Quadro clínico

No quadro clínico (12 dos 15 animais experimentais adoeceram) os sintomas que mais chamaram atenção foram andar alterado sob forma de passos curtos e meio pulando (10/12), lerdeza (11/12), edema de barbeta (3/12), veia jugular ingurgitada (7/12), veia jugular pulsando com pulso venoso positivo (4/12) e arritmia cardíaca (2/12).

Achados de necropsia

Os achados mais importantes observados nos 11 dos 12 bovinos que adoeceram (9 morreram, os outros 3 foram sacrificados) foram lesões cardíacas; percebiam-se no epicárdio áreas claras em 5 e no miocárdio, ao corte, manchas e feixes claros em 10 animais (Fig. 7 e 8). No 11º bovino (Bov. 4827) que recebeu 20 g/kg da brotação fresca por dia, em vez de manchas claras foram observadas áreas vermelhas na superfície de corte do miocárdio. O Bovino 4829 que recebeu 100 g/kg da brotação fresca uma única vez, foi o único animal em que não foram observadas lesões no miocárdio. A ocorrência de edema e derrames nas cavidades preformadas foi a seguinte: edema da barbeta 2/12, hidropericárdio 1/12, edema da parede da vesícula biliar 2/12. No pulmão foi verificado no lobo cardíaco atelectasia em um (Bov. 4827) e congestão e edema em outro animal (Bov. 4850). O fígado, em 2 casos, apresentou lobulação nítida, tanto externamente como ao corte; em um 3º caso este órgão era mais escuro e em um 4º era mais claro.

Nos 3 bovinos que não adoeceram e que foram também sacrificados (Bov. 4777, 4780, 4835), não se perceberam alterações no epicárdio, mas na superfície de corte do coração de 2 animais percebiam-se áreas mais claras, em um discretas (Bov. 4780), no outro leves (Bov. 4835). Ascite discreta foi constatada em 2 bovinos, hidrotórax discreto em um, e hidropericárdio leve em outro animal. No fígado foi constatada, ao corte, lobulação perceptível em um bovino.

Alterações histológicas

Nos 15 casos de intoxicação experimental, os princi-

pais achados histopatológicos concentravam-se no coração e, do mesmo modo que a doença espontânea, variavam grandemente de área para área. Essas lesões cardíacas eram qualitativamente iguais, mas um pouco menos intensas nos casos experimentais que as observadas no coração dos animais que adoeceram espontaneamente; por esta razão não nos deteremos na descrição dessas alterações, somente indicando a sua frequência.

Assim, observou-se no coração *edema intracelular* em 9 casos, porém na grande maioria com pouca intensidade; já o *edema extracelular* apareceu ainda mais frequentemente e com mais intensidade. *Lise de fibras* ocorreu em 7 casos; em parte deles (3 casos) com muita intensidade. Áreas com *aumento da eosinofilia* (necrose incipiente) das fibras foram vistas com alguma frequência (8 casos), por vezes (4 casos) atingindo grandes extensões do miocárdio, enquanto que *necrose massiva* de fibras foi observada apenas uma vez, assim mesmo restrita a áreas não muito extensas. Presença de um pequeno número de fibras em *apoptose* foi vista em 6 casos. O aparecimento de *infiltrados inflamatórios* predominantemente mononucleares foi quase constante estando presente em 14 casos. *Grandes áreas de fibrose* foram vistas em apenas 3 bovinos, ainda assim em pequeno número, enquanto que a *fibrose intersticial* apareceu bem mais frequentemente (9 casos) e com mais intensidade. Presença de *miócitos bizarros*, isto é, aumentados de volume contendo um ou mais núcleos grandes e disformes, aglomerados no seu centro, foi observada em 7 casos (células gigantes miogênicas). Adicionalmente, em um animal que não mostrou quaisquer outras alterações no coração, observou-se a presença de extensas hemorragias no miocárdio.

No fígado, as lesões eram, regra geral, pouco significativas. *Vacuolização do citoplasma de hepatócitos* ocorreu com pouca intensidade e em apenas 3 casos. Em 6 casos, observou-se discreta *congestão*, restrita às zonas centrolobulares. Na metade dos casos, encontrou-se discreto ou leve *edema dos espaços de Disse*. Adicionalmente, verificou-se, em um caso, moderada necrose de hepatócitos de distribuição centrolobular, e em outro, presença de alguns pequenos focos de necrose de hepatócitos, próximos à zona centrolobular.

Na vesícula biliar, encontrou-se, em apenas 2 casos, leve a moderado edema da parede, em um desses, associado a hemorragias. No rim, também em apenas 2 casos, degeneração albuminosa granular de parte dos túbulos esteve presente, em um deles com moderada e em outro com discreta intensidade. No tubo digestivo não foram encontradas quaisquer alterações. Nos linfonodos encontrou-se leve edema em 4 casos e em outro, hemorragias no córtex. No baço, leve congestão foi observada em 4 casos e, em outro, leve a moderada depleção linfóide dos folículos germinativos. No pulmão, congestão foi vista em 4 casos, em 2 dos quais associada a edema alveolar; em apenas um desses casos, essas lesões apareceram com intensidade. No sistema nervoso central de 6 animais encontraram-se alterações de microcavitação, principal-

mente na junção das substâncias branca e cinzenta. Em 2 desses 6 casos a lesão ocorreu com forte intensidade. Na musculatura esquelética observou-se, em 2 casos, edema entre as fibras musculares.

Nos Quadros 5, 6 e 7 estão esquematizados os principais dados dos experimentos realizados em bovinos com *Tetrapteryx* spp. Pormenores sobre esses experimentos são fornecidos nos resumos dos protocolos que se seguem.

Bovino 4778, macho, mestiço, com 143,5 kg, recebeu de 18 a 26.12.85, diariamente, 1433 a 2800 g (10 a 19,5 g/kg, média diária de 13,6 g/kg) da brotação fresca de *Tetrapteryx acutifolia* colhida em 14.12.85 no Município de Mutum, MG, e guardada em câmara fria a 10°C. Parte da planta o animal comeu misturada com capim picado, parte foi administrada manualmente na boca (maior parte). A partir de *23.12.85⁸ o bovino apresentou falta de apetite, não ingerindo o capim picado que normalmente era fornecido após a administração da planta, somente a ração e capim-gordura (*Melinis minutiflora*) inteiro; havia poças de saliva no chão. Quando foi movimentado em 26.12.85, mostrou andar lerdo. Veia jugular levemente ingurgitada e pulsando levemente. Fezes um pouco menos consistentes. Às 21:30 h, temperatura (T) 39,3°C, batimentos cardíacos (C) 100 e movimentos respiratórios (R) 28 por minuto, movimentos do rúmen (Rú) 3 por 3 minutos (3/3) de intensidade fraca a moderada. Abdômen um pouco volumoso sem timpanismo. Em 27.12.85 não comeu nada, não defecou, muito lerdo para andar, veia jugular levemente saliente e levemente pulsando. Abdômen volumoso sem timpanismo. Rú 5/5 de intensidade fraca a moderada; o animal urinava frequentemente. Em 28.12.85, eliminou poucas fezes sob forma de esferas ressequidas, no mais, com os mesmos sintomas. A partir dessa data comia um pouco de capim-de-angola e ração dados na boca. Em 31.12.85, além dos sintomas acima descritos, o animal às vezes rangia os dentes; continuava a ruminar; andar sempre muito lerdo, movimentos do rúmen sempre fracos, fezes sob forma esferas ressequidas, veia jugular sempre levemente ingurgitada, pulsando. Em 2.1.86, veia jugular mais ingurgitada e pulsando um pouco mais. Em 3.1.86, comeu ração e capim-de-angola sozinho. Em 4.1.86, o abdômen já não estava volumoso; animal fraco. Em 5.1.86, mostrou andar cambaleante. Em 6.1.86 em decúbito lateral; foi colocado em decúbito esterno-abdominal. Não conseguiu se manter em pé. Nos dias seguintes o animal sempre ficava em decúbito esterno-abdominal, sem comer, nem defecar. Em 11.1.86 às 6:00 h foi encontrado morto, devendo ter morrido aprox. às 5:00 h.

Bovino 4777, macho, mestiço, com 169 kg, recebeu de 18 a 23.12.85, diariamente, 450 a 1840 g (2,2 a 10,9 g/kg, média diária de 8,8 g/kg) dos frutos frescos de *T. acutifolia* colhidos no Município de Ipanema, MG, e guardados em câmara fria a 10°C. Parte dos frutos o animal ingeria misturada com capim picado, parte era dada manualmente, por via oral (maior parte). Durante os dias da administração e até 26.12.85, o animal apresentou fezes levemente ressequidas. Foi sacrificado em 12.7.86.

Bovino 4780, macho, mestiço, com 86 kg, recebeu de 1 a 30.5.86, diariamente, 573 g das folhas maduras dessecadas de *Tetrapteryx multiglandulosa*, correspondendo a 20 g/kg da planta fresca (relação planta fresca: dessecada = 3:1) colhidas em 3.4.86 (administrações até 12.5.86) e 5.5.86 (administrações a partir de 13.5.86) no Município de Lorena, SP, e dessecadas à sombra. A planta sempre foi dada manualmente, por via oral. O animal não adoeceu e foi sacrificado em 1.6.86.

Bovino 4827, macho, mestiço, com 100 kg, recebeu de 10 a 20.7.86, diariamente, 2000 g (10 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 9 e 18.7.86 no Município de Guaratinguetá, SP, e guardada em câmara fria a 10°C. A planta sempre foi administrada manualmente por via oral. Em *15.7.86 notou-se durante o exercício diário de 15 minutos que o animal corria com passos curtos e meio pulando, levantando a cabeça, o que se foi acentuando nos dias seguintes. Em 19.7.86 estava muito lerdo; quase não comeu capim; às 21:45h, T 38,4, C 64, R 24, Rú 3/2 de intensidade forte. Em 20.7.86 corria da mesma maneira, e adicionalmente arrastava as patas e no fim não quis mais correr; foi a última vez que foi exercitado. Em 21.7.86 estava em decúbito esterno-abdominal; quando se colocou o animal em pé, só ficava nessa posição com apoio. Ficou o dia todo em decúbito esterno-abdominal, sonolento. Não comeu, nem defecou. Em 22.7.86 foi encontrado em decúbito lateral. Foi colocado em decúbito esterno-abdominal, e assim ficou o dia inteiro, com o queixo encostado no chão ou com a cabeça sobre o flanco. Em 23.7.86 às 5:15 h, ao tentar levantar-se, caiu sobre

⁸ O asterisco (*) anteposto à indicação da data sempre significa que foi a partir desta que se considerou o início da evolução da intoxicação.

Quadro 5. Intoxicação experimental por *Tetrapteryx spp.* em bovinos. Quantidades administradas e evolução clínica

Bovino nº (reg. SAP)	Peso		Planta		Administração			Desenvolvimento do experimento				
	No começo	No fim	Procedência	Estado	Dose diária	Início e término	Doses de ingestão	Dose total (g/kg)	Início dos sintomas após início da administração da planta	Evolução até à morte espontânea	Sacrificado após início da administração da planta	Término do experimento
4778 (23720-24)	143,5 (18.12.85)	147,5 (2.1.86)	Mutum, MG	Brotos frescos	10-19,5 média 13,6 g/kg	18.12.85 26.12.85	9	129,5	6º dia	20 dias	—	Amanheceu morto em 11.1.86
4777 (23881-84)	169 (18.12.85)	223 (12.7.86)	Ipanema, MG	Frutos verdes frescos	2,7-10,9 média 8,8 g/kg	18.12.85 23.12.85	6	53	Não adoeceu		6 meses e 3 semanas	Sem sintomas. Sacr. em 12.7.86
4780 (23843-47)	86 (1.5.86)	88,5 (30.5.86)	Lorena, SP	Folhas maduras dessecadas Col. 3.4.86 (até 12.5.86) e 5.5.86 (a partir 13.5.86)	20 g/kg:3	1.5.86 30.5.86	30	600 ^a	Não adoeceu		1 mês	Sem sintomas. Sacr. em 1.6.86
4827 (23906-09)	100 (10.7.86)	98 (11.7.86)	Guaratinguetá, SP	Brotos frescos	20 g/kg	10.7.86 20.7.86	11	220	6º dia	9 dias	—	Morreu em 23.7.86 às 16:15h
4828 (23939-42)	103 (11.7.86)	91 (4.9.86)	Guaratinguetá, SP Lorena, SP	Brotos frescos	10 g/kg	20.7.86 29.8.86	41	410	15º dia	36 dias	—	Morreu em 8.9.86 entre 19:15 e 22:00h
4826 (23959-62)	151 (11.9.86)	150 (11.9.86)	Guaratinguetá, SP Lorena, SP	Brotos frescos	5 g/kg	20.7.86 12.9.86	55	275	21º dia	42 dias	—	Morreu em 20.9.86 entre 2:40 e 2:55h
4834 (24050-61)	112 (17.8.86)	113 (22.11.86)	Lorena, SP	Folhas maduras frescas	20 g/kg	16.8.86 19.10.86	64	1280	29º dia	—	3 meses e 1 semana	Sintomas leves a moderados. Sacr. em 22.11.86
4829 (23987-003)	156 (5.9.86)	175 (3.10.86)	Rio das Flores, RJ	Brotos frescos	100 g/kg x 1	6.9.86	1	100	8º dia	—	1 mês e 5 dias	Leves sintomas. Sacr. em 11.10.86
4832 (23963-66)	101 (28.8.86)	100 (11.9.86)	Rio das Flores, RJ	Brotos frescos	20 g/kg	6.9.86 16.9.86	11	220	8º dia	9 dias	—	Morreu em 21.9.86 entre 10:30 e 10:45h
4831 (23968-71)	110 (28.8.86)	104 (19.9.86)	Rio das Flores, RJ	Brotos frescos	10 g/kg	6.9.86 18.9.86	13	130	14º dia	11 dias	—	Morreu em 29.9.86 às 5:40h
4830 (24005-018)	102 (28.8.86)	99 (3.10.86)	Rio das Flores, RJ	Brotos frescos	10 g/kg	6.9.86 2.10.86	27	270	28º dia	10 dias	—	Morreu em 13.10.86 entre 20:30 e 20:40h
4833 (24083-90)	133 (28.8.86)	109 (28.12.86)	Rio das Flores, RJ Resende, RJ Lorena, SP	Brotos frescos	5 g/kg Variável (média de 1,48 g/kg)	6.9-7.11.86 8.11-28.12.86	63 51 total: 114	390,48	23º dia	3 meses e 2 dias	—	Morreu em 29.12.86 entre 11:00 e 13:00h
4835 (24175-24186)	124 (3.10.86)	165 (13.3.87)	Rio das Flores, RJ Resende, RJ Lorena, SP	Brotos frescos	2,5 g/kg	7.10.86 13.2.87	130	325	Não adoeceu		5 meses e 1 semana	Sem sintomas. Sacrificado em 14.3.87
4837 (24127-140) (24155-157)	169 (3.10.86)	184 (7.2.87)	Lorena, SP ”	Brotos frescos	2,5 g/kg	5.10.86 6.2.87	125	312,5	2 meses e 1 semana	—	4 meses e 2 dias	Leve sintomas. Sacrificado em 7.2.87
4850 (24141-150) (24152-154)	132 (8.1.87)	131 (30.1.87)	Lorena, SP	Brotos dessecados Col. 2.10.86	20 g/kg :4	8.1.87 1.2.87	25	500 ^a	13º dia	18 dias	—	Morreu em 7.2.87 entre 17:00 e 19:00h

^a Correspondente à planta fresca.

Quadro 6. Intoxicação experimental por *Tetrapteryx* spp. em bovinos. Sintomas e achados de necropsia

Bovino nº	Sintomas										Achados de necropsia			Fígado	
	Edema da barbeta	Veia jugular ingurgitada	Veia jugular pulsando	Arritmia cardíaca	Respiração difícil	Anorexia	Andar diferente	Prostração, fraqueza, letargia	Pressionando a cabeça para frente	Tremores	Edemas	Coração			
												Externamente áreas claras	Ao corte com manchas e feixes claros		Outros
4778	- ^a	+	+	-	-	++	-	+	-	-	Parede da vesícula biliar +++ Ascite (+)	+	++	-	Ao corte aspecto reticular vermelho
4777	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Externamente e ao corte com lobulação perceptível
4780	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Ascite (+) Hidrotórax (+)	-	(+) Não muito nítido	-	-
4827	-	-	-	-	+	+	+++	+	-	-	Hidropéricárdio (+) Parede do retículo +	-	-	No epicárdio pequenas equimoses e sufusões; ao corte áreas semi-circulares vermelho-escuras	Escuro
4828	++	+++	-	+	-	+	++	+	-	+	Barbeta + Mesentério do intestino delgado (+) Parede da vesícula biliar (+) Barbeta +	++	++(+)	-	Ao corte com lobulação perceptível
4826	++	-	-	-	+	+	++	+	+	+	Barbeta +	++	++(+)	Fig. 8	-
4834	+(+)	+++	+++	-	-	-	++	+	-	-	-	+(+)	+(+)	-	-
4829	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4832	-	-	-	-	+	+	+++	+	+	+	-	-	-	-	-
4831	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
4830	-	+	-	-	-	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
4833	-	+++	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4835	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Hidropéricárdio +	-	+	-	-
4837	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	++(+)	Fig. 7	-
4850	-	++	++	-	-	++	++	++	-	-	-	+	+(+)	-	Mais claro, cor ocre

^a +++ Sintoma ou achado acentuado, ++ moderado, + leve, (+) meio grau, - ausente.

Quadro 7. Intoxicação experimental por *Tetrapteryx* spp. em bovinos. Principais alterações histológicas

Bovino nº (reg. SAP)	Coração										Fígado			Rim	
	Edema intracelular	Edema extracelular	Lise	Áreas eosinofílicas (necrose incipiente)	Apoptose	Necrose massiva	Infiltrados inflamatórios	Miócitos bizarros	Fibrose intersticial difusa	Grandes áreas de fibrose	Atrofia de fibras	Vacuolização	Congestão	Edema do espaço de Disse	Degeneração
4778 (23720-24)	+ ^a	++	++(+)	++(+)	+	-	+	+(+)	++	-	+(+)	-	(+)	+	++
4777 (23881-84)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-
4780 (23843-47)	+	-	-	-	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	-
4827 (23906-09)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
4828 (23939-42)	(+)	++	++(+)	++(+)	(+)	-	+	+	+	-	+(+)	-	-	-	-
4826 (23959-62)	(+)	+(+)	++	++	+	-	(+)	-	+	-	++	(+)	(+)	-	-
4834 (24050-061)	+(+)	+	(+)	-	-	-	(+)	-	+	-	-	-	-	-	-
4829 (23987-003)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-
4832 (23963-66)	-	+	-	-	-	-	(+)	-	+	-	-	-	(+)	+	-
4831 (23968-71)	(+)	+(+)	-	+	(+)	-	(+)	+	+	-	+	+(+)	(+)	(+)	-
4830 (24005-018)	(+)	+	+	+	(+)	-	+	(+)	(+)	(+)	+	-	(+)	-	(+)
4833 (24083-90)	-	(+)	-	-	-	-	+	-	-	-	(+)	-	-	+	-
4835 (24175-186)	-	+	-	(+)	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	(+)	-
4837 (24127-140)	(+)	+(+)	+	(+)	-	-	+	+(+)	++	(+)	-	-	-	+	-
4850 (24155-157)	+	++	++(+)	++(+)	+	+	(+)	+(+)	++	(+)	++(+)	(+)	(+)	+	-
4850 (24141-150)															
4850 (24152-154)															

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

1

o lado esquerdo; às 14:30 h com opistótono, às 15:55 h com respiração ruidosa; às 16:13 h várias contrações generalizadas e às 16:15 h estava morto.

Bovino 4828, macho, mestiço, com 103 kg, recebeu de 20.7 a 28.8.86, diariamente, 1030 g (10 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* co-

lhida em 19.7, 28.7 e 6.8.86 no Município de Guaratinguetá, e 15.8 e 27.8.86 no Município de Lorena, SP, e guardada em câmara fria a 10°C. Até 27.7.86 o animal comeu a planta espontaneamente no cocho, a partir de 28.7.86 não a comeu mais e a planta foi administrada manualmente, por via

oral. A partir de *3.8.86 foi notada leve diminuição do apetite e a partir de 9.8.86, durante o exercício diário de 15 minutos, notou-se que o animal corria com passos curtos e meio pulando, e a partir de 11.8.86 adicionalmente arrastava os pés. A partir de 26.8.86 a anorexia se acentuou bastante. A partir de 29.8.86 só ficava em pé quando ajudado. Quando movimentado, mostrava andar muito lerdo e desequilibrado. Fraco. Às vezes, leves tremores musculares em diversas partes do corpo. Nesse dia, foi observado pela primeira vez leve edema da barbela. Em 30.8.86, estava muito fraco. A partir de 2.9.86 leve sialorréia. Em 3.9.86, às 22:00 h, T 39,3 C 120 (com ritmo irregular), R 20, Rú 2/3 de intensidade fraca. Em 4.9.86 amanheceu em decúbito lateral. Foi colocado em posição esterno-abdominal e depois em pé; andar cambaleante; tremores musculares constantes em todo o corpo. Em 5.9.86, estado inalterado. Em 6.9.86 amanheceu em pé. Veia jugular bem ingurgitada, sem pulsar; sem tremores musculares. Edema em toda a extensão da barbela; às 17:00 h, T 39,3, C 144, R 20, Rú 0/5. Em 7.9.86 amanheceu em decúbito lateral; levantado, ficou por algum tempo em pé, com leves tremores musculares, veia jugular bem ingurgitada; às 11:00 h estava de novo em decúbito lateral, com a cabeça virada para trás e encostada no flanco. Às 20:00 h, T 36,6, C 120-144, R 16 abdominal, Rú 0/5, com extremidades frias, às vezes com leves movimentos de pedalagem. Em 8.9.86 continuou nessa mesma posição. Encontrado morto às 22:00 h, devendo ter morrido aprox. às 21:00 h.

Bovino 4826, macho, mestiço, com 151 kg, recebeu de 20.7 a 12.9.86, diariamente, 755 g (5 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 19.7, 28.7 e 6.8.86 no Município de Guaratinguetá, e 15.8, 27.8 e 4.9.86 no Município de Lorena, SP, e guardada em câmara fria a 10°C. Sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. A partir de *9.8.86, notou-se, durante o exercício diário de 15 minutos, que o animal corria com passos curtos, meio pulando e arrastando os pés traseiros. A partir de 8.9.86 corria mais devagar, e ao fim do exercício salivava levemente. Em 11.9.86, às 17:00 h, T 38,7, C 56 com batimentos fortes, R 16, Rú 3/2 de intensidade forte. Em 12.9.86 passou o dia todo pressionando a cabeça contra as tábuas de divisão do box; comeu a planta, pela última vez. Não foi exercitado. Em 13.9.86 não foi exercitado, pois mal conseguia andar lenta e tropeçante. Pela primeira vez não comeu a planta, nem capim picado. Continuava a pressionar a cabeça contra as tábuas do box. Leve edema na parte inferior da barbela, tremores musculares quase constantes na região da escápula e da cabeça; ocasionalmente o animal rangia os dentes. Em 14.9.86, sempre pressionava a cabeça contra as tábuas do box; às 10:45 h, T 38,5, C 64, R 12, Rú 7/2 de intensidade fraca; edema moderado na parte inferior da barbela. Tremores leves e constantes em todo o corpo. Sem comer, fezes ressequidas. Em 15.9.86 em decúbito esterno-abdominal com o queixo encostado no chão. Levantado, ficou pouco tempo em pé. Em 16.9.86 estava em decúbito lateral; com leves tremores generalizados; expiração ruidosa; à noite colocado em decúbito esterno-abdominal. Em 17.9.86, à tarde, estava novamente em decúbito lateral; colocado em decúbito esterno-abdominal, ficou com o queixo apoiado no chão. Em 18 e 19.9.86 mesma situação. Em 19.9.86, às 21:15 h, T 38,3 C 88, R 24, Rú 0/5. Em 20.9.86 às 2:40 h ainda vivo, às 2:55 h encontrado morto.

Bovino 4834, macho, mestiço, com 112 kg, recebeu de 16.8 a 19.10.86, diariamente, 2240 g (20 g/kg) das folhas maduras frescas de *T. multiglandulosa* colhidas em 15.8, 27.8, 4.9, 15.9 e 2.10.86 no Município de Lorena, SP, e guardadas em câmara fria a 10°C. Sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. Às vezes, era preciso molhar as folhas e misturá-las com pouco de ração moída. A partir *13.9.86 notou-se, durante o exercício diário de 15 minutos, que o animal corria com passos curtos e meio pulando; a partir de 18.9.86 arrastava um pouco os pés e a partir de 12.10.86 procurava evitar o exercício. A partir de 24.10.86, portanto, 5 dias após a última administração da planta, percebeu-se que a veia jugular estava leve a moderadamente ingurgitada. A partir de 15.11.86, a veia jugular estava bem ingurgitada e pulsava acentuadamente, com o animal em repouso. No dia de se sacrificar o animal, 22.11.86, às 9:45 h, T 38,7, C 60, R 32, Rú 4/2; jugular saliente pulsando bastante.

Bovino 4829, macho, mestiço, com 156 kg, recebeu em 6.9.86, num período de 21 horas (5.9.86, 21:15 h a 6.9.86, 17:50 h), 15600 g da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 5.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ. Aproximadamente a quarta parte o animal comeu espontaneamente no cocho, o restante foi administrado manualmente. Após a administração, o bovino comeu avidamente capim picado. Em 7.9.86 às 9:15 h foi colhida urina, que às 13:00 h continuava com cor amarela, mas às 17:00 h tinha cor vermelha. Às 19:00 h, as fezes no chão do box estavam com superfície bem vermelha e verdes no interior. Às 19:30 h, T 38,2, C 100, R 28, Rú 6/2 de intensidade moderada a forte. Abdômen volumoso, sem timpanismo. Comeu bem e ruminou frequentemente durante o dia. No dia seguinte, 8.9.86, o abdômen continuou volumoso, o animal defecou relativamente pouco, alimentou-se bem e ruminou bastante; as fezes continuavam vermelhas na sua superfície. Em 9.9.86 o abdômen estava menos

volumoso, a veia jugular levemente ingurgitada. Em 10.9.86 havia bastantes fezes no box, o abdômen ainda estava levemente aumentado. Alimentava-se normalmente. A partir de 13.9.86 notou-se durante o exercício diário de 15 minutos que o animal começou a correr com passos curtos e meio pulando, o que permaneceu constante até o dia em que o animal foi sacrificado, 11.10.86.

Bovino 4832, macho, mestiço, com 101 kg, recebeu de 6 a 16.9.86, diariamente, 2020 g (20 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 5 e 12.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ, e guardada em câmara fria a 10°C. O animal sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. Às vezes, para o animal comer um resto que deixava, esse era misturado com ração moída e molhado, e o animal comia logo. Em *13.9.86 notou-se, durante o exercício diário de 15 minutos, que o animal corria com passos curtos e meio pulando. Em 14.9.86 arrastava as patas ao correr e depois aparentava estar cansado. Em 15.9.86, tinha andar muito cambaleante; ficou o dia todo em pé, encostando a cabeça na parede; em 16.9.86, permanecia da mesma maneira ou então em decúbito esterno-abdominal. Durante o exercício era sempre muito lerdo, às vezes tinha andar cambaleante. Não comeu durante o dia todo. Em 17.9.86 de manhã estava em decúbito lateral; às 10:00 h levantou-se sozinho, com tremores musculares; às 11:30 h caiu, ficando em decúbito esterno-abdominal; às 17:50 h foi colocado em pé, ficou algum tempo, mas em seguida caiu para frente e ficou com decúbito esterno-abdominal. Não comeu durante o dia todo. Às 21:00 h, T 38,2, C 108 com ritmo muito irregular, havia omissão de cada 5ª ou 9ª batida, R 28, Rú 0/5; às 23:00 h tentou, em vão, levantar-se. Em 18.9.86 passou o dia todo em decúbito lateral com a cabeça virada para o lado e para trás; T 37,3, C 180, R 60 a 80 muito irregular, Rú 0/5. Em 19.9.86 às 11:00 h, levantou-se de repente, mas logo em seguida ficou em decúbito esterno-abdominal e depois lateral. Em 20.9.86 passou o dia em decúbito lateral, havia leves tremores frequentes em todo o corpo; às 11:15 h T 37,7, C 120 ritmo regular, R 40 com ritmo irregular. Em 21.9.86 à 1:00 h a respiração era cada vez mais difícil; tremores constantes em todo o corpo até às 10:30 h; respiração estertorosa. Às 10:45 h foi encontrado morto.

Bovino 4831, macho, mestiço, com 110 kg, recebeu de 6 a 18.9.86, diariamente, 1100 g (10 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 5 e 12.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ, e guardada em câmara fria a 10°C. O animal sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. Em *19.9.86 não quis comer a planta, mas comeu alguma ração e capim; no exercício diário estava com andar um pouco cambaleante e arrastava os cascos posteriores. Em 21.9.86, quando em pé, ficava com a cabeça encostada na parede; comeu pouco durante o dia. Em 22.9.86, passou a maior parte do dia em pé com a cabeça encostada na parede; não comeu durante o dia; poucas fezes ressequidas. Em 23.9.86, na parte da manhã, esteve em decúbito esterno-abdominal, com o queixo encostado no chão, de tarde em pé com a cabeça encostada contra a parede. Em 24 e 25.9.86 situação semelhante, o animal ora em pé com a cabeça encostada contra a parede, ora em decúbito esterno-abdominal, com o queixo encostado no chão. Em 26.9.86, na parte da manhã, estava em decúbito esterno-abdominal, à tarde em decúbito lateral; colocado em decúbito esterno-abdominal, ficava algum tempo nessa posição, mas em seguida voltava ao decúbito lateral. Em 27.9.86 ficou a maior parte do dia em decúbito lateral; às 21:00 h, T 38,6, C 60, R 16, Rú 0/5, superfície do corpo fria. Em 28.9.86 continuou o dia todo em decúbito lateral. Em 29.9.86, a partir das 2:00 h, mostrava fortes tremores em todo o corpo; às 5:40 h teve uma contração tônica generalizada e morreu.

Bovino 4830, macho, mestiço, com 102 kg, recebeu de 6.9 a 2.10.86, diariamente, 1020 g (10 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 5, 12 e 25.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ, e guardada em câmara fria a 10°C. O animal sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. Em *3.10.86 o bovino tinha o andar muito lerdo. Ficou a maior parte do dia em decúbito esterno-abdominal. Comeu bastante capim. Em 4.10.86 teve andar muito lerdo, era impossível exercitá-lo, deitou-se. Na parte da manhã comeu o capim. À tarde, às 16:45 h, estava em decúbito esterno-abdominal, com a cabeça encostada no flanco; com grande prostração; T 38,1, C 50, R 36, Rú 4/5 de intensidade variável; na parte da tarde não comeu e não levantava, mesmo se ajudado. Em 5.10.86, foi colocado em pé, ficou nessa posição, mas com os membros duros, com a cabeça encostada na parede; às 21:30h foi encontrado em decúbito lateral; não se conseguiu colocá-lo em decúbito esterno-abdominal. Em 6.10.86 o animal continuou em decúbito lateral; à tarde havia timpanismo acentuado, que foi aliviado através de sonda esofágica. O animal foi colocado em decúbito esterno-abdominal, encostado no cocho, o queixo ficando apoiado no chão. Em 7.10.86 continuou na mesma posição, com grande prostração; a veia jugular estava bastante saliente; às 9:20h, T 38,0, C 84, R 36-48, Rú 0/5; continuou o dia todo na posição em que fora colocado. Em 8, 9, 10 e 11.10.86, continuou em situação semelhante, cada vez mais prostrado. Em 12.10.86, às 7:30 h, T 37,6, C 100, R 16, Rú 2/5 de intensidade fraca; às 18:30h havia tremores em todo o corpo, respiração difícil; às 20:30h estava sem tremores e às 20:40h estava morto.

Bovino 4833, macho, holandês preto e branco, com 133 kg, recebeu de 6.9 a 7.11.86, diariamente, 665 g (5 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 5, 12 e 25.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ, em 9.10.86 no Município de Rezende, RJ, em 16.10.86 no Município de Rio das Flores e em 30.10.86 no Município de Lorena, SP, e guardada em câmara fria a 10°C. Até essa data sempre comia a planta espontaneamente no cocho, no fim desse período, comia a planta misturada com um pouco de ração moída e molhada. A partir de 8.11.86 comeu quantidade variável da planta misturada com ração e capim picado. Durante o período de 8.11 a 28.12.86 comeu um total de 10.020 g da brotação fresca colhida em 30.10, 19.11 e 12.12.86 no Município de Lorena, SP, e guardada em câmara fria a 10°C, o que deu uma média diária de 196 g (1,48 g/kg) para esse segundo período. A partir de *28.9.86, notou-se durante o exercício diário que o animal arrastava um pouco os cascos, a partir de 7.10.86 que o animal corria com passos curtos e meio pulando, e que arrastava os pés posteriores; a partir de 8.10.86, com timpanismo moderado, que em 12.10.86 foi aliviado por sonda esofágica; a partir de 12.10.86 corria com os membros posteriores endurecidos, jogando-os muito para a frente e arrastando os cascos; a partir de 14.10.86 tinha adicionalmente o dorso levemente arqueado; mas sempre corria bem. A partir de 19.10.86 observou-se que a veia jugular estava moderadamente ingurgitada. A partir de 8.11.86 o animal não comia mais toda a planta dada, selecionava a ração e o capim, deixando só as folhas da planta. A partir de 19.11.86, também não comia mais todo o capim. A partir de 21.11.86 tinha andar um pouco cambaleante. Em 21.11.86, às 16:15h, T 38,5, C 56-64 com ritmo irregular, veia jugular um pouco ingurgitada, pulsando, R 16, Rú 3/5 de intensidade moderada; fez levemente ressequidas. A partir de 1.12.86, durante o exercício, arrastava bastante as patas traseiras e mantinha a cabeça baixa. A partir de 4.12.86, notou-se que o animal estava bastante lerdo, mas sempre corria. Em 20.12.86, o animal estava cada vez mais lerdo, mais fraco, e comendo menos capim, quase só queria comer ração concentrada. Em 21.12.86, durante o exercício, ficou parado pelos cantos do curral; nesse dia à tarde observou-se que a veia jugular estava bem ingurgitada. A partir de 23.12.86, não foi mais exercitado; nesse dia esteve em decúbito esterno-abdominal com a cabeça encostada no flanco e não se levantava; foi levantado, e ficou em pé durante algum tempo. Em 24.12.86, também foi necessário levantá-lo, mas em 25, 26 e 27.12.86 levantou-se sozinho; em 28.12.86 novamente foi preciso levantá-lo. Em 29.12.86 amanheceu em decúbito lateral; não se conseguiu colocá-lo em pé, mugia muito, salivava e rangia os dentes. Morreu nesse dia entre 11:00 e 13:00 horas.

Bovino 4835, macho holandês preto e branco, com 124 kg, recebeu de 7.10.86 a 13.2.87, diariamente, 310 g (2,5 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida em 25.9.86 no Município de Rio das Flores, RJ, em 9.10.86 no Município de Rezende, RJ, em 16.10.86 no Município de Rio das Flores, em 30.10, 19.11, 12.12, 6 e 22.1.87 no Município de Lorena, SP, e guardada em câmara fria a 10°C. O animal sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. Nunca mostrou sintomas de intoxicação. Em 14.3.87, às 11:45h, T 38,1, C 60, R 16, Rú 3/2; veia jugular não saliente. Nesse dia, às 14:30h, foi sacrificado.

Bovino 4837, macho, mestiço holandês preto e branco, com 169 kg, recebeu de 5.10.86 a 6.2.87, diariamente, 422,5 g (2,5 g/kg) da brotação fresca de *T. multiglandulosa* colhida nas mesmas datas e mesmos locais em que foram coletados as amostras administradas ao Bovino 4835, e guardada em câmara fria a 10°C. O animal sempre comeu a planta espontaneamente no cocho. A partir de *13.12.86 se notou, durante o exercício diário, que o animal procurava não correr, fugindo para os cantos, ou então andava lentamente. Em 7.2.87 notou-se que o animal corria com passos um pouco mais curtos e meio pulando. Em 7.2.87, às 12:40 h, T 37,8, C 60, R 16, Rú 3/2. Nesse dia, às 13:00 h, foi sacrificado.

Bovino 4850, macho, mestiço zebu, com 132 kg, recebeu de 8.1 a 1.2.87, diariamente, 660 g da brotação dessecada de *T. multiglandulosa*, correspondente a 20 g/kg da planta fresca (relação planta fresca:dessecada = 4:1), colhida em 2.10.86 no Município de Lorena, SP, e dessecada à sombra. A planta sempre foi administrada manualmente por via oral. A partir de *20.1.87 (dia da 13ª administração) foi notado, com o animal em repouso, que a veia jugular estava levemente ingurgitada, pulsando, mas o animal corria bem por ocasião do exercício diário. A partir de 25.1.87 a veia jugular estava bem ingurgitada pulsando fortemente. A partir desta data havia leve a moderada anorexia, variável de dia para dia. A partir de 29.1.87 o animal mostrou, adicionalmente, quando exercitado, andar lento e levemente cambaleante, e a partir de 30.1.87, adicionalmente, corria com passos curtos e meio pulando. Em 31.1.87 não comeu o capim. Em 1.2.87, dia da última administração da planta (25ª), o animal teve andar fortemente cambaleante e anorexia acentuada. Em 2.2.87 o animal não ficava em pé sem apoio e a partir de 3.2.87 ficou em decúbito lateral; não comeu mais nada. De vez em quando era mudada a posição do animal. O animal eliminava poucas fezes ressequidas; às vezes havia leve contração dos membros.

Não conseguiu permanecer em pé mesmo ajudado. Em 4.2.87, às 21:15 h, T 38,3, C 96, R 16, Rú 1/2 fracos. Morreu em 7.2.87 entre 17:00 e 20:00 h.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Para que se estabeleça se de fato *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa* são a causa da doença dos bovinos que ocorre na Região Sudeste, que tem insuficiência cardíaca como principal característica, é necessário que se façam comparações entre os diversos aspectos da doença espontânea e os resultados experimentais.

Os quadros clínicos da intoxicação experimental e espontânea foram semelhantes, com exceção dos edemas que eram mais acentuados nesta última. Em ambos os casos, os principais sintomas sempre estavam relacionados com insuficiência cardíaca. Assim, arritmia cardíaca, veia jugular ingurgitada, pulso venoso positivo e edema da região da barbeta foram observados tanto nos animais experimentais como nos afetados pela doença natural. A aparente discrepância com relação à frequência e intensidade dos edemas será discutida juntamente com os achados de necropsia. A evolução sempre foi subaguda ou crônica nos casos naturais e experimentais, com exceção de um caso natural (Bov. 4773) de evolução superaguda.

À necropsia, havia grande semelhança entre as lesões cardíacas dos casos naturais e experimentais. Com relação aos edemas cavitários e teciduais, estes se mostraram sempre mais frequentes e intensos nos casos espontâneos. Nesse aspecto, vários fatores podem ser considerados. O primeiro deles relaciona-se com a frequência e a intensidade dos exercícios a que os animais são submetidos nas regiões onde ocorre a doença. Nesses locais, o relevo é bastante acidentado, e a maioria dos pastos se localiza em morros. Diariamente, os animais são obrigados a grandes esforços nas caminhadas em terrenos íngremes em busca de alimento. Sem dúvida que esse esforço sobrecarrega ainda mais o sistema cardiovascular. Nos experimentos, os animais eram obrigados a correr durante 15 minutos todos os dias, porém não era possível submetê-los à mesma quantidade e ao mesmo tipo de exercício executado pelos animais em condições naturais. Da mesma maneira, é possível que a ausência de lesões hepáticas significativas à necropsia (e também ao exame microscópico) se deva aos mesmos fatores que determinaram o não aparecimento de edemas acentuados nos animais experimentais.

As lesões microscópicas observadas no coração dos animais que sofreram a doença espontânea e no coração dos animais nos quais se conseguiu produzir a intoxicação através da administração de *Tetrapteryx* spp., são qualitativamente idênticas; apenas nos casos naturais as lesões cardíacas eram, via de regra, um pouco mais proeminentes. Do ponto de vista patogênico, com exceção dos infiltrados inflamatórios focais, as lesões cardíacas devem ser atribuídas à ação direta das plantas; os infiltrados inflamatórios focais não devem, a nosso ver, ser atribuídos à sua ação, de vez que, com frequência, temos encontrado semelhantes infiltrados no coração de bovinos

com as mais diferentes enfermidades, inclusive no coração de animais abatidos para o consumo. Os infiltrados inflamatórios difusos eram encontrados em meio às áreas de edema e fibrose e devem ser vistos como relacionados aos fenômenos hemodinâmicos. É possível que a fibrose intersticial difusa seja secundária ao edema extracelular que se localizava entre as fibras. Com frequência, observava-se que havia uma transição de edema para fibrose, isto é, havia áreas com edema entre as fibras cardíacas concomitantemente com certa quantidade de colágeno. De acordo com Jones & Hunt (1983), nos casos de edema crônico, pode haver uma evolução para fibrose pelo fato de as proteínas plasmáticas induzirem a produção de colágeno. Uma alteração que chamou atenção foi a presença de fibras cardíacas de aspecto bizarro, isto é, aumentadas de volume e com um ou mais núcleos grandes e disformes, no coração de vários animais experimentais e afetados naturalmente pela doença. Stünzi & Teuscher (1970) descrevem este tipo de célula multinucleada, que eles denominam de "célula gigante miogênica" e que apareceria na tentativa de regeneração. Esse tipo de fibras foi observado tanto nos casos naturais como nos espontâneos de intoxicação por *Tetrapteryx* spp. e pode ser interpretado como tentativa de regeneração. As alterações descritas como áreas com aumento da eosinofilia das fibras correspondem à chamada degeneração de Zenker e devem ser vistas como necrose incipiente (Jones & Hunt 1983). Em muitos casos encontramos uma nítida transição de tumefação de fibras para lise celular. Esses achados vêm ao encontro das observações de Stünzi & Teuscher (1970), que descrevem minuciosamente esse tipo de alteração.

Não se conseguiu estabelecer qualquer relação entre a intensidade dos edemas e o tipo e intensidade das lesões microscópicas do coração, tanto nos casos naturais como nos experimentais. Os edemas apareciam tanto nos casos em que predominavam lesões degenerativo-necróticas como naqueles mais afetados pelas alterações proliferativas. Do mesmo modo, a evolução e a sintomatologia não se mostraram dependentes do tipo das alterações observadas microscopicamente no coração dos animais. O mesmo é válido para as lesões hepáticas.

No que diz respeito ao sistema nervoso central, fica difícil estabelecer com segurança a patogenia da lesão conhecida como "status spongiosus"; essa lesão tem sido encontrada em animais com graves lesões hepáticas, em função das quais existe uma diminuição da capacidade metabólica do fígado, com conseqüente acúmulo de amônia no sangue. Uma vez no cérebro, a amônia provocaria esse tipo de lesão (Hooper et al. 1974, Hooper 1975, Anderson 1979). Essa hipótese explicaria o aparecimento do "status spongiosus" no cérebro dos animais naturalmente afetados pela doença, nos quais há considerável lesão hepática, mas não nos casos experimentais, nos quais as lesões do fígado são pouco significativas.

Apesar de terem sido feitos apenas 2 experimentos com as folhas maduras de *Tetrapteryx* spp., há fortes in-

dícios de que a brotação da planta é mais tóxica do que as folhas maduras. Os bovinos 4780 e 4834 receberam doses de 20 g/kg de amostras procedentes de Lorena, SP, por 30 dias (folhas dessecadas) e 64 dias (folhas frescas), respectivamente, não tendo mostrado sintomas da intoxicação. O Bovino 4850 recebeu os brotos dessecados nas mesmas dosagens por 25 dias e morreu 31 dias após a primeira administração. Além disso, animais que receberam administrações dos brotos frescos em dosagens de 10 g/kg de peso (Bov. 4828, 4831 e 4830) e até de 5/kg (Bov. 4826 e 4833) morreram com sintomas da intoxicação.

No que se relaciona à diferença de toxidez de amostras de diferentes procedências, fica difícil fazer uma avaliação. Para tal seria necessário um número bem maior de experimentos com as diferentes amostras. Da mesma forma, não se pode determinar até que ponto os frutos são tóxicos, de vez que, com eles, apenas um experimento foi efetuado, durante curto período, no qual o animal (Bov. 4777) não adoeceu.

Ao contrário do que sugerem alguns históricos, verificamos que a doença ocorre ao longo de todo ano.

Verificando-se a literatura internacional pertinente ao assunto, observa-se que, sobretudo pelo aspecto morfológico das lesões, existem plantas na África e Austrália, capazes de provocar no coração de bovinos alterações semelhantes às causadas por *Tetrapteryx* spp. Na África do Sul temos *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) e *Fadogia monticola* (Hurter et al. 1972), que provocam a chamada "gousiekte" (doença rápida) e, na Austrália, *Acacia georginae* (Bell et al. 1955, Barnes 1958, Whittam & Murray 1963, Oelrichs & McEwan 1962). Todas essas plantas causam alterações cardíacas de natureza regressivo-inflamatório-proliferativa semelhantes às provocadas por *Tetrapteryx* spp. no coração de bovinos. No entanto, não há similaridades sob o aspecto clínico. Enquanto *Tetrapteryx* spp., na grande maioria das vezes, causa uma doença de evolução subaguda ou crônica, em que a morte raramente é precipitada por exercício, essas 6 plantas levam à morte geralmente de maneira superaguda, especialmente quando os animais são movimentados. Em apenas um caso espontâneo da intoxicação por *Tetrapteryx* spp. a evolução foi superaguda (Bov. 4774); em outro (Bov. 4836) a morte foi precipitada por exercício.

No Brasil, existem numerosas outras plantas que afetam o funcionamento do coração, que, no entanto, não causam lesões significativas no miocárdio. São as chamadas "plantas que causam morte súbita". Nesse grupo, existem 11 plantas que causam uma intoxicação cuja principal característica é a evolução superaguda, geralmente com morte em alguns minutos após o início dos sintomas, que aparecem especialmente quando os animais

são movimentados. A intoxicação por essas plantas⁹ pode ser comparada com a causada na África por *Dichapetalum* spp. (Steyn 1928, 1934, Marais 1944, Vickery & Vickery 1973, Nwude et al. 1977, Kamau et al. 1978) e na Austrália por *Gastrolobium* spp. (Gardner & Bennetts 1956, McEwan 1964, Everist 1974) e *Oxylobium* spp. (Gardner & Bennetts 1956, Everist 1974), que também causam uma intoxicação sem aparecimento de lesões significativas no miocárdio, de evolução superaguda; em ambas o exercício precipita os sintomas e a morte dos animais.

Deve ser registrado que, através de administrações repetidas, com duas das plantas do grupo das que causam "morte súbita", *Mascagnia* aff. *rigida* e *Palicourea marcgravii*, logrou-se provocar no coração de bovinos e ovinos, respectivamente, lesões focais de cunho regressivo-inflamatório-proliferativo (Tokarnia et al. 1985, 1986), porém longe de serem comparáveis às lesões encontradas na intoxicação por *Tetrapteryx* spp.

Desta maneira, *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa* são, até o momento, as únicas plantas brasileiras capazes de causar doença espontânea caracterizada por graves lesões cardíacas, pelo menos no que se refere ao aspecto morfológico.

Conclui-se que *Tetrapteryx acutifolia* e *T. multiglandulosa*, conhecidas principalmente, como "cipó-ruão" e "cipó-preto", são a causa da doença que ocorre na Região Sudeste em bovinos cuja característica principal é insuficiência cardíaca, baseando-se nos seguintes pontos:

- 1) pela inspeção das pastagens, verificou-se que a doença somente ocorre em pastos onde vegetam *Tetrapteryx* spp.;
- 2) a evolução e sintomatologia dos casos experimentais são muito semelhantes às observadas nos casos da doença espontânea;
- 3) através de experimentos com essas duas plantas, conseguiu-se reproduzir, no coração dos animais experimentais, lesões qualitativamente idênticas às encontradas no coração dos animais afetados pela doença espontânea.

No que se refere ao efeito abortivo dessas duas plantas, os históricos obtidos em todas as regiões onde ocorre a doença em bovinos adultos, informam sobre a ocorrência de abortos em vacas. As lesões nos fetos abortados, sugerem fortemente que *Tetrapteryx* spp. sejam responsáveis pelos abortos. Mais que isso, a similaridade das lesões cardíacas e hepáticas dos animais adultos e fetos su-

gere fortemente que o princípio ativo de *Tetrapteryx multiglandulosa* e *Tetrapteryx acutifolia* atravessa a barreira placentária e leva o feto à morte também por problemas circulatórios de origem central.

Conforme já mencionado, Borges (1984) realizou experimentos em vacas gestantes para comprovar a ação abortiva de *Tetrapteryx renidens* (*T. acutifolia*). De acordo com as informações sobre esses experimentos, dos quais infelizmente não conseguimos pormenores, todas as vacas teriam abortado e depois morrido.

REFERÊNCIAS

- Adelaar T.F. & Terblanche M. 1967. A note on the toxicity of the plant *Pachystigma thamnus*, Robyns. J.S. Afr. Vet. Med. Ass. 38(1):25-26
- Anderson D.C. 1979. Hepatoencephalopathy and hyperammonaemia. Curso de Pós-Graduação, Colorado State University. 9 p.
- 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.
- Borges A.R. 1984. Comunicação pessoal (IESA, Belo Horizonte).
- 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 H. & 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. & 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 Newspaper, Perth.
- Hooper P.T. 1975. Spongy degeneration in the central nervous system of domestic animals. Part III: Occurrence and pathogenesis - Hepatocerebral disease caused by hyperammonaemia. Acta Neuropath. 31:343-351.
- Hooper P.T., Best S.M. & Murray D.R. 1974. Hyperammonaemia and spongy degeneration of the brain in sheep affected with hepatic necrosis. Res. Vet. Sci. 16:216-222.
- 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.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983. Veterinary Pathology. 5thed. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 170.
- 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.
- Mallory F.B. 1938. Pathological Technique. Saunders, Philadelphia.
- 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 *Gastrolobium grandiflorum*. Queensl. J. Agric. Sci. 21(2):1-14.
- 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)
- Nwude N., Parsons L.E. & Auda A.O. 1977. Acute toxicity of the leaves and extracts of *Dichapetalum barberi* (Engl.) in mice, rabbits and goats. Toxicology 7:23-29.

⁹ Rubiaceae: *Palicourea marcgravii* com nomes populares "cafezinho" e "erva-de-rato" (Pacheco & Carneiro 1932, Döbereiner & Tokarnia 1959, Tokarnia & Döbereiner 1986), *Palicourea aeneofusca* com nome popular "erva-de-rato" (Tokarnia et al. 1983), *Palicourea juruana* com nome popular "roxinha" (Tokarnia & Döbereiner 1982) e *Palicourea grandiflora* sem nome popular (Tokarnia et al. 1981); Bignoniaceae: *Arrabidaea bilabiata* com nomes populares "gibata" ou "chibata" (Döbereiner et al. 1983), *Arrabidaea japurensis* sem nome popular (Tokarnia & Döbereiner 1981), *Pseudocalymma elegans* sem nome popular (Mello & Fernandes 1941, Tokarnia et al. 1969); Malpighiaceae: *Mascagnia rigida* com nomes populares "tingui" e "timbó" (Tokarnia et al. 1961, Santos 1975), *Mascagnia elegans* com nome popular "rabo-de-tatu" (Couceiro et al. 1976), *Mascagnia pubiflora* com nomes populares "corona" ou "cipó-prata" (Fernandes & Macruz 1964, Tokarnia & Döbereiner 1973) e *Mascagnia* aff. *rigida* sem nome popular (Tokarnia et al. 1985).

- Oelrichs P.B. & McEwan T. 1962. The toxic principle of *Acacia georginae*. Queensland J. Agric. Sci. 19:1-16.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. 1. Intoxicação dos animais pela "herve de rato da mata" *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.). Revta Soc. Paulista Med. Vet. 2(2-3):23-46.
- 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. Ass. 38(1):29-53.
- Santos H.L. 1975. Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos, na intoxicação experimental de bovinos pela *Mascagnia rigida* (Juss.) Gr. Tese, Belo Horizonts. 36 p. (Resumo em Arqs Esc.Vet., UFMG, Belo Horizonte, 27(3):398-399, 1975)
- Santos H.L., Couto E.S. & Figueiredo L.J.C. 1974. Estudo da ação tóxica do cipó preto (*Tetrapteris renidens* Gr.) em bovinos. IV Encontro de Pesquisa da Esc.Vet.UFMG, Belo Horizonte. (Resumo)
- Santos H.L., Ferreira M.B. & Assumpção W.R.C. 1975. Levantamento de plantas tóxicas para bovinos e suspeitas de serem tóxicas no Estado de Minas Gerais. Distribuição geográfica. EPAMIG, Belo Horizonte. 80 p., 3 p. ilustr. e 1 mapa.
- Schulz L.Cl. 1958. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Herzmuskulatur des Schweines unter besonderer Berücksichtigung der sogenannten Kernreihenbildung. Dt.Tieraerztl.Wschr. 65:117-122. (Cit.Stünzi & Teuscher 1970, p. 94)
- Steyn D.G. 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.
- Stünzi H. & Teuscher E. 1970. Herzmuskulatur (Myocardium), p. 93-96. In: Dobberstein J., Pallaske G. & Stünzi H. (ed.) Ernst Joest Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere. 3. Aufl. Band II. Kapitel: Zirkulations- und haematopoetische Organe, p. 78-200.
- Theiler A., Du Toit P.J. & Mitchell D.T. 1923. Gousiekte in sheep. 9 th and 10 th Reports of the Director of Veterinary Education and Research, Pretoria, South Africa: 9-105 + 4 p. fotogr.
- 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. & 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. 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., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 6(4):121-131.
- Uys P.L. & Adelaar T.F. 1957. A new poisonous plant. J.S. Afr. Vet. Med.Ass. 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.